



Implants régénératifs en silicone dans un modèle de lésion cérébrale aiguë chez le marmouset : caractérisation de la reconstruction tissulaire

Léa Thiriez

► To cite this version:

Léa Thiriez. Implants régénératifs en silicone dans un modèle de lésion cérébrale aiguë chez le marmouset : caractérisation de la reconstruction tissulaire. Médecine vétérinaire et santé animale. 2025. <dumas-05090536>

HAL Id: dumas-05090536

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-05090536v1>

Submitted on 30 May 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

ANNEE 2025 THESE : 2025 – TOUT 3 – 4010

IMPLANTS RÉGÉNÉRATIFS EN SILICONE DANS UN MODÈLE DE LÉSION CÉRÉBRALE AIGUE CHEZ LE MARMOUSER : CARACTÉRISATION DE LA RECONSTRUCTION TISSULAIRE

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université de Toulouse
par*

THIRIEZ Léa, Marion

Directrice de thèse : Mme Isabelle LOUBINOX

JURY

PRESIDENTE :

Mme Isabelle RAYMOND-LETRON

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESSEURES :

Mme Isabelle LOUBINOX

Mme Lydie BRET

Directrice de recherche à l'INSERM de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE
--

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie-Thérapeutique*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
M. **FERCHIOU Ahmed**, *Economie et gestion des entreprises vétérinaires agricoles*
M. **FUSADE-BOYER Maxime**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, anatomie pathologique*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE GRAVERAND Quentin**, *Alimentation animale*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **OTAVIANO DO REGO Renato**, *Chirurgie*
Mme **PIERRON Alix**, *Pharmacie-Toxicologie*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL Felipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

Remerciements

A Madame la Docteure Isabelle RAYMOND-LETRON, présidente du jury de thèse

Professeure de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Anatomie pathologique

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,

Mes remerciements les plus sincères et respectueux.

A Madame la Docteure Isabelle LOUBINOUX, première assesseure et directrice de thèse

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

Imagerie médicale

Pour m'avoir accueillie au sein de votre équipe de recherche iDREAM,

Pour m'avoir permis d'intégrer ce projet passionnant,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse,

Mes remerciements respectueux.

A Madame la Professeure Lydie BRET, deuxième assesseure

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Physique et chimie biologiques et médicales

Pour avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse,

Pour votre présence et votre soutien le long de ces années d'études,

Mes plus sincères remerciements.

A l'ensemble du jury, merci pour votre présence et pour votre gentillesse. J'espère que vous prendrez plaisir à lire ce manuscrit.

A l'ensemble des personnes qui ont participé à ce projet et qui m'ont soutenue jusqu'au bout, à tous ceux qui ont cru en moi, à ma famille et à tous ceux qui font partie de ma vie, mes remerciements les plus sincères et chaleureux.

Table des matières

Table des matières	7
Table des annexes	15
Liste des figures	16
Liste des tableaux.....	19
Liste des acronymes et abréviations	20
Introduction générale.....	27
Partie I : Etude bibliographique.....	33
I. Les voies de la motricité manuelle	33
A. Neuro-anatomie du système nerveux central	33
1. Les cellules du système nerveux central	33
2. Structure générale du système nerveux et présentation du SNC	35
3. Divisions anatomiques fonctionnelles et structure générale externe de l'encéphale.....	36
4. Divisions anatomiques fonctionnelles et structure générale interne des hémisphères cérébraux	37
5. Organisation fonctionnelle corticale.....	39
6. Vascularisation du SNC	43
B. Système moteur primaire et voies motrices descendantes	44
1. Le système moteur cortical	44
2. Voies descendantes	46
C. Physiologie motrice – Mouvement volontaire	48
1. Initier une séquence motrice	48
2. Structures sous-corticales et contrôle moteur	49
II. L'accident vasculaire cérébral.....	51
A. Epidémiologie et signes cliniques.....	51
1. Données épidémiologiques	51

2.	Signes d'appel et séquelles majeures	52
B.	Facteurs de risque et prévention	53
C.	Etiologie	54
1.	L'AVC ischémique	54
2.	L'AVC hémorragique	55
D.	Principaux sites atteints par l'infarctus	56
1.	L'infarctus de l'artère cérébrale moyenne	56
2.	Les autres infarctus	56
E.	Physiopathologie de l'AVC ischémique	57
1.	Les conséquences globales de l'ischémie	58
2.	Déficit énergétique, excitotoxicité et stress oxydatif	60
3.	Mort cellulaire	61
4.	Rôle des collatérales	62
5.	Disruption de la barrière hémato-encéphalique	62
6.	Inflammation	63
F.	Mécanismes de réparation cellulaire et tissulaire post-AVC	68
1.	Physiologie des neurogenèse et gliogenèse adultes dans le SNC	68
2.	Processus de réparation neuronale post-AVC	70
3.	Neurogenèse post-AVC	71
4.	Inflammation chronique et gliogenèse post-AVC	73
5.	Angiogenèse post-AVC	74
6.	Synthèse sur la reconstruction tissulaire post-AVC	76
G.	Mécanismes d'adaptation et de compensation post-AVC	76
1.	Plasticité cérébrale adaptative	77
2.	Plasticité cérébrale mal-adaptative	80
3.	Pronostic fonctionnel	81
III.	Stratégies thérapeutiques actuelles	81
A.	Prise en charge de la phase aiguë de l'AVC ischémique	81

1.	Thrombolyse intraveineuse	82
2.	Thrombectomie mécanique	84
3.	Syndrome de reperfusion	84
B.	Prise en charge de la phase subaiguë à chronique de l'AVC ischémique	85
IV.	Expérimentation animale et AVC ischémique	86
A.	Ethique	86
B.	Modèles animaux d'AVC ischémique	88
1.	Recommandations et éléments clés dans un modèle animal d'AVC	88
2.	Animaux les plus fréquemment utilisés	88
C.	Le marmouset commun - <i>Callithrix jacchus</i>	90
1.	Caractéristiques du marmouset commun	90
2.	Avantages à l'utilisation du marmouset en recherche biomédicale	91
D.	Principales variations interspécifiques neuro-anatomiques	93
1.	Organisation cérébrale – Cortex, structures sous-corticales et généralités	93
2.	Voies motrices descendantes	94
3.	Anatomie cérébrovasculaire	96
4.	Neurogenèse adulte	98
V.	Modèles expérimentaux actuels de l'AVC ischémique	99
A.	Modèles <i>in vitro</i>	99
B.	Méthodes vasculaires <i>in vivo</i>	100
1.	Localisation de l'occlusion artérielle et aspect pratique	101
2.	Méthodes d'occlusion extraluminale	102
3.	Méthodes d'occlusion intraluminale	104
C.	Méthodes non vasculaires <i>in vivo</i>	107
1.	Injection intracorticale d'acide malonique ou malonate	107
2.	Injection intracorticale d'acide iboténique	109
3.	Injection intracorticale d'endothéline-1	110

4. Résection corticale par aspiration sous-piale et électrocoagulation	110
VI. Axes de recherche sur les thérapies régénératrices en phase chronique de l'AVC ischémique	111
A. Transplantation de cellules souches	111
1. Généralités.....	111
2. Etat des lieux des différents types cellulaires testés	112
3. Voies d'administration	117
4. Futures perspectives.....	118
B. Implantation de biomatériaux dans le site lésionnel	119
1. Contexte et généralités	119
2. Caractéristiques essentielles des biomatériaux pour une implantation intracérébrale.....	120
3. Types de biomatériaux testés - Généralités	122
4. Types de biomatériaux naturels testés pour une implantation intracérébrale.....	122
5. Types de biomatériaux synthétiques testés pour une implantation intracérébrale.....	124
6. Thérapie combinée avec la chondroïtinase.....	127
C. Conception et greffe de neuro-implants	128
1. Biommatériaux naturels et thérapie cellulaire.....	129
2. Biommatériaux synthétiques et thérapie cellulaire	130
3. Neuro-implants de l'équipe iDREAM de l'unité ToNIC	131
Partie II : Etude expérimentale	135
I. Contexte de l'étude.....	135
A. Présentation	135
B. Objectifs globaux de l'étude	136
C. Objectifs de la thèse présentée.....	136
D. Début du projet et de la thèse présentée	138
II. Matériels et méthodes	139

A.	Animaux	139
1.	Ethique et hébergement	139
2.	Animaux de l'étude.....	139
B.	Protocole expérimental.....	141
C.	Etude comportementale	142
1.	Evaluations comportementales	142
2.	Tests de l'escalier colline et vallée (Hill and Valley staircases)	143
3.	Test de force de traction du membre thoracique : « Dynamometric Pull Test ».....	145
4.	Echelle neurologique.....	146
D.	Conception et fabrication des implants en PDMS.....	147
E.	Procédures de lésion et d'implantation.....	149
1.	Lésion cérébrale aiguë	149
2.	Grefe des implants en PDMS.....	151
3.	Traitement à la chondroïtinase.....	151
F.	Suivi IRM	152
1.	Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), in vivo	152
2.	Analyses d'images et statistiques.....	153
G.	Sacrifices.....	154
H.	Histologie	154
1.	Coupe des cerveaux	154
2.	Coloration de Nissl – Crésyl violet.....	155
3.	Colorations Hématoxyline-Eosine et de Gram	157
4.	Immunofluorescence	158
I.	Microscope	162
J.	Analyses.....	163
1.	Calcul du pourcentage de tissu en reconstruction.....	163
2.	Quantifications	164

3. Analyses statistiques.....	165
III. Résultats.....	166
A. Résultats antérieurs à la thèse.....	166
B. Colorations histologiques	167
1. Coloration de Nissl et pourcentage de tissu en reconstruction.....	167
2. Pourcentage de tissu en reconstruction sur effectif augmenté	170
3. Colorations H & E et de Gram.....	171
C. Résultats individuels des quantifications	173
D. Immunofluorescence	174
1. Cellules souches neurales - Quantifications.....	174
2. Neurogenèse – Quantifications et stades.....	176
4. Neurogenèse – Descriptif et fonctionnalité neuronale	178
5. Neurogenèse – Gyrus supracalleux	180
6. Gliogenèse/Inflammation.....	182
7. Angiogenèse	185
E. Caractérisation globale des zones d'intérêt	187
1. Caractérisation globale de l'ensemble des marmousets de l'étude.....	187
2. Marmousets implants – Infection et proportions cellulaires	189
IV. Discussion.....	192
A. Effet de l'implant en silicone sur la reconstruction tissulaire.....	192
1. Pourcentage de tissu en reconstruction	192
2. Cellules souches et potentiel de renouvellement tissulaire	196
3. Neurogenèse locale	199
4. Gliogenèse et inflammation locales.....	202
5. Angiogenèse locale	204
6. Caractérisation globale de la composition des zones d'intérêt.....	205
7. Infection et répercussion sur la reconstruction tissulaire	211
B. Limites globales de l'étude	212

1. Effectifs de l'étude	212
2. Infection marmousets implants.....	213
3. Dichotomisation cellules néo-formées et résidentes	216
C. Retour sur l'ensemble du projet – Implants 2D en silicone et lésion cérébrale aiguë chez le marmouset	217
D. Perspectives futures.....	221
Conclusion générale.....	225
Références bibliographiques	229
Annexes.....	267

Table des annexes

Annexe 1 : Récupération motrice des rats avec neuro-implants.....	268
Annexe 2 : Performances motrices des marmousets implantés et lésés.....	269
Annexe 3 : Volumes lésionnels des marmousets implantés et lésés.....	270
Annexe 4 : IRM fonctionnelle réalisée sur le marmouset implanté TooSpeed.....	271
Annexe 5 : Fiche suivi de la chirurgie lésionnelle au malonate des marmousets ...	272
Annexe 6 : Fiche suivi de la chirurgie d'implantation des marmousets.....	275
Annexe 7 : Protocole de perfusion intracardiaque par gravité chez le marmouset.	278
Annexe 8 : Réalisation de coupes de cerveau au cryomicrotome	282
Annexe 9 : Protocole de la coloration au crésyl violet (Nissl)	285
Annexe 10 : Protocole de la coloration de Gram (ENVt)	287
Annexe 11 : Protocole de la coloration Hématoxyline-Eosine (H & E).....	288
Annexe 12 : Protocole de l'ImmunoHistoChimie-ImmunoFluorescence (IHC-IF) sur coupes flottantes semi-épaisses (30 µm)	290
Annexe 13 : Analyses d'immunofluorescence sur les implants en PDMS	292
Annexe 14 : Analyses d'immunofluorescence sur les implants en PDMS – Microscopie confocale	293
Annexe 15 : Suivi lésionnel longitudinal par IRM T2 du marmouset implanté TooSpeed	294

Liste des figures

Figure 1. Schéma d'une coupe coronale d'encéphale	39
Figure 2. Schéma des aires fonctionnelles corticales principales	40
Figure 3. Schéma de l'organisation en couches du cortex cérébral moteur.....	41
Figure 4. Schéma des artères cérébrales majeures et leurs aires de vascularisation	43
Figure 5. Représentation schématique de l'homunculus moteur	45
Figure 6. Représentation schématique du faisceau corticospinal	47
Figure 7. Représentation schématique des voies motrices sous-corticales et boucles motrices.....	49
Figure 8. Schéma illustrant l'évolution chronologique des mécanismes de l'AVC ischémique	58
Figure 9. Schéma illustrant la localisation spatiale et les caractéristiques des 3 zones de l'espace lésionnel après un AVC ischémique	59
Figure 10. Représentation schématique des principales caractéristiques de l'inflammation systémique post-AVC au fil du temps	65
Figure 11. Représentation schématique des mécanismes de la neuro-inflammation post-AVC	67
Figure 12. Représentation schématique simplifiée de la neurogenèse et de la gliogenèse à partir d'une cellule souche neurale multipotente ou progéniteur commun	68
Figure 13. Schéma présentant les différents mécanismes de la régénération post-AVC	76
Figure 14. Schéma représentant 3 patterns de réorganisation cérébrale post-lésionnelle dépendant de la localisation et de la taille de la lésion	78
Figure 15. Représentation schématique du lien entre le développement du faisceau corticospinal et l'émergence de capacités de contrôle de la motricité précises	96
Figure 16. Schéma illustrant les différences dans l'anatomie cérébrovasculaire du cercle de Willis entre l'Homme, le singe rhésus et le rongeur	97

Figure 17. Frise chronologique présentant les différentes étapes du protocole expérimental global	142
Figure 18. Illustrations des tests comportementaux de l'escalier en version colline (« Hill Staircase », A) et vallée (« Valley Staircase », B)	143
Figure 19. Illustration du test comportemental de force de traction du membre thoracique (« Dynamometric Pull Test » ou « DPT »).....	145
Figure 20. Illustration de la procédure de fabrication des implants en PDMS.....	149
Figure 21. Figure présentant les différentes tailles et formes de lésions ainsi que la répartition et le pourcentage de tissu en reconstruction chez les marmousets des différents groupes.....	169
Figure 22. Graphiques présentant les résultats de la comparaison du pourcentage de tissu en reconstruction entre les marmousets implants et lésés sacrifiés à court et à long terme.....	171
Figure 23. Illustration des résultats obtenus à la coloration de Gram du marmouset implants TooSpeed.....	172
Figure 24. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : cellules souches neurales et stades précoces de la reconstruction tissulaire.....	175
Figure 25. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : neurogenèse...	177
Figure 26. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : neurogenèse descriptive	179
Figure 27. Histologie de coupes de cerveaux et illustration par immunofluorescence de la présence du gyrus supracalleux péri-lésionnel	181
Figure 28. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : gliogenèse/inflammation	183
Figure 29. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : angiogenèse ...	186
Figure 30. Graphiques en secteurs illustrant le pourcentage de chaque type cellulaire dans le tissu en reconstruction et le tissu péri-lésionnel de chaque sous-groupe chez les marmousets implants et lésés.....	188
Figure 31. Graphiques en secteurs illustrant le pourcentage de chaque type cellulaire dans le tissu en reconstruction et le tissu péri-lésionnel de chaque marmouset	

implanté, ayant ou non présenté une infection locale au cours du protocole expérimental	191
Figure 32. Illustration de l'étude du comblement tissulaire de la lésion avant et après retrait manuel des implants en PDMS chez le marmouset implanté 18M2.....	194
Figure 33 - Annexe 1. Graphique présentant les différences de récupération de force motrice entre les rats des différents groupes de l'étude	268
Figure 34 - Annexe 2. Graphiques présentant les performances motrices des marmousets implantés avec un biomatériau seul et des marmousets seulement lésés	269
Figure 35 - Annexe 3. Courbes présentant l'évolution des volumes lésionnels (mm ³) chez les marmousets implantés et lésés	270
Figure 36 – Annexe 4. Images de l'IRM fonctionnelle réalisée sur le marmouset implanté TooSpeed	271
Figure 37 - Annexe 13. Images microscopiques des cellules hôtes présentes sur les biomatériaux en PDMS.....	292
Figure 38 - Annexe 14. Images prises au microscope confocal d'une cellule hôte β 3tubuline positive présente sur les biomatériaux en PDMS.....	293
Figure 39 - Annexe 15. Images IRM T2 montrant le suivi longitudinal post-lésion et post-implantation du marmouset TooSpeed	294

Liste des tableaux

Table 1. Tableau présentant les caractéristiques des différents marmousets utilisés dans cette étude et leur répartition dans les différents groupes et sous-groupes de l'étude	140
Table 2. Echelle neurologique adaptée pour les marmousets de l'étude, lésés au niveau du cortex moteur primaire	147
Table 3. Liste des anticorps primaires et secondaires utilisés dans cette étude	160
Table 4. Tableau présentant les résultats individuels moyens de quantification obtenus pour chaque marmouset de chaque groupe pour chaque marquage d'immunofluorescence testé, dans le tissu en reconstruction	173
Table 5. Tableau présentant les résultats individuels moyens de quantification obtenus pour chaque marmouset de chaque groupe pour chaque marquage d'immunofluorescence testé, dans le tissu péri-lésionnel	174

Liste des acronymes et abréviations

AB	Artère Basilaire
ACA	Artère Cérébrale Antérieure
ACI	Artère Carotide Interne
ACM	Artère Cérébrale Moyenne
ACoA	Artère Communicante Antérieure
ACoP	Artère Communicante Postérieure
ACP	Artère Cérébrale Postérieure
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AH	Acide Hyaluronique
AHA	American Heart Association
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
AMS	Aire Motrice Supplémentaire
ANG-1	ANGiopoietin 1
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AP	Antéro-Postérieur
APM	Aire Pré-Motrice
ARRIVE	Animal Research: Reporting In Vivo Experiments
ASA	American Stroke Association
ATP	Adénosine TriPhosphate
AV	Artère Vertébrale
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
BB	Blocking Buffer
BBB	Blood-Brain Barrier = BHE
BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique = BBB
BrdU	5-Bromo-2'-désoxyUridine
Camp	Cyclic adenosine monophosphate
CAP	cortical Cytoskeleton-Associated Protein
CC	Corps CalleuxCCL
CCL2	C-C motif chemokine Ligand 2
ChABC	Chondroïtinase ABC

CMN	Cellules MonoNuclées
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
CNTF	Ciliary Neurotrophic Factor
CPd	Cortex Prémoteur dorsal
CPv	Cortex Prémoteur ventral
CSM	Cellules Souches Mésenchymateuses
CSN	Cellules Souches Neurales
CSPD	Cellules Souches de la Pulpe Dentaire
CSPGs	Chondroïtin Sulfate ProteoGlycans
CT	Court Terme
CXCL12	C-X-C motif chemokine Ligand 12
DAMPs	Damage-Associated Molecular Patterns
DAPI	4',6-DiAmidino-2-PhénylIndole
DCs	Dendritic Cells
DCX	Doublecortine
DPT	Dynamometric Pull Test
DV	Dorso-Ventral
ECM	ExtraCellular Matrix
ED	Eau Désionisée
ElH	Espace Inter-Hémisphères
eNOS	endothelial Nitric Oxide Synthase
Ep. cic.	Epaisseur de la cicatrice gliale
Ep. Gliale	Epaisseur Gliale
EPI	Echo-Planar Imaging
EPI'	Equipe ment de Protection Individuelle
EPO	ErythroPOiétine
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène = ROS
FAVOUR	Etude de sécurité d'implants guidants favorisant la régénération cérébrale chez les traumatisés crâniens graves
F	Femelle
FCB	Faisceau CorticoBulbaire
FCS	Faisceau CorticoSpinal
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Fibroblast Growth Factor
FOV	Field Of View

G	Gauge
GAP-43	Growth Associated Protein 43
GDNF	Glial cell line Derived Neurotrophic Factor
GelMA	Gelatin MethAcryloyl
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
HAS	Haute Autorité de Santé
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HIF	Hypoxia-Inducible Factor
HMGB1	High-Mobility Group Box 1
hNSCs	human primary adult Neural Stem Cells
HPA	Hypothalamic Pituitary Adrenal
Hsp	Protéine de choc thermique
HTA	HyperTension Artérielle
H & E	Hématoxyline-Eosine ou Hémalun-Eosine
IA	Intra-Artérielle
Iba1	Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1
ICAM1	InterCellular Adhesion Molecule 1
iDREAM	innovation in Drug, Regenerative mEdicine, stimuLation and modulation of Motor plasticity and recovery
IF	ImmunoFluorescence
IFN-γ	InterFeroN gamma
IGF1	Insulin-like Growth Factor-1
IL1β	InterLeukine-1beta
IL4	InterLeukine-4
IL6	InterLeukine-6
IL10	InterLeukine-10
IL13	InterLeukine-13
IM	IntraMusculaire
Inserm	Institut national de la santé et de la recherche médicale
IP	IntraPéritonéal
iPSC	induced Pluripotent Stem Cell
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IV	IntraVeineuse
KLF7	Krüppel-Like Factor 7
L	Lésion

LAAS	Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes
LCS	Liquide Cérébro-Spinal
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
LT	Long Terme
M	Mâle
MAP2	Microtubule Associated Protein 2
MARCKS	Myristoylated Alanine-Rich C-Kinase Substrate
MEC	Matrice ExtraCellulaire
MHCII	Class II Major Histocompatibility Complexes
MIP-1α	Macrophage Inflammatory Protein-1 alpha
ML	Médio-Latéral
MMPs	Matrix MetalloProteinases
M1	Cortex Moteur Primaire
NeuN	Neuron specific Nuclear protein
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
NMDA	N-Méthyl-D-Aspartate
NO	Nitric Oxide
NSA	Number of Signal Averages/Acquisitions
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OSP	Oligodendrocyte Specific Protein
O4	Oligodendrocyte marker 4
PB	Phosphate Buffer
PBS	Phosphate-Buffered Saline
PCL	PolyCaproLactone
PDMS	PolyDiMéthylSiloxane
PECAM	Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule
PEG	PolyEthylène Glycol
PEGDA	PolyEthylène Glycol DiAcrylate
perm/sat	Perméabilisation/saturation
PFA	ParaFormAldéhyde
PL	Péri-Lésionnel
PIGF	Placental Growth Factor
PM	Poids Moléculaire
PNH	Primate Non Humain
PNN	Polynucléaire Neutrophile

PNS	Parasympathetic Nervous System
PREPARE	Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence
Prx	Peroxiredoxine
PTEN	Phosphatase and TENsin homolog
qsp	Quantité Suffisante Pour
REG	Réticulum Endoplasmique Granuleux
ROS	Reactive Oxygen Species = ERO
RPM	Révolutions Par Minute
RQ	Remarque
RT	Room Temperature
SDHA	Succinate DésHydrogénase A
SG	Sous-Groupe
SGZ	SubGranular Zone = zone sous-granulaire
SHH	Sonic Hedgehog Signaling
SNC	Système Nerveux Central
SNP	Système Nerveux Périphérique
SNS	Sympathetic Nervous System
SOC-3	Suppressor Of Cytokine signaling 3
Sox2	Sex determining region Y-box 2
SPRR1	Small Proline Repeat Rich Protein 1
STAIR	Stroke Therapy Academic Industry Roundtable
SVZ	SubVentricular Zone
Synapto	Synaptophysine
SII	Aire SomatoSensorielle
S1P3	Sphingosine 1-Phosphate receptor subtype 3
S100β	S100 calcium-binding protein β
T	Tesla
TE	Temps d'Echo
TEeff	Temps d'Echo effectif
TGF-β	Transforming Growth Factor-beta
TMIC	Thérapie du Mouvement Induit par la Contrainte
TNF- α	Tumor Necrosis Factor Alpha
TOAST	Trial Org 10172 in Acute Stroke Treatment
ToNIC	Toulouse NeuroImaging Center

tPA	Altéplase
TR	Tissu en Reconstruction
TR'	Temps de Répétition
UK	Urokinase
VCAM1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VL PS	Volume Lésionnel Pré-Sacrifice
β3tub	β3tubuline
Ir	Primaire
IIr	Secondaire

Introduction générale

Une lésion cérébrale aiguë, aussi appelée « cérébrolésion » est un évènement brutal survenant au niveau du cerveau causant un arrêt ou un trouble de fonctionnement d'une partie de ce cerveau. Une lésion cérébrale aiguë peut être issue d'une cause médicale telle qu'un accident vasculaire cérébral, une tumeur cérébrale, un désordre métabolique ou autre ; ou d'un traumatisme cérébral quand elle est causée par un accident ou un dommage affectant le cerveau (commotion, contusion, hématome, hémorragie...). Les lésions cérébrales aiguës sont une cause majeure de morbi-mortalité. Leur gravité réside principalement dans leur morbidité importante et notamment les handicaps qu'elles provoquent.

L'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) constitue une des lésions cérébrales aiguës les plus fréquentes et les plus importantes d'un point de vue socio-médical. Il représente une urgence médicale critique caractérisée par l'apparition soudaine de déficits neurologiques focaux dans un territoire vasculaire, résultant de pathologies cérébrovasculaires sous-jacentes. L'AVC ischémique représente 80% des AVC et résulte le plus souvent de l'occlusion d'une artère cérébrale par un caillot sanguin (thrombus) ou par un athérome. Dans 20% des cas, l'AVC est d'origine hémorragique (rupture d'une artère cérébrale).

L'AVC représente la première cause de handicap physique acquis de l'adulte ainsi que la deuxième cause de mortalité mondiale. En France, environ 140 000 nouveaux cas sont dénombrés chaque année, ce qui représente 1 nouveau cas toutes les 4 minutes. Les infarctus cérébraux provoquent des dommages cérébraux parfois irréversibles : lorsqu'ils sont privés d'oxygène en raison de l'obstruction vasculaire, environ 2 millions de neurones meurent chaque minute. Le taux de survie reste néanmoins élevé, mais les morbidités sont très souvent conséquentes, avec une grande majorité de répercussions motrices, sensorielles, sensitives, visuelles et cognitives persistantes sur le long terme.

A l'heure actuelle, le traitement de référence mis en place pour la phase aiguë d'un AVC ischémique par occlusion depuis 2015 consiste en une association de thrombolyse intraveineuse et de thrombectomie mécanique, quand cette dernière est possible (artère proximale). Ce traitement doit être mis en place dans les 4h30 suivant l'AVC, mais ne garantit en rien l'absence de séquelles. A l'heure actuelle, aucun

résultat probant n'a encore été identifié en phase subaiguë à chronique, hormis la rééducation qui permet de faire intervenir les mécanismes de plasticité cérébrale pour accélérer la récupération motrice. Ainsi, de nouvelles stratégies thérapeutiques doivent être développées. La greffe d'implants dans les zones cérébrales lésées représente un des axes thérapeutiques possible.

Pour cela, l'expérimentation animale occupe une place prépondérante, avec l'élaboration de nombreux modèles animaux permettant de mieux comprendre la physiopathologie de l'AVC et de tester de nouvelles stratégies thérapeutiques. Ces études précliniques sont obligatoires avant d'envisager un transfert chez l'Homme. Or, le plus souvent, il s'agit de modèles de rongeurs, dont le trop grand éloignement phylogénétique avec l'Homme peut poser un problème majeur en cas de transfert chez l'Homme. Aussi, la nécessité de réaliser des études précliniques sur des primates non humains (PNH) est primordiale dans la recherche de meilleures stratégies thérapeutiques adaptées à l'Homme. Un compromis entre les rongeurs et les grands primates en matière d'éloignement phylogénétique par rapport à l'Homme réside dans le marmouset, PNH du nouveau monde.

Au sein de l'équipe iDREAM du laboratoire ToNIC (Toulouse NeuroImaging Center) de l'Inserm, des résultats prometteurs ont été obtenus dans des précédentes études menées sur la récupération fonctionnelle après lésion cérébrale chez le rat grâce à la greffe de cellules souches neurales implémentées sur des prothèses micro-structurées. Ces dernières ont été mises au point grâce à une collaboration multidisciplinaire avec les physiciens du LAAS-CNRS. Par la suite, le choix du marmouset, *Callithrix jacchus*, comme modèle PNH pour la transposition de ces études chez un primate non humain a été fait notamment d'un point de vue pratique (zootechnie primate sur site hébergeant des marmousets (Cerco-CNRS)) et scientifique, pour continuer à tester cette stratégie thérapeutique.

Le modèle de lésion cérébrale aiguë de l'équipe, élaboré chez les rats, a tout d'abord été transposé avec succès au marmouset (thèse scientifique de Boris Demain, publiée en 2015). Ce modèle lésionnel consiste en une injection de malonate, un inhibiteur compétitif de la succinate déshydrogénase - enzyme impliquée dans le cycle de Krebs et dans la chaîne respiratoire cellulaire -, directement dans le cortex moteur primaire qui est responsable de l'exécution des mouvements volontaires. Cette zone est touchée directement ou indirectement dans la grande majorité des AVC ischémiques. Il s'agit là du premier modèle marmouset d'ischémie cérébrale

permettant de cibler n'importe quelle zone spécifique du cerveau indépendamment de la vascularisation.

Puis, une fois le modèle malonate adapté au marmouset, l'implantation des biomatériaux en silicone ayant montré des résultats prometteurs dans les études menées chez les rats de l'équipe a été réalisée chez ces mêmes marmousets (thèses de Boris Demain (2015) et d'Alice LeFric (2020)). Un suivi longitudinal rapproché a été effectué dans ces thèses par la réalisation d'analyses comportementales et grâce à l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), de manière à évaluer l'évolution de la lésion cérébrale, des déficits moteurs et sensoriels ainsi que d'étudier la récupération fonctionnelle post-lésionnelle de ces marmousets. Enfin, la recherche d'une source allogénique idéale de cellules souches pour une greffe intracérébrale concomitante à l'implantation de biomatériaux a été effectuée (thèse scientifique d'Alice LeFric, publiée en 2020), de manière à espérer obtenir des résultats similaires à ceux obtenus chez les rats bénéficiant d'implants porteurs de cellules. Ce concept de neuro-implants n'a cependant pas encore été testé chez le marmouset à ce jour.

L'étude présentée dans ce manuscrit consiste à étudier l'effet de l'implantation des biomatériaux en silicone élaborés par l'équipe sur la reconstruction tissulaire (neuro-, glio- et angiogenèse) dans un modèle de lésion cérébrale aiguë mimant l'AVC chez les marmousets implantés issus des deux thèses abordées précédemment.

En première partie, après une présentation de la neuro-anatomie du système nerveux central et de la motricité manuelle, puis de l'AVC, sa physiopathologie ainsi que les différentes stratégies thérapeutiques disponibles à l'heure actuelle, nous aborderons les différents modèles disponibles d'AVC, ainsi que les modèles animaux les plus adaptés à l'étude de cette pathologie en insistant sur le rôle du marmouset et ses particularités en terme de neuro-anatomie, avant de présenter les différents axes thérapeutiques envisageables en médecine reconstructive, en abordant particulièrement la place des implants cérébraux, centraux dans l'étude présentée.

Ensuite, la deuxième partie sera dédiée à la présentation du projet dans sa globalité ainsi que des résultats obtenus dans les travaux réalisés au cours de cette thèse sur la caractérisation cellulaire de la reconstruction tissulaire chez les marmousets implantés. Puis ces résultats seront discutés et les différentes limites du projet seront soulevées, ainsi que les perspectives d'avenir.

Enfin, ce manuscrit sera clôturé par une conclusion générale des éléments pertinents à retenir de l'ensemble de cette étude, ce qui mènera ensuite à la rédaction d'un futur article.

J'espère que la lecture vous sera agréable.

Partie I : Etude bibliographique

I. Les voies de la motricité manuelle

A. Neuro-anatomie du système nerveux central

1. Les cellules du système nerveux central

Le SNC est un élément anatomique constitué de neurones et de cellules « support », appelées cellules gliales (von Bartheld et al., 2016). Pendant longtemps, le ratio entre ces deux populations cellulaires était grandement controversé, et la majorité tendait à penser que la population de cellules gliales dans le SNC était majoritaire, avec un ratio de 1 : 10 dans le cerveau. Or, il y a quelques années, la méthode validée du fractionneur isotrope a finalement démontré un rapport neurones/cellules gliales de moins d'1 : 1 (Herculano-Houzel, 2014 ; von Bartheld et al., 2016), allant même jusqu'à établir un ratio de 1 : 0,7, déjà évoqué dans de précédentes recherches (Azevedo et al. 2009; Haug 1986). Ainsi, dans le cerveau humain, le nombre total de neurones est estimé à environ 86 milliards, tandis que le nombre de cellules non neuronales est d'environ 85 milliards, dont environ 60 milliards sont estimées être des cellules gliales (Azevedo et al. 2009; Haug 1986; von Bartheld, Bahney, Herculano-Houzel 2016). Dans le SNC, on trouve aussi des cellules endothéliales, constituant les vaisseaux sanguins. Or, il a été démontré avec la même technique qu'un ratio de 5 : 3 : 1 pour les neurones, la glie et les cellules endothéliales s'appliquait dans l'ensemble du cerveau humain, en considérant que les cellules endothéliales représentaient environ 25% des cellules non-neuronales du cerveau entier (Bahney, von Bartheld 2018). Une rapide présentation des cellules nerveuses et gliales composant le SNC va maintenant être réalisée.

Les cellules nerveuses, ou neurones, sont responsables de fonctions qui sont propres au SNC. Elles constituent les unités fonctionnelles de base du système nerveux (théorie du neurone de Cajal et Waldeyer, fin du XIXe siècle). Un neurone est composé d'un corps cellulaire appelé « soma », de plusieurs dendrites - chargées de recevoir les signaux provenant d'autres neurones – ainsi que d'un unique axone (comportant ou non des collatérales et aussi appelé fibre nerveuse) – chargé de conduire l'influx nerveux à un autre neurone (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). L'influx nerveux, une fois la synapse - zone de contact entre l'axone et le neurone suivant -

atteinte, est ensuite transmis via la libération de neurotransmetteurs dans cette dernière (Brodal 2010). Deux principes de base dans la transmission de l'influx nerveux dans le SNC sont les principes de convergence (chaque neurone reçoit des informations de nombreux autres neurones) et de divergence (chaque neurone peut influencer de nombreux autres neurones) (Brodal 2010). Pour aider à cette transmission de l'influx nerveux entre les neurones, de nombreux axones sont entourés de gaine de myéline, une membrane spécialisée formée par des cellules gliales myélinisantes du système nerveux (les oligodendrocytes pour le SNC). Cela confère une isolation électrique et permet d'augmenter la vitesse de propagation de l'influx nerveux sans augmenter considérablement la taille d'un axone. Cette membrane remplit également un rôle nutritif envers les axones (Nave 2010). Enfin, les neurones sont classés en deux groupes plutôt vastes : (1) les neurones de projection (neurones du cortex cérébral par exemple), à long axones présentant des collatérales, capables de transmettre les signaux sur de longues distances ; ainsi que (2) les interneurones (très nombreux dans le cortex cérébral humain), à axones courts, responsables de la coopération intercellulaire au sein de groupes de neurones (Brodal 2010).

Les cellules gliales sont dédiées au soutien et à la protection des neurones (Brodal 2010). Ce sont donc des cellules indispensables au bon fonctionnement neuronal : bien qu'elles ne soient pas impliquées directement dans les processus de transmission de l'information, les cellules gliales vont assister les neurones dans cette tâche en assurant leur cohésion et en leur fournissant notamment un soutien, des nutriments et une protection (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Il existe 3 types principaux de cellules gliales dans le SNC, différant par leur structure et leur fonction : les astrocytes (ou astroglie), la microglie et les oligodendrocytes. Les astrocytes sont des cellules en forme d'étoile dont les prolongements établissent des contacts avec les enveloppes du cerveau, constituant par là une véritable structure de soutien dans le SNC, mais aussi avec les vaisseaux sanguins créant ainsi des voies d'acheminement des nutriments des vaisseaux aux neurones. Ils remplissent également des fonctions homéostatiques essentielles notamment en contrôlant les concentrations en ions (notamment K^+) et en neurotransmetteurs, le pH et la pression osmotique des fluides extracellulaires. Ils sécrètent aussi des substances chimiques impliquées dans les échanges intercellulaires et dans la modulation de l'activité cérébrale, interviennent également dans les processus de cicatrisation en cas de lésion notamment par la formation d'une cicatrice ou barrière gliale isolant la zone endommagée et participent

aussi à l'établissement de la barrière hémato-encéphalique (Kolb, Whishaw, Teskey 2019; Brodal 2010). La microglie quant à elle, tire son origine du système immunitaire sanguin et représente environ 20% de l'ensemble des cellules gliales du SNC. Elle assure la santé du tissu nerveux et joue le rôle de système immunitaire dans le cerveau. Elle constitue les macrophages de ce dernier. Les cellules de la microglie détectent et digèrent les tissus étrangers ainsi que les débris cellulaires par phagocytose. En cas d'endommagement des cellules cérébrales, elles vont participer à la réparation du tissu nerveux endommagé en envahissant la zone lésionnelle pour y sécréter des facteurs de croissance. Elles travaillent donc en étroite collaboration avec les astrocytes pour assurer la bonne cicatrisation et la bonne réparation tissulaire en cas de lésion cérébrale (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Enfin, les oligodendrocytes assurent le rôle d'isolant autour des axones des neurones en formant la gaine de myéline. Cette dernière permet une conduction de l'information plus rapide et efficace et donc une augmentation de la vitesse de propagation du message nerveux. Les oligodendrocytes myélinisent spécifiquement les neurones dans l'encéphale et la moelle spinale. Ils participent également à la nutrition des neurones et aux échanges chimiques avec ces derniers (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). En plus de ces 3 principaux types de cellules gliales, il existe aussi d'autres formes spécialisées de cellules gliales comme notamment les cellules épendymaires localisées au niveau des parois des ventricules cérébraux, fabriquant et sécrétant le liquide cébrospinal (LCS) qui remplit les ventricules, les cellules de Schwann formant la gaine de myéline autour des nerfs périphériques, les cellules de Müller (rétiniennes), les cellules de Bergman (cérébelleuses) ainsi que les pituicytes (neurohypophyse) (Brodal 2010).

Maintenant que la composition cellulaire du SNC a été présentée, nous allons aborder son organisation neuro-anatomique ainsi que l'organisation fonctionnelle de ces cellules en son sein.

2. Structure générale du système nerveux et présentation du SNC

Le système nerveux est un réseau complexe nous permettant d'interagir avec notre environnement d'un point de vue sensoriel et moteur (Ludwig, Reddy, Varacallo 2025). Il comprend le système nerveux périphérique (SNP) (systèmes nerveux somatique, autonome/végétatif et entérique) et le système nerveux central (SNC) (Thau, Reddy, Singh 2025). Ces deux systèmes sont en étroite collaboration, et le sens de l'information nerveuse est primordial : une information afférente se dirigeant vers le SNC est sensorielle, tandis qu'une information efférente quittant le SNC est

motrice (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Pour ce qui est de l'anatomie, le SNC est constitué de l'encéphale et de la moelle spinale, alors que les fibres nerveuses qui quittent ces deux organes ainsi que tous les neurones situés en dehors de ces structures forment le SNP (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

L'encéphale est la structure responsable des réponses, des sensations, des mouvements, des émotions, de la communication, du processus de pensée, ainsi que de la mémoire (Thau, Reddy, Singh 2025). La moelle spinale est un élément fondamental du SNC. En effet, nichée dans la colonne vertébrale, elle permet de transmettre les commandes motrices provenant du cerveau à la périphérie et de relayer les informations sensorielles jusqu'à l'encéphale (Thau, Reddy, Singh 2025). L'encéphale et la moelle spinale sont protégés par 3 couches de méninges (de la plus externe à la plus interne) : la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Entre l'arachnoïde et la pie-mère se trouve le liquide cérébro-spinal (également présent dans les ventricules cérébraux), une solution composée de chlorure de sodium qui permet entre autres d'amortir les chocs et de protéger ce tissu nerveux fragile, mais qui joue également un rôle dans l'homéostasie du liquide interstitiel conditionnant le fonctionnement neuronal (Kolb et al., 2019 ; Sakka et al., 2011).

3. Divisions anatomiques fonctionnelles et structure générale externe de l'encéphale

L'encéphale est une structure complexe du SNC. Il est divisé en quatre parties principales : (1) le tronc cérébral, constitué de la moelle allongée (ou bulbe), du pont et du mésencéphale ; (2) le cervelet ; (3) le diencephale, constitué du thalamus et de l'hypothalamus ; et (4) les hémisphères cérébraux, composés du cortex cérébral, des ganglions de la base, de la substance blanche, des hippocampes et des amygdales (Ludwig, Reddy, Varacallo 2025).

Le tronc cérébral commence au niveau où la moelle spinale pénètre dans le crâne. Il reçoit les informations relatives à toutes les sensations de l'organisme et il en émane les nerfs efférents qui interviennent dans le contrôle de presque tous les mouvements du corps (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Il contient aussi les noyaux des nerfs crâniens III à XII, responsables notamment de l'innervation sensorielle et motrice de la face et du cou (Ludwig, Reddy, Varacallo 2025).

Le cervelet, ou « petit cerveau », est impliqué dans la coordination des mouvements yeux-tête, dans la planification, l'exécution et la coordination des mouvements volontaires ainsi que dans le maintien de la posture et de l'équilibre (Ludwig, Reddy, Varacallo 2025; Thau, Reddy, Singh 2025). Sa structure est similaire à celles des hémisphères cérébraux, et il est en communication constante avec le tronc cérébral ainsi que le cortex cérébral pour la réalisation de contractions musculaires volontaires et donc de mouvements volontaires ainsi que leur correction (Thau, Reddy, Singh 2025).

Le diencephale se situe dans le prolongement du tronc cérébral. Il est sur les voies reliant le cortex cérébral à la périphérie et est impliqué dans l'intégration des fonctions motrices et sensorielles (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). L'hypothalamus, remplit une fonction essentielle à l'organisme en contrôlant la production hormonale grâce à ses interactions avec l'hypophyse (glande pituitaire) (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Le thalamus est le centre de relais du cerveau : son rôle est notamment de recevoir et de traiter les informations sensorielles afférentes de l'ensemble de l'organisme de manière à cibler la zone corticale appropriée à laquelle les distribuer (Thau, Reddy, Singh 2025). Il y a un hypothalamus et un thalamus par hémisphère cérébral (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Les hémisphères cérébraux, au nombre de deux (droit et gauche), sont des éléments anatomiques complexes constitués de nombreuses structures fonctionnelles. On va se concentrer maintenant sur ces hémisphères et leur organisation fonctionnelle interne.

4. Divisions anatomiques fonctionnelles et structure générale interne des hémisphères cérébraux

L'intérieur des hémisphères cérébraux n'est pas homogène, deux ensembles de zones aux colorations différentes se retrouvent à la coupe : on y trouve des zones claires et des zones plus sombres. Les zones claires, appelées « substance blanche », sont essentiellement constituées de fibres nerveuses (axones) myélinisées constituant des connections entre les différents corps cellulaires, la myéline (très lipidique) étant responsable de cette coloration blanchâtre (Brodal 2010). Les zones sombres, appelées « substance grise », sont quant à elles majoritairement constituées de corps cellulaires de neurones, de dendrites, ainsi que de capillaires sanguins (et d'axones partant ou allant vers les neurones présents) ; et les neurones étant de couleur grisâtre, cela explique l'origine de la coloration +de cette substance grise (Kolb,

Whishaw, Teskey 2019). Ces différences de coloration entre les substances grise et blanche permettent ainsi l'identification macroscopique des régions contenant les corps cellulaires et des régions contenant les fibres nerveuses dans le cerveau (Brodal 2010). En surface des hémisphères cérébraux notamment, la substance grise correspond au cortex cérébral. Ce cortex est divisé en plusieurs lobes répondant à des rôles spécifiques qui seront présentés dans la sous-partie suivante.

Un élément anatomique important du cerveau est également la présence des ventricules cérébraux. Au nombre de quatre, ces cavités sont organisées en forme « d'ailes déployées » et sont remplies de LCS, fabriqué par la couche de cellules épendymaires tapissant les parois des ventricules (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Ces ventricules remplis de LCS sont reliés entre eux et jouent un rôle important dans le métabolisme cérébral, notamment via le transport de molécules et l'évacuation de déchets métaboliques (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

D'un point de vue microscopique, les corps cellulaires des neurones du SNC sont rassemblés en groupes fonctionnels dans les hémisphères cérébraux, appelés « noyaux » (Brodal 2010). Les différents noyaux sont interconnectés et constituent différentes unités fonctionnelles, donc chaque neurone faisant parti d'un noyau reçoit le même genre d'information et réagit de manière identique (Brodal 2010). Dans le SNP, le même regroupement fonctionnel est appelé un « ganglion » (Brodal 2010). Les noyaux gris centraux sont un ensemble de structures sous-corticales constituées par des noyaux pairs interconnectés au niveau des hémisphères cérébraux (télencéphale) et du diencephale (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Ils comprennent le noyau caudé et le putamen (les deux formant le striatum) ainsi que le pallidum. Les trois forment le corps strié (noyaux de la base) et l'ensemble pallidum et putamen forment le noyau lenticulaire. Ils comprennent également la substance noire mésencéphalique et le noyau sous-thalamique (Kolb et al., 2019 ; Ludwig et al., 2025 ; Prin, 2023). Ces noyaux reçoivent des informations de la quasi-totalité du néocortex et forment un système, avec le thalamus (composé de plusieurs noyaux également), principalement impliqué dans le contrôle du mouvement volontaire (Kolb et al., 2019 ; Ludwig et al., 2025).

Les différentes structures internes du cerveau sont reliées par de nombreuses fibres nerveuses, formant des réseaux interconnectés. Parmi ces réseaux, on retrouve la capsule interne, une épaisse lame de matière blanche reliant notamment le thalamus avec les noyaux de la base (noyaux caudé et lenticulaire) et comprenant

aussi les faisceaux sensitifs thalamo-corticaux et le faisceau corticospinal, l'efférence motrice. De plus, une caractéristique essentielle du SNC se retrouve dans les connexions de nombreux noyaux avec les deux hémisphères cérébraux, appelées connexions bilatérales (Brodal 2010). Bien que certains réseaux de fibres aient le même nombre d'axones qui relient chaque hémisphère, il en existe dont le nombre d'axones décussant prédomine, comme le faisceau corticospinal, avec seulement un nombre minime de fibres rejoignant le côté ipsilatéral, ce qui a une importance majeure dans la récupération fonctionnelle après lésion cérébrale (Brodal 2010). Enfin, les commissures cérébrales correspondent à des faisceaux de substance blanche qui assurent la transmission des informations entre les deux hémisphères du télencéphale. La plus importante de ces commissures est appelée « corps calleux » et s'étend sur pratiquement toute la longueur des hémisphères cérébraux, contenant environ 200 millions de fibres nerveuses liant les deux hémisphères et permettant leur étroite communication (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

La **Figure 1** présente les différents éléments anatomiques abordés dans les paragraphes précédents sur les noyaux de la base ainsi que les commissures cérébrales

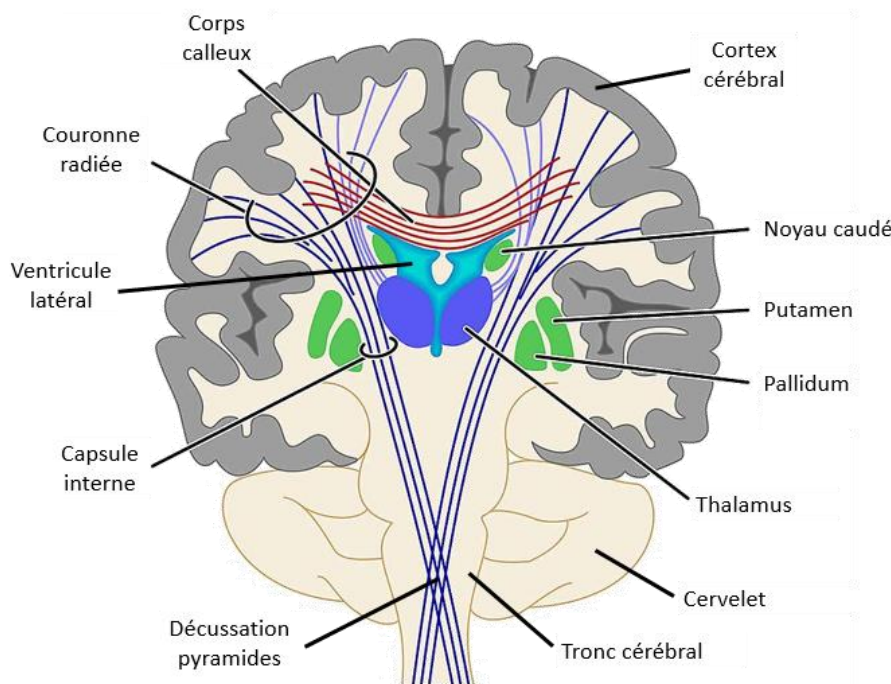


Figure 1. Schéma d'une coupe coronale d'encéphale. Le schéma présente les noyaux de la base, les faisceaux de substance blanche ainsi que le corps calleux. Schéma adapté de (Moeller, Willmes, Klein 2015).

5. Organisation fonctionnelle corticale

Le cortex cérébral est la couche la plus superficielle de l'encéphale. Il est constitué de matière grise et est rempli de plusieurs milliards de neurones pour la

réalisation de fonctions exécutives majeures et variées (Thau, Reddy, Singh 2025). Chaque hémisphère cérébral est divisé en 4 lobes corticaux, séparés par la fissure longitudinale : frontal, pariétal, occipital et temporal (Kolb, Whishaw, Teskey 2019; Thau, Reddy, Singh 2025). Les trois lobes les plus postérieurs ont des fonctions sensorielles : le lobe occipital est visuel, le lobe pariétal est sensitif et visuel tandis que le lobe temporal est auditif, visuel et gustatif (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). A l'opposé, le lobe frontal est moteur. Les différents lobes sont séparés anatomiquement par les fissures et les sillons cérébraux (sillons centraux et latéraux) (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Le lobe frontal, parfois désigné comme le centre exécutif du cerveau intègre des fonctions sensorielles et motrices et intervient dans la perception et la réalisation de fonctions motrices (Ludwig, Reddy, Varacallo 2025). Il contient le cortex moteur, divisé en deux aires majeures : le cortex moteur primaire (M1) et l'aire pré-motrice (APM) (Bhattacharjee et al. 2021). M1 est localisé dans le gyrus précentral du lobe frontal et joue un rôle majeur dans l'exécution des mouvements volontaires des membres et du tronc (Bhattacharjee et al. 2021). Son organisation fonctionnelle sera présentée dans la sous-partie qui lui sera dédiée dans la présentation des voies motrices. Le schéma suivant présente les aires d'intérêt du cortex cérébral (**Figure 2**).

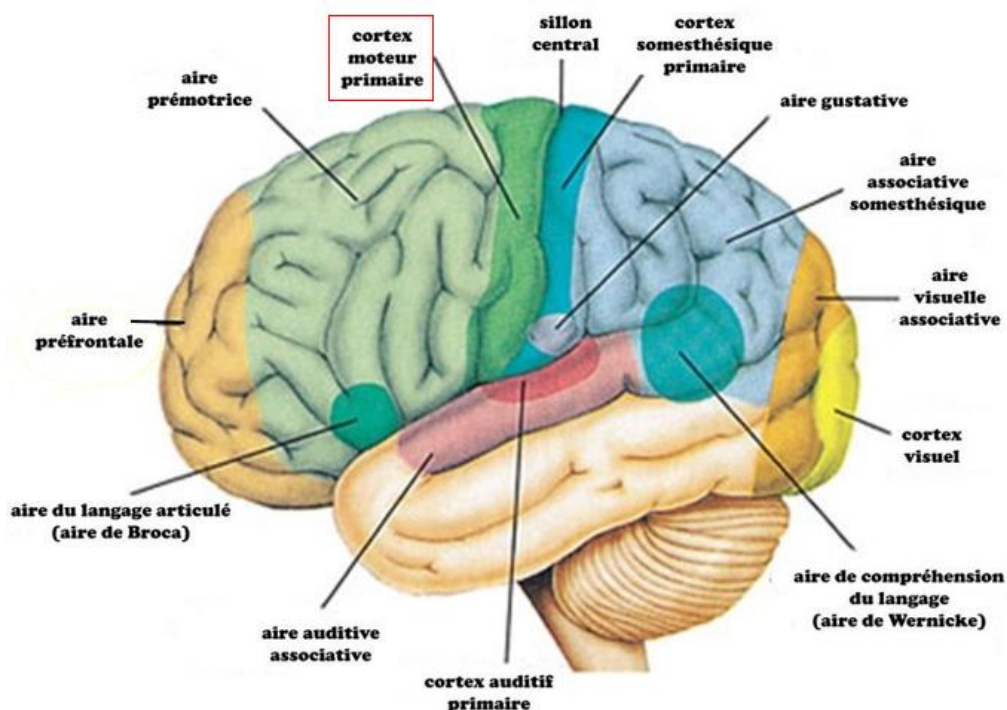


Figure 2. Schéma des aires fonctionnelles corticales principales. Le schéma présente les aires cérébrales principales et notamment l'emplacement du cortex moteur primaire. Schéma adapté de la thèse de Nohales et Iceta, 2015.

Les neurones du cortex cérébral sont disposés en couches bien distinctes possédant notamment des types et des densités cellulaires différents (densité croissante de la couche la plus superficielle I à la plus profonde VI) (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). D'autres différences ont menées à l'élaboration de cartes cytoarchitectoniques du cortex, basées sur les caractéristiques morphologiques des cellulaires des différentes aires corticales, étroitement liées à leur fonction (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). C'est Korbinian Brodmann qui a révolutionné la neuroscience en publiant sa carte fonctionnelle du cortex cérébral humain en 1909, reprise ensuite en 2016 par Glasser MF., qui publia alors une nouvelle carte présentant 180 aires corticales fonctionnelles par hémisphère (Damiani, Nascimento, Pereira 2017). L'ensemble de ces aires ne sera pas détaillé dans ce manuscrit, de même que les nombreuses différences histologiques entre elles. Il ne sera présenté ici que l'organisation globale typique des différentes couches du cortex moteur ainsi que leur rôle typique (**Figure 3**).

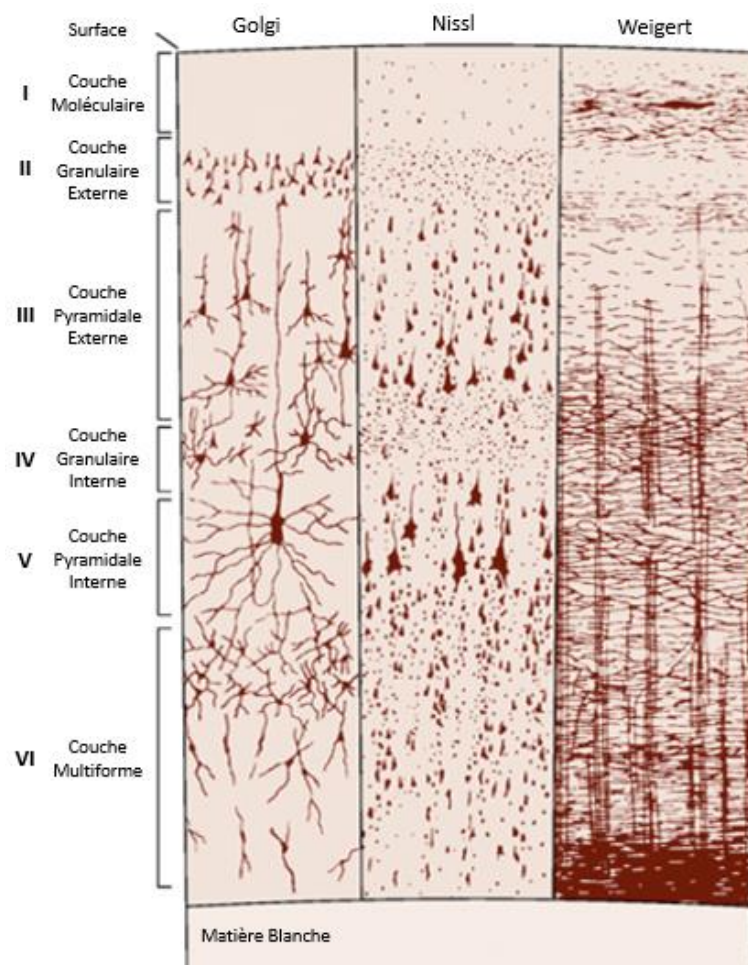


Figure 3. Schéma de l'organisation en couches du cortex cérébral moteur. L'apparence du cortex dépend de la coloration utilisée pour le colorer. La coloration de Golgi révèle les corps cellulaires des neurones ainsi que l'arbre dendritique. La coloration de Nissl montre également les corps cellulaires et les dendrites proximales. La coloration de Weigert montre les fibres myélinisées et révèle la distribution axonale. Schéma adapté de (Heimer 2012).

L'organisation la plus commune du cortex cérébral est celle constituée de 6 couches distinctes (Amaral 2006), numérotées de la plus externe à la plus interne (au-dessus de la substance blanche sous-corticale) :

- Couche I : la plus externe, appelée « couche moléculaire », peu cellulaire et notamment fibreuse, constituée de quelques dendrites des neurones plus profonds ainsi que des axones afférents et efférents.
- Couche II : « couche granulaire externe », constituée de petites cellules sphériques étoilées. Cette couche reçoit les axones provenant d'autres régions corticales.
- Couche III : « couche pyramidale externe », constituée principalement de cellules pyramidales petites et moyennes. Les neurones pyramidaux profonds de cette couche sont plus larges et projettent leurs axones de manière efférente vers d'autres régions corticales.
- Couche IV : « couche granulaire interne », remplie de petites cellules étoilées. Cette couche reçoit les axones provenant principalement du thalamus. Elle est plus épaisse dans les aires sensorielles.
- Couche V : « couche pyramidale interne », comprenant des cellules pyramidales moyennes à grosses. Les neurones de cette couche projettent leurs axones de manière efférente vers les régions sous-corticales (noyaux de la base, thalamus, mésencéphale, métencéphale, myélocéphale, moelle spinale). Cette couche est particulièrement développée dans le cortex moteur.
- Couche VI : « couche multiforme », composée de couches hétérogènes de neurones se fondant dans la matière blanche sous-corticale constituant la limite interne du cortex cérébral.

Les couches pyramidales sont à l'origine des efférences du cortex, tandis que les couches granulaires reçoivent les afférences du cortex. Les différentes couches corticales sont interconnectées : les couches I à III contiennent les dendrites apicales des neurones dont les corps cellulaires se trouvent dans les couches V et VI, tandis que les couches V et VI contiennent les dendrites basales des neurones dont les corps cellulaires se trouvent dans les couches III et IV (Amaral 2006). Cette organisation en couche du cortex cérébral est primordiale. En effet, la stratification des neurones fournit un moyen efficace d'organiser les relations entrée-sortie des neurones néocorticaux, et les informations peuvent ainsi passer en série d'un centre de

traitement à un autre (Amaral 2006). Chaque couche a une épaisseur plus ou moins importante en fonction de l'aire corticale. Il est notamment important de souligner que dans le cortex moteur primaire M1, les couches pyramidales interne et externe (III et V) sont les plus épaisses et les plus développées, notamment car ce sont celles les plus impliquées dans les messages efférents vers les autres régions corticales ou sous-corticales.

6. Vascularisation du SNC

La vascularisation des organes du SNC est un élément majeur débutant tôt dans leur formation, de manière à assurer un apport en oxygène et en nutriments adéquat pour les processus de neurogenèse et de gliogenèse (Tata, Ruhrberg, Fantin 2015). A l'âge adulte, l'encéphale est couvert de vaisseaux sanguins : artères et veines forment un réseau vasculaire majeur permettant respectivement d'apporter le sang à l'encéphale ou de l'évacuer (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

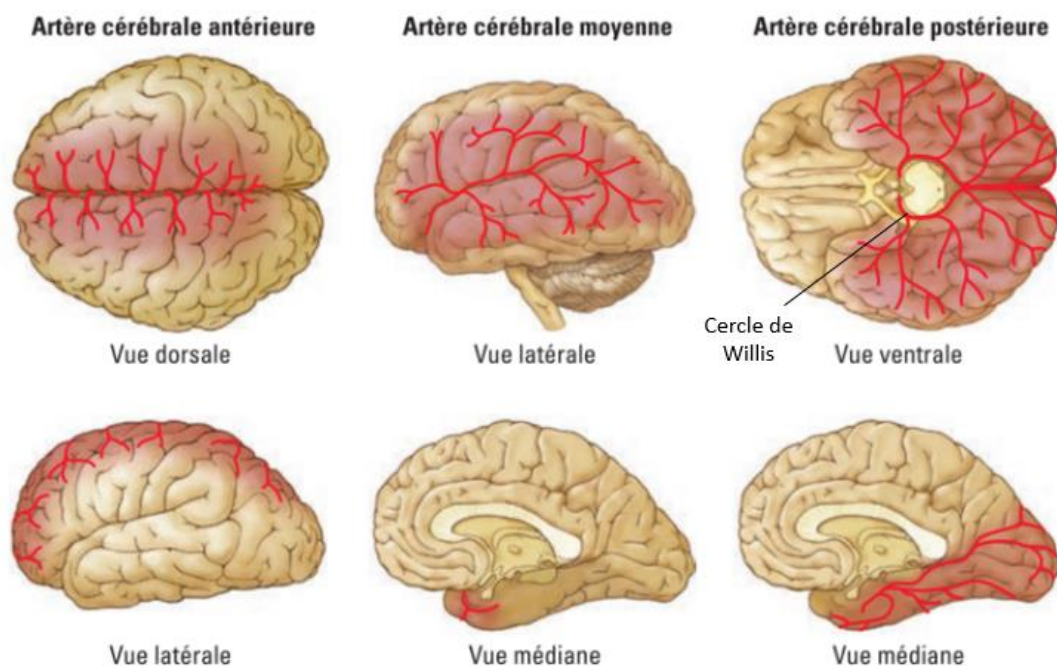


Figure 4. Schéma des artères cérébrales majeures et leurs aires de vascularisation. Les trois artères cérébrales majeures : antérieure, moyenne et postérieure ; sont présentées sur ce schéma selon les vues les plus adaptées pour visualiser leurs trajectoires. Chacune des trois artères majeures des hémisphères cérébraux fournissant une irrigation sanguine au cerveau se ramifie et délivre le sang à une région spécifique, visualisée en rose. Schéma adapté de (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Il existe 3 artères majeures responsables de l'irrigation de l'encéphale : les artères cérébrales antérieure, moyenne et postérieure (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Elles sont présentées avec leurs aires de vascularisation dans la **Figure 4**. Le sang artériel pénètre dans la cavité crânienne, principalement par deux séries bilatérales de

vaisseaux sanguins : (1) les artères carotides internes, qui se ramifient ensuite pour former les artères cérébrales antérieure, moyenne et postérieure responsables de la vascularisation du cerveau (circulation antérieure) ; et (2) les artères vertébrales, qui se rejoignent ensuite ventralement au niveau du pont pour former l'artère basilaire médiane d'où naissent les artères pontine, cérébelleuse et cérébrale postérieure qui alimentent le cervelet et le tronc cérébral (circulation postérieure) (Mastorakos, McGavern 2019; Tata, Ruhrberg, Fantin 2015). Au niveau des artères cérébrales postérieures, l'artère basilaire se connecte à la circulation des carotides internes pour former un anneau artériel dans les citernes sous-arachnoïdiennes à la base du cerveau appelé « cercle de Willis », qui fournit une circulation de secours au cerveau en cas d'occlusion de l'une des principales artères d'approvisionnement (Tata, Ruhrberg, Fantin 2015), et s'assure donc que le sang continue de circuler à tout instant (Thau, Reddy, Singh 2025).

Les branches de deuxième ordre forment des vaisseaux qui traversent l'espace sous-arachnoïdien et la pie-mère, donnant naissance à des artéριοles plus petites qui pénètrent dans le parenchyme cérébral, entourées d'espaces péri-vasculaires de tailles variables (Mastorakos, McGavern 2019). La pie-mère recouvre toutes les artères de l'espace sous-arachnoïdien, tandis que la couverture des veines est incomplète. En outre, le liquide contenu dans les espaces péri-vasculaires peut passer directement dans l'espace sous-arachnoïdien par les fenestrations de la pie-mère, ce qui permet une communication directe entre les espaces péri-vasculaires sous-pial et sous-arachnoïdien (Mastorakos, McGavern 2019).

B. Système moteur primaire et voies motrices descendantes

1. Le système moteur cortical

Le cortex moteur est divisé en deux aires majeures : le cortex moteur primaire (M1) et le cortex prémoteur (Bhattacharjee et al. 2021). M1 est localisé dans le gyrus précentral du lobe frontal et joue un rôle prépondérant dans l'exécution de mouvements volontaires (Bhattacharjee et al. 2021). La surface de M1 est organisée topographiquement en territoires spécialisés dans l'exécution de mouvements concernant une partie donnée du corps, modélisée par la réalisation d'un homonculus pouvant être projeté sur l'aire M1 (Penfield, Rasmussen 1950) (**Figure 5-a**). Ce modèle a ensuite été remis en question à de nombreuses reprises, et des études réalisées sur la projection réelle de ces aires fonctionnelles par électrostimulation ou

IRM fonctionnelle ont ensuite menées à une modernisation de cet homonculus, prenant en compte la globalité des patterns structuraux, fonctionnels et de connexion dans M1 (Gordon et al., 2023; Roux et al., 2020) (**Figure 5-b**). Cet homonculus se retrouve sur l'aire M1 de chaque hémisphère cérébral, et chaque cortex moteur contrôle principalement le mouvement du côté opposé du corps (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

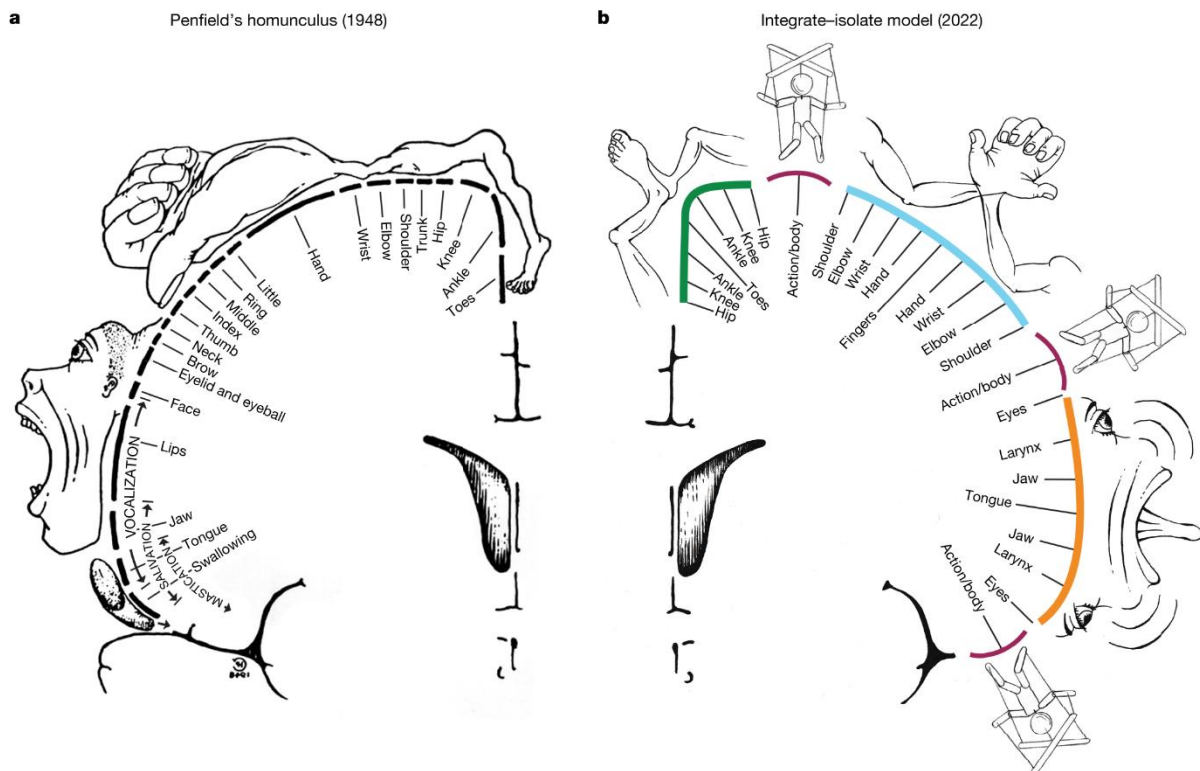


Figure 5. Représentation schématique de l'homonculus moteur. a, Homonculus classique de Penfield, adapté de (Penfield, Rasmussen 1950), représentant une carte continue du corps dans M1. b, Homonculus modernisé. Dans ce nouveau modèle de l'organisation de M1 (intégration-isolément), les zones fonctionnelles spécifiques aux effecteurs (pied (vert), main (cyan), et bouche (orange)) sont représentées par des anneaux concentriques avec les parties proximales du corps entourant les parties distales relativement plus isolables (orteils, doigts et langue). Les régions inter-effectrices (marron) se situent aux points d'intersection de ces champs, faisant partie d'un réseau d'action somato-cognitif pour le contrôle intégratif et allostatique de tout le corps. Ces 2 diagrammes illustrent des principes d'organisation ne devant pas être surinterprétés comme une carte précise. Schéma issu de (Gordon et al. 2023).

Un élément saisissant de l'homonculus, comme visualisé sur la **Figure 5**, est la taille disproportionnée de ses parties corporelles par rapport à l'échelle humaine : mains, pouces, lèvres, langue sont importants, tandis que les bras et les jambes sont plus petits. Cette distorsion illustre le fait que de vastes zones de l'aire M1 permettent une régulation précise des mouvements fins des mains, doigts ainsi que de la lèvre et de la langue (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). L'aspect discontinu et anarchique de la disposition des zones corporelles est aussi un facteur remarquable de cet homonculus, moins prononcé sur la version modernisée en matière de discontinuité. Une

organisation comparable est retrouvé dans la zone motrice supplémentaire du cortex prémoteur (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Enfin, en plus de ces éléments marquants sur l'organisation de M1, il est important de noter aussi que M1 présente une organisation fonctionnelle plastique chez l'ensemble des mammifères adultes (Sanes, Donoghue 2000), ce qui est une caractéristique essentielle dans les notions d'apprentissage moteur et de récupération post-lésionnelle. En effet, il a été montré que les cartes motrices pré-établies dans la région M1 étaient modulables et permettaient une adaptation conséquente de la fonctionnalité motrice en cas de lésion cérébrale ou motrice (Nudo, Milliken 1996). Ainsi, cette plasticité de M1 pourrait être à l'origine de la formation de nouvelles connexions ainsi que du renforcement des connexions existantes entre les différentes parties de l'homunculus moteur (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

2. Voies descendantes

Les principales voies efférentes entre le cortex moteur, le tronc cérébral et la moelle spinale sont les voies motrices primaires. Elles sont constituées de 2 composants : (1) les voies corticobulbaires, débutant principalement dans les cortex moteur et prémoteur et descendant jusqu'au tronc cérébral, où elles influencent notamment les noyaux des nerfs crâniens moteurs ; (2) les voies corticospinales (ou faisceau corticospinal), se projetant jusqu'à la moelle spinale pour contrôler les mouvements des membres et du tronc (Johns 2014).

Le faisceau corticospinal (FCS) est la voie somato-motrice principale ainsi que le plus long faisceau continu de matière blanche dans le SNC. Il est constitué de plus d'un million de fibres nerveuses myélinisées de chaque côté (Johns 2014). Son trajet est illustré sur la **Figure 6**. Les deux tiers des fibres nerveuses le constituant proviennent de la couche V du cortex moteur, majoritairement de M1 mais aussi du cortex prémoteur ; et le tiers restant prend naissance au niveau du cortex sensoriel du lobe pariétal (Johns 2014; Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Les axones quittent ensuite le cortex cérébral pour pénétrer dans la matière blanche sous-corticale, descendant ensuite le long de la capsule interne jusqu'à atteindre le tronc cérébral, envoyant des collatérales à de nombreux noyaux de ce dernier (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Les fibres du FCS atteignent d'abord le pilier cérébral (*crus cerebri*) (partie antérieure du pédoncule cérébral) du mésencéphale, puis traversent le pont basilaire avant d'atteindre la moelle allongée où elles occupent ventralement la ligne médiane

antérieure en formant des protubérance de chaque côté, également appelées « pyramides bulbaires » et responsables du deuxième nom du FCS, le faisceau pyramidal (Johns 2014; Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

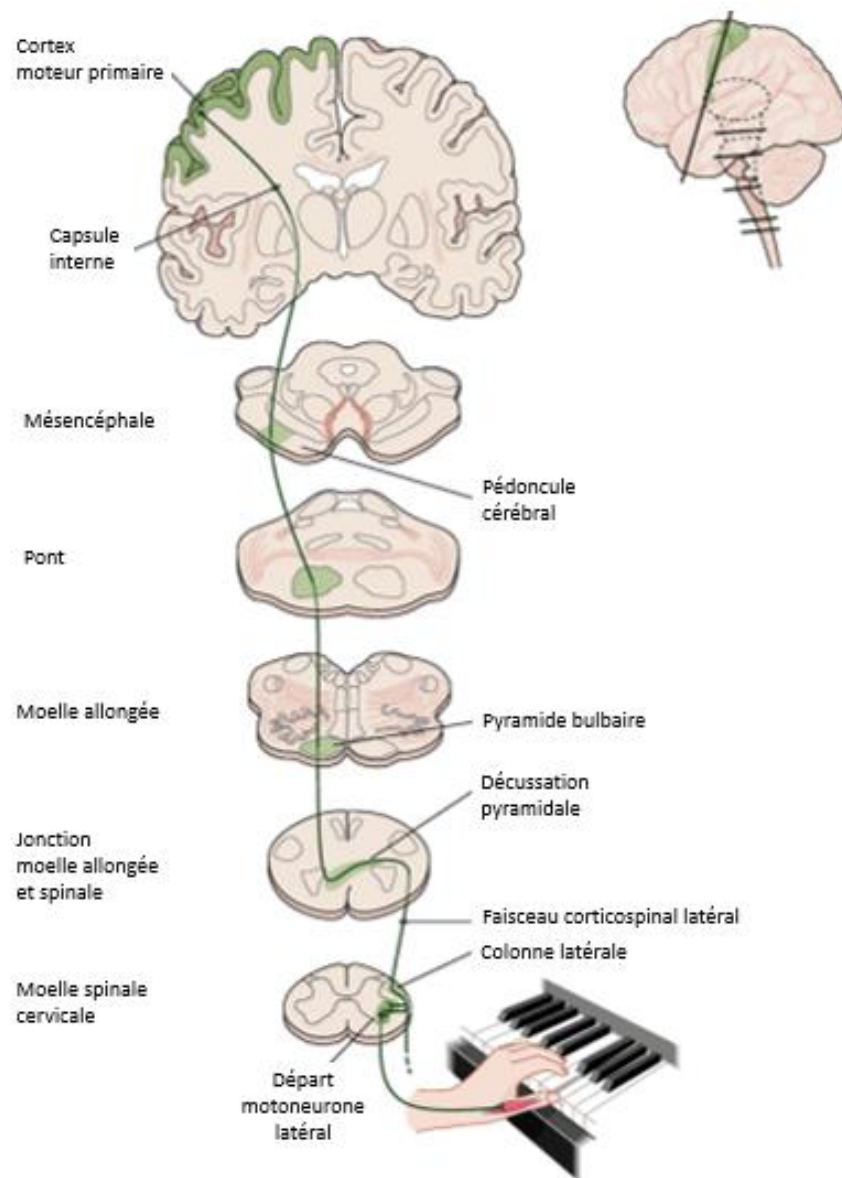


Figure 6. Représentation schématique du faisceau corticospinal. Le schéma présenté ici illustre le trajet du FCS en partant du cortex moteur primaire jusqu'à la connexion avec un motoneurone dans la moelle spinale après décussation et émergence du FCS latéral. Le mouvement illustré ici est celui des doigts de la main. Schéma adapté de (Amaral 2006).

Au niveau des pyramides bulbaires, 75 à 90% des fibres du FCS décussent en traversant la ligne médiane pour entrer dans la moitié contralatérale du tronc cérébral (Johns 2014). On parle de « décussation des pyramides ou pyramidale » (**Figure 6**). Les axones restants n'ayant pas décussé conservent le cheminement suivant leur côté d'origine (ipsilatéral). Cette division produit alors deux FCS : le FCS ventral (direct), antérieur, et le FCS latéral (indirect), pénétrant de chaque côté de la moelle spinale (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Le FCS latéral intervient ensuite dans le mouvement

des membres (notamment les fléchisseurs distaux) ainsi que des doigts de la partie controlatérale, tandis que le FCS ventral intervient quant à lui dans l'activation des muscles de la partie proximale et axiale du corps (notamment les extenseurs) (Johns 2014; Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Pour ce faire, une fois arrivées dans la moelle spinale, les fibres nerveuses vont établir des connexions synaptiques avec des interneurons (en majorité) et des motoneurons spinaux (notamment pour les commandes des muscles intrinsèques de la main), ces derniers transmettant l'ensemble des commandes du système nerveux aux muscles via les jonctions neuromusculaires (Johns, 2014 ; Kolb et al., 2019).

C. Physiologie motrice – Mouvement volontaire

1. Initier une séquence motrice

Le contrôle du mouvement volontaire est complexe et fait intervenir de nombreuses régions cérébrales dans une boucle motrice. Les lobes frontaux sont responsables de la planification et de l'initiation des séquences motrices. Chaque lobe frontal est divisé en 3 régions motrices hiérarchisées, de la plus rostrale à la plus caudale : les cortex préfrontal, prémoteur et moteur primaire (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). La séquence motrice va faire intervenir ces aires motrices dans un ordre précis.

Tout d'abord, le cortex préfrontal, au sommet de cette hiérarchie, va être responsable de la planification et de l'organisation des mouvements volontaires (Johns 2014; Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Il ne spécifie pas les mouvements précis à effectuer mais simplement l'objectif à atteindre (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Ensuite, le cortex prémoteur, qui va recevoir les informations du cortex préfrontal, va quant à lui être impliqué dans la préparation et la coordination des parties du corps nécessaires pour produire le mouvement souhaité (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Enfin, le cortex moteur primaire M1 va permettre l'exécution des mouvements, et est spécialisé dans celle des mouvements fins, comme ceux impliquant nos bras, nos mains et notre bouche (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). L'information va ensuite passer via le FCS jusqu'aux motoneurons et à nos muscles pour permettre enfin la réalisation du mouvement prévu.

Ainsi, de nombreuses régions cérébrales sont concernées par la réalisation de mouvements volontaires, et on peut même en compter d'autres si ce mouvement répond à une stimulation de l'environnement nécessitant une intégration préalable d'informations. En effet, en cas de visualisation d'un objet à récupérer, l'information à

intégrer par le cortex préfrontal va provenir d'abord du cortex visuel primaire (lobe occipital) pour la localisation et la visée de l'objet (Johns 2014). Le système somato-sensoriel interagit également avec le système moteur via les voies sensorielles afférentes (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

2. Structures sous-corticales et contrôle moteur

De manière plus globale, la réalisation de mouvements volontaires nécessite l'activité coordonnée de tous les composants du système moteur. Cela implique bien entendu le cortex moteur et les voies motrices descendantes du FCS, mais également d'autres structures sous-corticales dont les noyaux gris centraux, le thalamus, ainsi que le cervelet (Amaral 2006). La **Figure 7** illustre bien cette complexité des voies motrices corticales et sous-corticales.

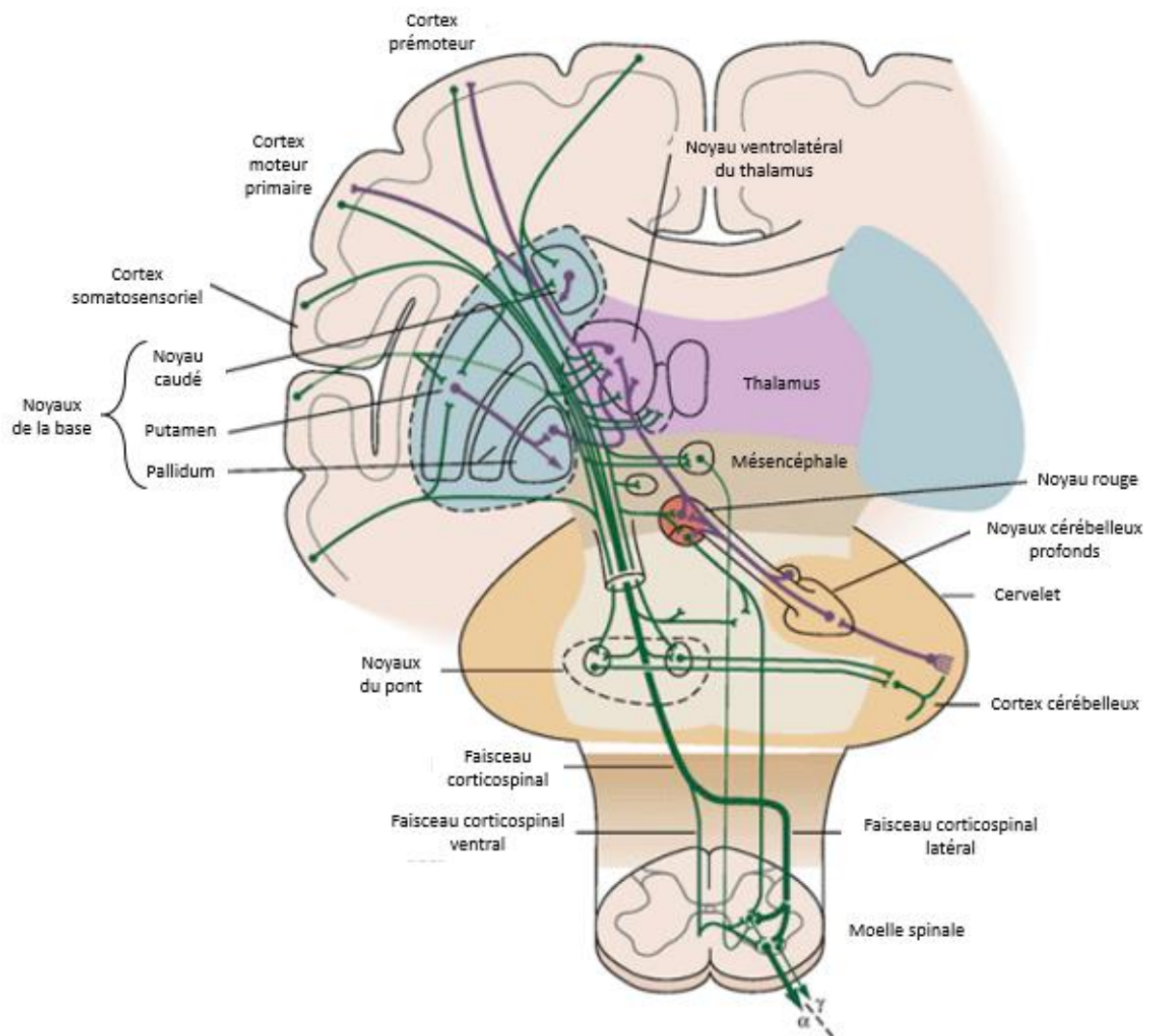


Figure 7. Représentation schématique des voies motrices sous-corticales et boucles motrices. Ce schéma démontre la complexité de la réalisation des mouvements volontaires, rendus possibles par l'activité coordonnée de tous les composants du système moteur (cortex moteur, noyaux de la base, thalamus, cervelet, moelle spinale et faisceau corticospinal). Les **principales projections descendantes** sont représentées en vert ; les **projections de rétroaction** et les **connexions locales** sont représentées en violet. En fin de compte, tous ces traitements convergent majoritairement vers les motoneurones de la corne ventrale de la moelle spinale, la « voie commune finale » qui innervent les muscles et déclenche les mouvements. Schéma adapté de (Amaral 2006).

Les noyaux gris centraux, présentés précédemment, sont un ensemble de noyaux situés sous le cortex, avec lequel ils établissent de nombreuses connexions. Ils ne sont pas impliqués dans la production de mouvements directs, mais dans la modulation de l'activité des systèmes moteurs corticaux (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Ils ont trois principales connexions (Kolb, Whishaw, Teskey 2019) :

- La quasi-totalité des zones corticales (sensorielles et motrices) se projettent vers les noyaux gris centraux ;
- Les noyaux gris centraux se projettent vers le cortex moteur par l'intermédiaire de relais dans le thalamus (principal centre de relais des réseaux nerveux ascendants et descendants) ;
- Les noyaux de la base sont en étroite relation avec la substance noire mésencéphalique et ses cellules dopaminergiques.

Grâce à ces connexions, les noyaux gris centraux forment des circuits réciproques et permettent l'élaboration de boucles liant l'ensemble des régions du cortex au cortex moteur. Ces boucles permettent notamment de sélectionner les mouvements moteurs appropriés et d'en moduler la force (Groenewegen 2003; Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Le cervelet, situé dorsalement au tronc cérébral, est également constitué d'un cortex de matière grise, sur lequel plusieurs homonculi peuvent être projetés. Le cortex cérébelleux est composé de 3 couches de cellules, dont les seules cellules efférentes constituent la couche II, les cellules de Purkinje (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). Cette organisation suggère que les différentes parties du cervelet ont une fonction commune qui consiste à contrôler les autres régions du système moteur (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). De manière plus précise, le cervelet est impliqué dans l'amélioration des habiletés motrices et de la dextérité par l'ajustement des mouvements (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). En effet, lorsque le cortex moteur envoie des informations à la moelle spinale pour la réalisation d'un mouvement volontaire, le cervelet reçoit une copie de ces instructions via l'olive inférieure, un noyau situé dans le tronc cérébral. Une fois le mouvement réel effectué, les récepteurs sensoriels des membres envoient à leur tour l'information au cervelet via le faisceau spinocérébelleux. Le cervelet, disposant alors des deux versions du mouvement (celui prévu et celui réalisé), peut maintenant estimer les erreurs de réalisation et en informer le cortex pour que ce dernier puisse rectifier le mouvement si besoin (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

II. L'accident vasculaire cérébral

A. Epidémiologie et signes cliniques

1. Données épidémiologiques

L'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) constitue une des lésions cérébrales aiguës les plus fréquentes et les plus importantes du point de vue de la santé mondiale et de ses répercussions économiques et sociales. Il représente une urgence médicale critique caractérisée par l'apparition soudaine de déficits neurologiques focaux dans un territoire vasculaire du SNC, résultant de pathologies cérébrovasculaires sous-jacentes (Hui et al. 2025).

L'AVC représente la première cause de handicap physique acquis de l'adulte ainsi que la deuxième cause de démence après la maladie d'Alzheimer (Daviet et al. 2022). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il constitue la deuxième cause de mortalité mondiale après les cardiopathies ischémiques, avec 11% des décès mondiaux enregistrés en France imputables aux AVC, contre 16% pour les cardiopathies ischémiques et 6% pour la bronchopneumopathie chronique obstructive en 3^{ème} position (données de l'année 2020).

En France, environ 140 000 à 150 000 nouveaux cas d'AVC sont dénombrés chaque année, ce qui représente approximativement 1 nouveau cas toutes les 4 minutes (Daviet et al. 2022). Dans le monde, environ 16 millions de nouveaux cas d'AVC sont comptés chaque année (13 millions en 2019) (Feigin et al. 2022). La moitié des cas d'AVC concernent des personnes âgées de 65 à 84 ans, tandis que les deux derniers quarts concernent respectivement les populations plus jeunes et plus âgées que cet intervalle, même si l'AVC reste relativement rare dans les populations de moins de 40 ans (Daviet et al. 2022). En France, on estime qu'environ 27% des patients décèdent dans l'année qui suit l'AVC (Naouri et al. 2022).

De manière générale, le nombre de cas d'AVC est plus élevé chez les pays en développement que chez les pays développés, notamment du fait des différences de systèmes de santé. On notera également que le nombre de cas d'AVC semble avoir diminué dans de nombreux pays développés entre 1990 et 2019, ce qui est en grande partie dû à l'amélioration du système de santé avec une meilleure détection des facteurs de risque et donc une optimisation de la prévention. Néanmoins, en valeur absolue, le nombre de cas d'AVC continue toutefois d'augmenter dans le monde, et cela est grandement imputable au vieillissement de la population (Fan et al. 2023).

2. Signes d'appel et séquelles majeures

Les symptômes aigus d'un AVC sont les suivants (Kolb, Whishaw, Teskey 2019; Qin et al. 2022 ; Soto-Cámara et al. 2020) :

- Faiblesse ou paralysie d'un ou plusieurs membres ou de la face, le plus souvent d'un côté du corps (hémiplégie), avec une possible perte de la sensibilité ou un engourdissement concomitant ;
- Altération ou perte de la vision d'un œil (cécité unilatérale) ou de la moitié du champ visuel de chaque œil (hémianopsie) ou vue double (diplopie) ;
- Difficultés d'élocution ou de compréhension : gêne pour articuler (dysarthrie), difficultés à trouver les mots, mots inintelligibles, difficultés à comprendre (aphasie) ;
- Troubles de l'équilibre ou de la coordination des membres, vertiges, difficultés de locomotion ;
- Mal de tête très brutal, intense et inhabituel.

Une caractéristique des AVC est la survenue soudaine des symptômes, avec une intensité d'emblée maximale ou s'accroissant sur quelques minutes ou quelques heures. L'ensemble des symptômes ainsi que leur intensité dépendra de la zone vascularisée atteinte.

Or, en plus des AVC bien visibles avec une présentation clinique connue, il est supposé qu'il y a environ deux fois plus d'AVC silencieux chaque année, se manifestant surtout dans la substance blanche et ne produisant pas de symptôme évident (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Enfin, même avec une prise en charge médicale excellente et rapide, la majorité des personnes victimes d'un AVC vont conserver un déficit moteur, sensoriel ou cognitif. En effet, en France, parmi les personnes ayant survécu à un AVC (environ 750 000), environ 60 à 75 % gardent des séquelles neurologiques plus ou moins importantes sous forme notamment de déficit moteur (hémiparésie à hémiplégie), de troubles du langage (aphasie), de troubles cognitifs, de troubles sensitifs (hémianesthésie, héminégligence) ou visuels (Daviet et al. 2022). Les handicaps fonctionnels observés sont le plus souvent moteurs : environ 50 % des personnes ont des difficultés à la marche, 40 % ont des troubles de la préhension, et près de 30 % conservent une hémiplégie sévère (Yelnik 2022). L'apparition de troubles du langage ou encore de troubles de la mémoire ou de l'apprentissage peut également s'observer, en fonction de l'hémisphère atteint et de la zone lésée. De plus, la dépression post-

AVC est relativement fréquente (30 %) chez les patients et leurs proches, et seulement un tiers des actifs peut reprendre une activité professionnelle (Daviet et al. 2022).

Ainsi, bien que le taux de survie reste élevé, les morbidités sont très souvent conséquentes, avec une grande majorité de répercussions motrices, sensorielles, sensibles et cognitives persistantes sur le long terme.

B. Facteurs de risque et prévention

Il existe de nombreux facteurs de risque pour l'AVC, et une meilleure compréhension ainsi qu'une meilleure gestion et une diminution de ces facteurs sont des points clés dans la prévention de cette pathologie.

De nombreuses études sur ces différents facteurs de risque existent. Il en ressort majoritairement que les 10 facteurs de risque suivant sont responsables de 90% des cas d'AVC, les 5 premiers étant responsables de 80% des cas à eux seuls (O'Donnell et al. 2010) : l'hypertension artérielle (HTA), le tabagisme, l'obésité abdominale, un régime alimentaire non équilibré, le manque d'activité physique, la consommation d'alcool, la fibrillation atriale, les facteurs psychosociaux (stress, dépression, isolement social...), le diabète et une concentration anormale en lipides dans le sang (cholestérol, triglycérides...). On compte également les autres troubles cardiovasculaires, les troubles de la coagulation, les dysfonctionnements rénaux, les antécédents d'AVC ainsi que le sexe (taux de mortalité plus élevé chez les femmes) comme étant également des facteurs de risque (Fan et al. 2023; Soto-Cámara et al. 2020). L'HTA est le facteur de risque le plus conséquent, avec environ 40% des cas d'AVC lui étant imputables. Le tabagisme est le second facteur de risque puisqu'il multiplie par 2 le risque d'AVC (O'Donnell et al. 2010). L'âge est souvent décrit comme un facteur de risque important de l'AVC, mais cela est surtout lié à l'augmentation de la prévalence de maladies concomitantes chez les personnes âgées.

Ainsi, les facteurs de risque majeurs de l'AVC sont facilement identifiables et une partie importante de la prévention repose notamment sur le contrôle de la pression artérielle, la diminution du tabagisme et de la consommation d'alcool, ainsi que la présence d'une activité physique et d'une alimentation saine (fruits, poisson, peu de sel). Ces simples mesures pourraient réduire considérablement le fardeau mondial des AVC (O'Donnell et al. 2010).

C. Etiologie

Un AVC est la conséquence d'une interruption de l'irrigation sanguine d'une zone cérébrale. Or, bien que l'on parle souvent des AVC comme étant une pathologie unique, il existe en réalité deux types d'AVC : l'AVC ischémique et l'AVC hémorragique (Kolb, Whishaw, Teskey 2019). L'AVC ischémique représente environ 70 à 80% des AVC et résulte le plus souvent de l'occlusion d'une artère cérébrale, tandis que dans 20 à 30% des cas, l'AVC est d'origine hémorragique et est consécutif à la rupture d'une artère cérébrale (Simats, Liesz 2022). L'étiologie de l'AVC influe à la fois sur le pronostic et sur la prise en charge.

1. L'AVC ischémique

L'AVC ischémique est le type d'AVC le plus prévalent. Il est dû à une occlusion transitoire ou permanente des vaisseaux cérébraux, suite à un événement thrombotique ou embolique, qui provoque une altération de la circulation sanguine dans une zone du cerveau (Hui et al. 2025). Cela induit un ensemble de mécanismes responsables de lésions nerveuses sévères (Qin et al. 2022).

Dans le cas d'un accident thrombotique, le flux sanguin vers le cerveau est obstrué à l'intérieur du vaisseau sanguin en raison de la présence d'un thrombus (caillot) généralement secondaire à une maladie athérosclérotique, une dissection artérielle, une dysplasie fibromusculaire ou des conditions inflammatoires. Lors d'une embolie, des débris provenant d'une autre partie de l'organisme bloquent le flux sanguin dans le vaisseau affecté. La source des embolies peut être proximale, mais également distale (Hui et al. 2025). L'embolie est l'étiologie la plus commune d'un AVC ischémique (Feske 2021).

De manière plus précise, parmi les cas d'AVC ischémique, la classification « Trial Org 10172 in Acute Stroke Treatment » (TOAST) est utilisée pour subdiviser les étiologies suivantes (Adams et al. 1993; Feske 2021; Hui et al. 2025) :

- Cardio-embolie : obstruction des artères cérébrales par une embolie d'origine cardiogénique, majoritairement dû à des caillots sanguins consécutifs à une maladie cardiaque de type fibrillation atriale, cardiopathie valvulaire, cardiomyopathie, endocardite, cardiopathie congénitale.
- Occlusion des petits vaisseaux sanguins : à l'origine de petits AVC profonds, dits lacunaires, autour des petites artères distales pénétrantes occluses.

Ces artères sont très vulnérables et sont souvent touchées. Les signes cliniques dépendront de la localisation de l'infarctus.

- Athérosclérose des grosses artères : rétrécissement important (> 50 %) ou obstruction complète d'une artère cérébrale majeure ou d'une branche de l'artère corticale, probablement due à l'athérosclérose. Cette dernière correspond à des remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre, consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires (athérome), le tout s'accompagnant de modifications de la média. Cela entraîne donc la formation d'un thrombus, le plus souvent dans les artères carotides internes, l'aorte, les artères vertébrales et basilaires, ou au niveau intracrânien.
- Etiologie indéterminée (défaut de diagnostic, plusieurs origines possibles).
- Autre étiologie déterminée (possible ou probable) : causes d'AVC peu communes, telles que des vasculopathies non athérosclérotiques, des états d'hypercoagulabilité ou des troubles hématologiques.

Beaucoup d'autres catégories de lésions et de mécanismes vasculaires et hématologiques pouvant être à l'origine d'un AVC ischémique existent, imbriquant parfois différentes catégories entre elles comme l'embolie d'artère à artère, ou encore d'autres maladies des gros vaisseaux comme la dissection artérielle (Feske 2021).

2. L'AVC hémorragique

L'AVC hémorragique, moins prévalent, est dû à une hémorragie cérébrale provoquée par la rupture d'un vaisseau sanguin. Bien que moins prévalent, il est associé à une morbidité grave et à une mortalité élevée. Il peut être subdivisé en hémorragie intracérébrale (dans le parenchyme cérébral) et en hémorragie sous-arachnoïdienne (dans l'espace sous-arachnoïdien) (Unnithan, Das, Mehta 2025).

Les causes les plus communes d'AVC hémorragique sont les suivantes :

- HTA (dégénérescence de la média, microanévrismes) : cause la plus commune, responsable d'une hémorragie intracrânienne non lolaire touchant principalement les petites artères pénétrantes (Kitagawa 2022).
- Angiopathie amyloïde cérébrale : cause importante d'hémorragie intracérébrale lolaire primaire chez les personnes âgées notamment. Elle se caractérise par le dépôt du peptide amyloïde- β dans les capillaires, les

artérioles et les artères de petite et moyenne tailles du cortex cérébral, des leptoméninges et du cervelet (Castello et al. 2022).

- Autres facteurs : facteurs communs à tous les types d'AVC précédemment décrits, causes d'hémorragie sous-arachnoïdienne spontanée (rupture d'anévrisme, malformation artérioveineuse, vascularite, dissection de l'artère cérébrale etc.) (Unnithan, Das, Mehta 2025).

Les sites les plus fréquents de l'hémorragie sont les noyaux de la base (50 %), les lobes cérébraux (10 à 20 %), le thalamus (15 %), le pont ou autre zone du tronc cérébral (10 à 20 %) et le cervelet (10 %). L'hématome perturbe les neurones et les cellules gliales. Il en résulte une oligémie (hypovascularisation pathologique), une libération de neurotransmetteurs, un dysfonctionnement mitochondrial et un gonflement cellulaire. La thrombine active la microglie et provoque une inflammation et un œdème (Unnithan, Das, Mehta 2025).

D. Principaux sites atteints par l'infarctus

1. L'infarctus de l'artère cérébrale moyenne

L'artère cérébrale moyenne est l'artère la plus souvent touchée par un AVC. Elle est divisée en quatre segments (M1, M2, M3 et M4) et alimente une grande partie de la surface latérale du cerveau, une partie des noyaux de la base ainsi que la capsule interne. La vascularisation de cette artère englobe le cortex cérébral latéral, dont l'homonculus contient les fonctions motrices et sensorielles qui impliquent le visage et les extrémités supérieures. Un infarctus de l'artère cérébrale moyenne se manifeste donc classiquement par une hémiparésie controlatérale, une paralysie faciale et une perte sensorielle au niveau du visage et des extrémités supérieures (le plus communément, bien que les membres inférieurs puissent également être touchés selon la profondeur de l'atteinte). On pourra aussi retrouver une dysarthrie (trouble de l'élocution), une aphasie (lésion aires du langage), une négligence (préférence du regard vers le côté lésé) ou une perte totale du champ visuel (radiations optiques atteintes) (Hui et al. 2025).

2. Les autres infarctus

Les autres artères ou régions possiblement ciblées par un infarctus en cas d'AVC sont moins souvent atteintes. Il peut s'agir des éléments suivants (Hui et al. 2025) :

- L'artère cérébrale antérieure : alimente en sang les zones médianes des cortex frontal, préfrontal, moteur primaire, sensoriel primaire et moteur supplémentaire. Les infarctus de l'ACA sont rares en raison de la bonne irrigation sanguine collatérale. La présentation clinique d'un infarctus de l'ACA comprend des déficits sensoriels et moteurs du membre inférieur controlatéral.
- L'artère cérébrale postérieure : la superficielle alimente le lobe occipital (cortex visuel) et la partie médiane du lobe temporal et la profonde alimente le thalamus et d'autres structures profondes postérieures du cerveau. Les symptômes peuvent inclure l'hypersomnolence, des déficits cognitifs, des troubles oculaires, l'hypoesthésie, l'ataxie, une perte hémisensorielle et une hémiparésie (atteinte profonde du thalamus et de la capsule interne adjacente), ou des troubles visuels en cas d'atteinte superficielle.
- Les artères vertébrales et l'artère basilaire (région vertébrobasilaire) : les bifurcations de ces artères alimentent le cervelet et le tronc cérébral. La présentation clinique comprend une ataxie, des vertiges, des céphalées, des vomissements, un dysfonctionnement oropharyngé, des déficits du champ visuel et des anomalies oculomotrices.
- L'artère cérébelleuse : irrigant le cervelet, son atteinte peut entraîner ataxie, nausées, vomissements, céphalées, dysarthrie et vertiges.
- Les petites artères pénétrantes (infarctus lacunaire) : perte motrice ou sensorielle pure, déficit sensorimoteur ou hémiparésie ataxique.

E. Physiopathologie de l'AVC ischémique

Dans cette partie, la physiopathologie de l'AVC ischémique va être détaillée, ce type d'AVC étant le plus fréquemment rencontré. La physiopathologie précise de l'AVC hémorragique ne sera pas abordée ici, mais certains mécanismes restent similaires du fait de l'oligémie mise en place.

La lésion primaire de l'AVC ischémique est l'infarctus cérébral (Feske 2021). L'occlusion d'un vaisseau sanguin cérébral provoque une diminution variable du flux sanguin dans le parenchyme en aval, et les zones dont la vascularisation dépend en grande partie du vaisseau lésé vont subir des conséquences importantes. En effet, en cas d'apport insuffisant de sang au tissu cérébral concerné, il y a d'abord une perte réversible de la fonction tissulaire, et, avec le temps, un infarctus se développe, avec

perte des neurones et des structures de soutien (Feske 2021). Les différents mécanismes impliqués vont maintenant être détaillés.

1. Les conséquences globales de l'ischémie

L'interruption du flux sanguin cérébral ou ischémie déclenche une cascade d'événements qui commence par un déficit en oxygène et en glucose de la zone lésée, ce qui entraîne une perturbation de la synthèse de l'ATP et un déficit énergétique, ainsi qu'une altération de l'homéostasie ionique (perturbation de la fonction membranaire et afflux de calcium) et un déséquilibre acido-basique (Qin et al. 2022). Tous ces dysfonctionnements entraînent des changements neuropathologiques cérébraux, tels que l'œdème cérébral, la neuro-inflammation, la mort des cellules neurales et la nécrose du tissu cérébral affecté (infarctus), qui sont à l'origine de déficits neurologiques sévères (Xiong, Liu, Yang 2018). Cette lésion cérébrale ischémique entraîne la libération de molécules immuno-actives (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMPs) qui activent localement les cellules immunocompétentes (microglie et astrocytes), et peuvent aussi favoriser le recrutement de cellules immunitaires circulantes dans le cerveau (en cas de libération dans la circulation sanguine). Cela active ainsi une réponse immunitaire périphérique complexe, rendue possible par la perméabilisation de la barrière hémato-encéphalique (Simats, Liesz 2022). Tous ces mécanismes et leur chronologie sont présentés dans la **Figure 8**.

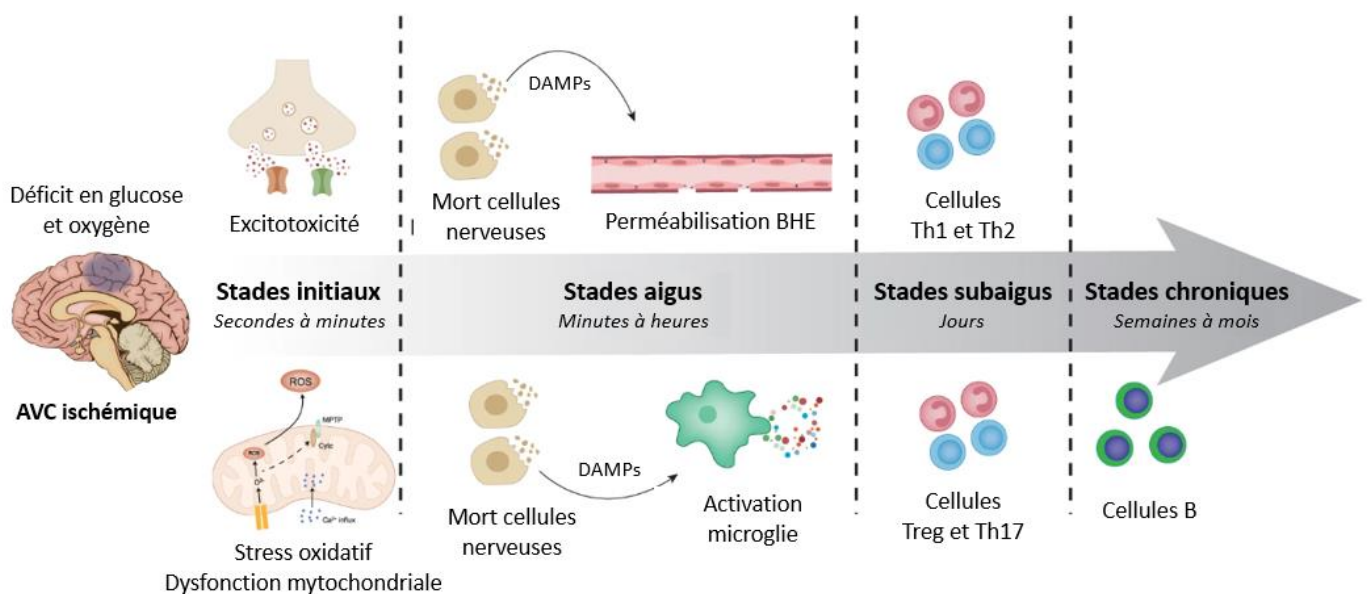


Figure 8. Schéma illustrant l'évolution chronologique des mécanismes de l'AVC ischémique. La chronologie simplifiée des différentes phases est présentée dans ce schéma. DAMPs : Damage-associated molecular patterns ; BHE : barrière hémato-encéphalique. Schéma adapté de (Qin et al., 2022).

La chronologie de ces différentes phases et en particulier l'évolution du tissu cérébral vers l'infarctus irréversible dépend de l'ampleur et de la durée de la diminution du débit sanguin cérébral. En effet, avec une chute du débit sanguin cérébral d'environ 50 %, les patients restent asymptomatiques dans la plupart des cas, mais si la chute est plus importante, un dysfonctionnement neuronal se produit, conduisant à des symptômes ischémiques, typiquement des déficits fonctionnels correspondant à la localisation de l'ischémie (Feske 2021).

Au niveau de la lésion ischémique, trois zones principales peuvent être décrites (**Figure 9**) : (1) le noyau ou coeur ischémique, irréversiblement endommagé ; (2) la pénombre ischémique, définie comme le tissu cérébral gravement hypoperfusé, électriquement silencieux et à risque ; et (3) l'oligémie, la zone périphérique légèrement hypoperfusée avec une fonction neuronale préservée (Astrup, Siesjö, Symon 1981; Chalet et al. 2022). Au fil du temps, le cœur ischémique progresse dans la pénombre ischémique, mais cette zone peut être sauvée si la perfusion est rétablie.

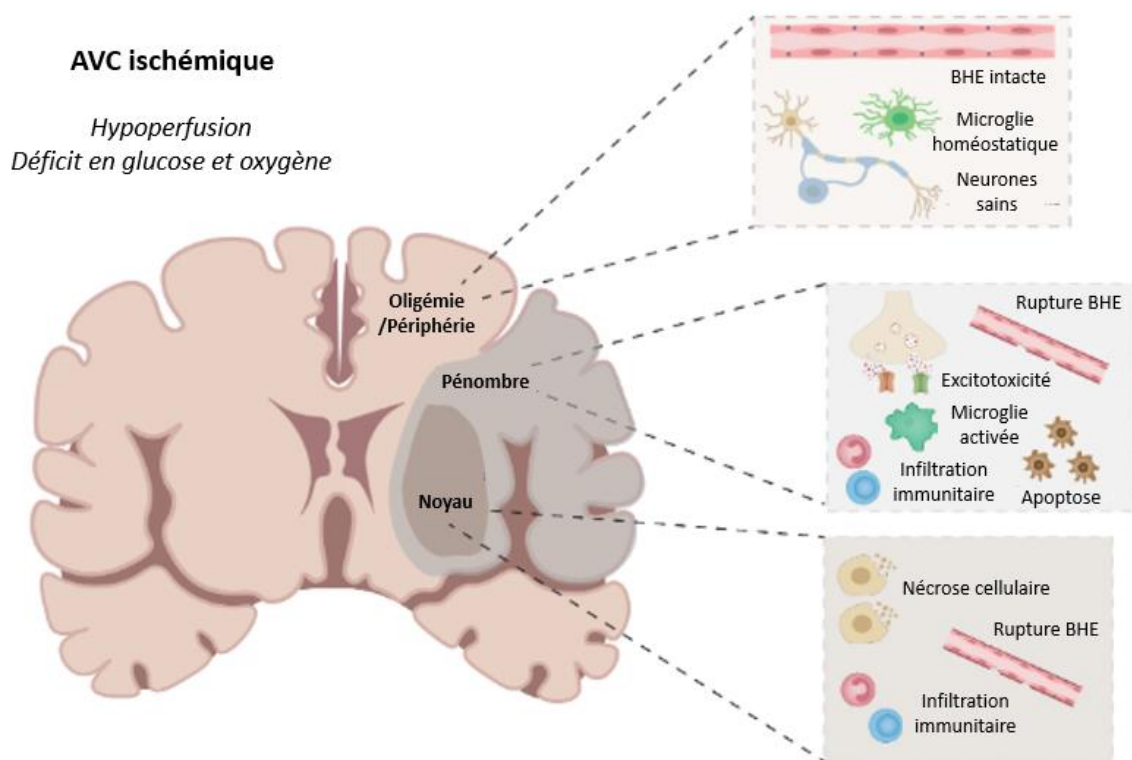


Figure 9. Schéma illustrant la localisation spatiale et les caractéristiques des 3 zones de l'espace lésionnel après un AVC ischémique. Les trois zones lésionnelles (cœur/noyau, pénombre et périphérie) sont représentées sur ce schéma, ainsi que leur composition cellulaire. BHE : barrière hémato-encéphalique. Schéma adapté de (Qin et al., 2022).

Les cellules du SNC subissent des altérations morphologiques différentes face aux dommages ischémiques, notamment en fonction de leur localisation. Dans le cœur ischémique, les corps cellulaires et les axones des neurones disparaissent, et un élargissement du cytoplasme ainsi que la disparition du nucléole sont souvent

observés dans les neurones ainsi que dans les cellules gliales (Qin et al. 2022). Dans la pénombre, les neurones, appelés « neurones ischémiques » et relativement viables, subissent généralement plusieurs changements tels que la désintégration des ribosomes endoplasmiques et des corps de Nissl (Barthels, Das 2020). La microglie prend quant à elle un « état activé » et produit des substances pro-inflammatoires (cytokines, chémokines, espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS)) (Yenari, Kauppinen, Swanson 2010), tandis que les astrocytes subissent généralement des modifications progressives des profils d'expression moléculaire et des morphologies (Koyama 2014).

Après une ischémie, la perméabilité accrue de la barrière hémato-encéphalique (BHE) contribue à l'infiltration de plusieurs cellules immunitaires dans les lésions induites, notamment des lymphocytes, des monocytes et des macrophages, qui libèrent une variété de facteurs neurotoxiques ou neurotrophiques pour exercer des effets neuroprotecteurs ou néfastes sur les tissus cérébraux ischémiques (Grønberg et al. 2013; Jin et al. 2013; Lakhan et al. 2013).

L'ensemble des mécanismes impliqués dans la physiopathologie de l'AVC ischémique présentés dans ce paragraphe vont maintenant être détaillés par catégorie et par chronologie.

2. Déficit énergétique, excitotoxicité et stress oxydatif

Dans les stades initiaux de l'AVC ischémique, le flux sanguin cérébral est considérablement réduit, ce qui diminue fortement l'apport en glucose et en oxygène aux neurones, essentiels à leur bon fonctionnement.

Les mécanismes de la respiration cellulaire se retrouvent alors altérés, et la perturbation énergétique entraîne un dysfonctionnement mitochondrial et une production accrue de ROS (radicaux libres : anion superoxyde, radical hydroxyle, oxyde nitrique), majoritairement par oxydation phosphorylative mitochondriale (Andrabi, Parvez, Tabassum 2020). Les cellules atteintes rentrent alors dans un stress oxydatif par dépassement de leurs capacités anti-oxydantes, à l'origine de lésions variées : oxydation des chaînes latérales des acides aminés, de la chaîne polypeptidique, formation de protéines carbonylées, attaque des acides gras polyinsaturés, de l'ADN mitochondrial etc. (Andrabi, Parvez, Tabassum 2020; Migdal, Serres 2011). Les lésions sont conséquentes et touchent les protéines, les lipides et l'ADN.

Parallèlement, le déficit énergétique contribue également à un déséquilibre ionique qui affecte les niveaux de Na^+ , K^+ et Ca^{2+} par dysfonction mitochondriale, entraînant une dépolarisation cellulaire et la libération extracellulaire de neurotransmetteurs excitateurs en quantité importante, notamment le glutamate. Ce dernier active alors les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) des neurones post-synaptiques, induisant alors une toxicité neuronale importante. On parle alors d'excitotoxicité. Une fois les récepteurs NMDA activés, un flux entrant massif de Na^+ et de Ca^{2+} initie la mort cellulaire par plusieurs mécanismes (fabrication de ROS, lésions mitochondriales, perturbation de l'équilibre ionique, stimulation enzymatique, activation des calpaïnes, etc.) résultant en nécrose ou en apoptose, qui entraînent de graves lésions du SNC (Wu, Tymianski 2018).

Ainsi, globalement, en situation d'ischémie, les dommages oxydatifs et les niveaux excessifs de Ca^{2+} contribuent à la perméabilisation de la membrane mitochondriale, ce qui favorise notamment la libération de DAMPs mitochondriaux, ainsi que l'activation de réponses inflammatoires en aval. Tous ces facteurs conduisent à des processus neurotoxiques et de mort cellulaire, dans lesquels de nombreuses voies de signalisation sont impliquées (Qin et al. 2022).

3. Mort cellulaire

Les dommages causés par l'excitotoxicité, le stress oxydatif et les dysfonctionnements mitochondriaux dans l'AVC ischémique peuvent induire une variété de cascades de signalisation cellulaire, qui mènent à la mort des cellules neuronales, pouvant être programmée ou non (Qin et al. 2022). La mort cellulaire programmée comprend l'autophagie et l'apoptose, qui sont des fonctions cellulaires physiologiques (Clarke 1990) ; tandis que la mort cellulaire non programmée implique quant à elle la nécrose, et est probablement causée par des stimuli externes (Majno, Joris 1995). Il est admis que le manque d'oxygène et de glucose dans le cœur ischémique entraîne souvent une mort cellulaire par nécrose, irréversible, tandis que des dommages relativement mineurs dans la pénombre sont communément responsables de processus réversibles de mort cellulaire, tels que l'apoptose (principalement) et l'autophagie (Lipton 1999). Diverses voies de signalisation sont fortement impliquées dans ces processus de mort cellulaire, jouant un rôle inhibiteur ou activateur.

4. Rôle des collatérales

Dans les premières phases de l'AVC ischémique, de nombreux mécanismes se mettent en place pour limiter l'extension des lésions ischémiques, les effets négatifs de l'inflammation et donc l'atteinte neuronale. Un élément essentiel à considérer est la vascularisation de la zone touchée. En effet, il a été montré récemment que la zone d'hypoperfusion du tissu cérébral (pénombre et cœur ischémique) est moins étendue si la collatéralisation est bonne. En effet, l'apport artériel par les collatérales participe au maintien de la viabilité du tissu cérébral et maintient une perfusion cérébrale suffisante pour limiter les conséquences cliniques de l'AVC, avec un meilleur pronostic clinique à 3 mois post-AVC (Messe 2024).

Ainsi, dès les phases précoces de l'AVC ischémique (premières minutes et heures), la vascularisation collatérale va jouer un rôle essentiel pour maintenir un semblant de perfusion dans les zones ischémiques, et donc limiter les phénomènes de mort neuronale et de nécrose tissulaire. Néanmoins, la vascularisation collatérale est très dépendante de l'artère cérébrale touchée : l'irrigation collatérale est notamment importante pour l'ACA, mais moins développée pour les autres artères cérébrales et notamment pour l'ACM, fréquemment touchée (Hui et al. 2025). Ainsi, bien qu'essentielle dans les stades précoces de l'AVC ischémique, la vascularisation collatérale ne permet souvent pas de limiter l'ensemble des processus ischémiques à suivre.

5. Disruption de la barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est une interface dynamique entre la circulation périphérique et le SNC. Elle contrôle l'afflux et l'efflux de substances biologiques nécessaires aux processus métaboliques du cerveau, ainsi qu'au fonctionnement des neurones. L'intégrité fonctionnelle et structurelle de la BHE est donc essentielle au maintien de l'homéostasie cérébrale (Cucullo et al. 2011). Le substrat anatomique de la BHE est l'endothélium microvasculaire cérébral qui, avec les astrocytes, les péricytes, les neurones et la matrice extra-cellulaire qui lui sont étroitement associés, constitue une « unité neurovasculaire » essentielle à la santé et au fonctionnement du SNC, les interactions cellule-cellule en son sein étant à la base de son bon fonctionnement (Hawkins, Davis 2005). La première ouverture de la BHE, due à une transcytose accrue, se produit dans les heures qui suivent l'ischémie

cérébrale. La seconde ouverture se produit 24 à 48 heures plus tard et est imputable notamment aux matrixines (Iadecola, Buckwalter, Anrather 2020).

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) ou matrixines, constituent une famille d'enzymes qui clivent les substrats protéiques selon un mécanisme conservé impliquant l'activation d'une molécule d'eau liée au site par un ion Zn^{2+} . Leur activité est régulée par un groupe de protéines endogènes appelées inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases. Le cerveau lésé possède différents types de cellules qui peuvent exprimer les MMPs, y compris les cellules inflammatoires résidentes et infiltrantes. En cas d'AVC systémique, la lésion des cellules endothéliales vasculaires peut entraîner la libération de cytokines pro-inflammatoires et de radicaux libres au niveau de l'unité neurovasculaire, activant ainsi les matrixines. Leur activation conduit ensuite à la dégradation de la matrice extracellulaire et à la rupture de la BHE par dégradation des jonctions serrées et des protéines de la lame basale. Cela entraîne donc une fuite de la BHE, une infiltration de leucocytes, un œdème cérébral et une hémorragie (Lakhan et al. 2013).

6. Inflammation

Inflammation et immunité systémique.

Dans la phase initiale, l'interruption soudaine du flux sanguin à l'origine de l'AVC entraîne des altérations endothéliales (rupture de la BHE), le piégeage local des cellules sanguines, l'adhésion des plaquettes et des leucocytes et l'activation de la cascade de la coagulation. La thrombine induit l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales, mais va aussi attirer les leucocytes, perturber la fonction de la barrière endothéliale et activer le système du complément (C3 et C5) (Iadecola, Buckwalter, Anrather 2020).

Dans la phase aiguë, dans les minutes suivant le début de l'AVC, une réponse immunitaire importante est mise en place : la microglie locale est une des premières à être activée, suivi par un afflux de macrophages puis de neutrophiles et de lymphocytes dans le parenchyme cérébral (Bruce C. V. Campbell et al. 2019). En effet, les cellules neuronales mourantes ou en situation de stress oxydatif ainsi que les cellules immunitaires déjà activées dans la zone ischémisée vont libérer des molécules immunoactives, les DAMPs. Les DAMPs circulants vont permettre l'activation des cellules immunocompétentes locales (microglie et astrocytes) qui vont à leur tour libérer des DAMPs et vont entraîner la libération massive de cytokines pro-

inflammatoires dans le sang (rupture de la BHE) dans les premières heures suivant l'AVC, permettant le recrutement de cellules immunitaires périphériques (monocytes, lymphocytes, granulocytes) (Simats, Liesz 2022), et participant donc à l'activation d'une réponse immunitaire systémique complexe (Iadecola, Buckwalter, Anrather 2020). Les DAMPs circulants en post-AVC englobent un grand nombre de molécules : des protéines chaperonnes (High-Mobility Group Box 1, HMGB1 ; protéines de choc thermique, Hsp), la calprotectine (appartenance à la famille des protéines S100), des peroxiredoxines (Prx), etc. (Simats, Liesz 2022). Ces DAMPs circulants vont alors activer l'immunité systémique par le biais des récepteurs de reconnaissance de formes, mobilisant les cellules immunitaires innées (neutrophiles, monocytes, cellules dendritiques, lymphocytes T) des organes lymphoïdes et de l'intestin.

La phase aiguë est donc une phase d'activation inflammatoire consécutive, avec recrutement d'un grand nombre de cellules inflammatoires locales et systémiques sur le site lésionnel, participant au nettoyage des débris cellulaires mais contribuant également aux lésions ischémiques par divers processus.

Dans la phase subaiguë, quelques heures ou quelques jours après le début de l'AVC, un état d'immunosuppression est déclenché. L'hyperactivation prolongée des voies neurogènes, des DAMPs, ainsi que d'autres médiateurs pro-inflammatoires libérés de manière aiguë après l'AVC induisent progressivement une lymphopénie due à une mort cellulaire massive et à un biais prononcé en faveur de la voie de différenciation des monocytes dans l'hématopoïèse de la moelle osseuse. Il existe également un déséquilibre entre les cellules T auxiliaires de type 1 (Th1) et de type 2 (Th2) et les monocytes circulants sont moins capables de fournir des signaux de co-stimulation (Simats, Liesz 2022).

Plus tard, la phase chronique, compromettant l'immunité périphérique, est caractérisée par des niveaux élevés et soutenus de DAMPs et de cytokines pro-inflammatoires circulants (Simats, Liesz 2022).

La **Figure 10** illustre les différents processus inflammatoires faisant intervenir l'immunité systémique qui viennent d'être présentés.

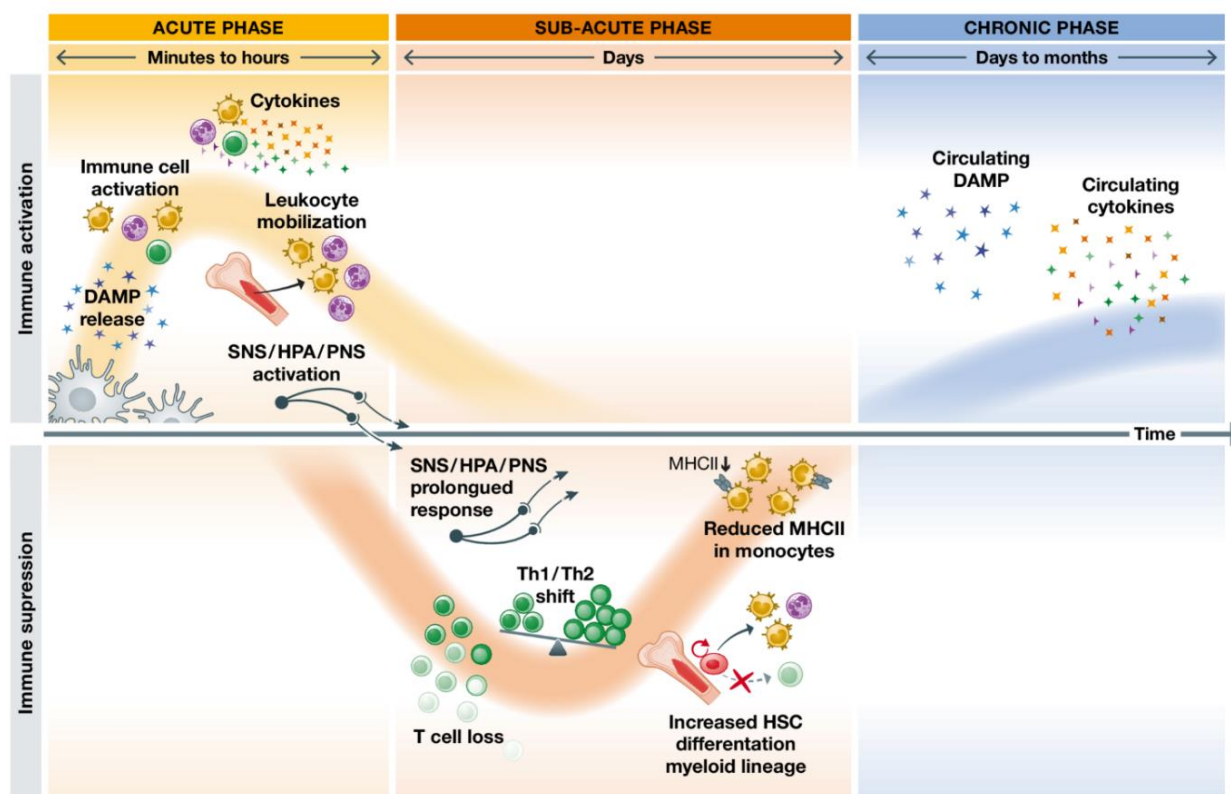


Figure 10. Représentation schématique des principales caractéristiques de l'inflammation systémique post-AVC au fil du temps. DAMP : Damage-Associated Molecular Patterns ; SNS : Sympathetic Nervous System ; HPA : Hypothalamic Pituitary Adrenal ; PNS : Parasympathetic Nervous System ; MHCII : Class II Major Histocompatibility Complexes. Schéma issu de (Simats, Liesz 2022).

Inflammation et immunité locale.

En ce qui concerne l'immunité locale, après l'ischémie, l'activation microgliale se produit avant l'apparition de la mort cellulaire neuronale (Rupalla et al. 1998). On observe tout d'abord une arborisation accrue de la microglie et un comportement exploratoire, puis une désarborisation et une transformation amiboïde (phénotype activé M1) dans les heures qui suivent le début de l'AVC (Morrison, Filosa 2013). La microglie participe à la phagocytose et à l'inflammation au cours des premiers jours post-ischémie, avant l'infiltration cérébrale des macrophages systémiques, et sécrète de nombreux facteurs pro-inflammatoires. Par la suite, en phase subaiguë à chronique, les cellules microgliales participent à la limitation de l'inflammation en fournissant le facteur neurotrophique IGF-1, en phagocytant les cellules mortes et les neutrophiles et en supprimant l'activation des astrocytes (Iadecola, Buckwalter, Anrather 2020). Puis, à mesure que la chronicité s'installe, l'épuisement de la microglie aggrave l'issue de l'AVC (Jin et al. 2017).

Les astrocytes, quant à eux, participent à la réponse immunitaire aiguë post-ischémie en régulant à la hausse les gènes pro-inflammatoires et en favorisant le

recrutement des neutrophiles par le biais de cytokines et de chémokines (Zamanian et al. 2012). Ils sont activés en astrocytes réactifs (A1) après une ischémie cérébrale, et ce processus implique l'activation ou la modification d'une série de récepteurs de surface cellulaire, de canaux ioniques et de transporteurs d'ions, de GTPases, de voies de signalisation, etc. En phase subaiguë à chronique, les astrocytes réactifs prolifèrent, migrent de manière excessive et entourent le tissu ischémique en sécrétant de grandes quantités de protéoglycanes de sulfate de chondroïtine pour former un tissu cicatriciel glial fibreux et très dense. On parle communément de cicatrice gliale, agissant comme barrière physique. Elle a été mise en évidence autant dans les modèles animaux d'ischémie cérébrale que chez les humains (Burda, Sofroniew 2014). Au départ, les astrocytes composant majoritairement cette cicatrice gliale libèrent un grand nombre de facteurs neurotoxiques, ce qui mène à l'aggravation de l'AVC ischémique (Chen et al. 2025). Néanmoins, cette barrière permet également de limiter l'expansion de l'infarctus et à terme, ces astrocytes libèrent des facteurs neuroprotecteurs, antioxydants et anti-radicaux libres, empêchant ainsi l'extension des lésions cérébrales. Or, la barrière physique formée par la cicatrice gliale tend à limiter le transit de molécules et la croissance axonale en phase chronique (Chen et al. 2025).

Le rôle d'autres cellules immunitaires résidant dans le cerveau, notamment les macrophages méningés et péri-vasculaires, est moins bien compris. L'épuisement des macrophages cérébraux avant l'AVC diminuerait la rupture de la BHE dans les vaisseaux méningés et améliorerait modestement les déficits fonctionnels sans affecter le volume de l'infarctus. En effet, les mastocytes méningés contiennent des granules contenant des agents vasoactifs et des protéases et sont impliqués dans la rupture de la BHE et l'extravasation des neutrophiles. La mort neuronale aurait également un impact direct sur les autres populations cellulaires, notamment microgliales (Iadecola, Buckwalter, Anrather 2020).

Ensemble des mécanismes inflammatoires – Immunités locale et systémique.

En résumé, après un AVC ischémique, la rupture de la BHE est associée à une destruction et à une mort neuronale, ainsi qu'à une gliose consécutive à l'hypoxie. La gliose comprend l'activation des astrocytes (astrogliose) et de la microglie, avec un passage du phénotype anti-inflammatoire et neuroprotecteur (M2, A2) au phénotype pro-inflammatoire et neurotoxique (M1, A1) (Colonna, Butovsky 2017; Fan, Huo 2021). De nombreuses molécules pro-inflammatoires sont alors libérées (interleukines,

chemokines, matrixines, DAMPs, etc.). La rupture de la BHE entraîne l'infiltration de cellules immunitaires systémiques qui libèrent également des médiateurs pro-inflammatoires, provoquant des effets neurotoxiques secondaires (Cirillo et al. 2020). Ainsi, dès le premier jour de l'AVC, la zone ischémique est envahie par les cellules de l'immunité locale et périphérique qui vont participer à l'élimination des débris cellulaires et réguler à la hausse les processus inflammatoires (Sims, Yew 2017).

En phase subaiguë à chronique, les astrocytes et la microglie activés, ainsi que les fibroblastes et les péricytes migrant des méninges et des vaisseaux sanguins, forment une barrière physique appelée « cicatrice gliale » qui va contenir l'inflammation, tout en limitant la propagation des phénomènes de nécrose (Sims, Yew 2017). Les cellules Treg vont alors contrecarrer les effets cytotoxiques des cellules T CD4+, initiant ainsi la phase de protection. Cette phase est également caractérisée par le passage de la microglie et des astrocytes à un phénotype non inflammatoire (M2, A2) et par la libération par les cellules gliales d'autres molécules favorisant la neuroprotection (TGF- β , interleukines, EPO, etc.) (Cirillo et al. 2020). La **Figure 11** résume l'ensemble des processus de neuro-inflammation se mettant en place après un AVC ischémique et faisant intervenir aussi bien l'immunité locale que systémique.

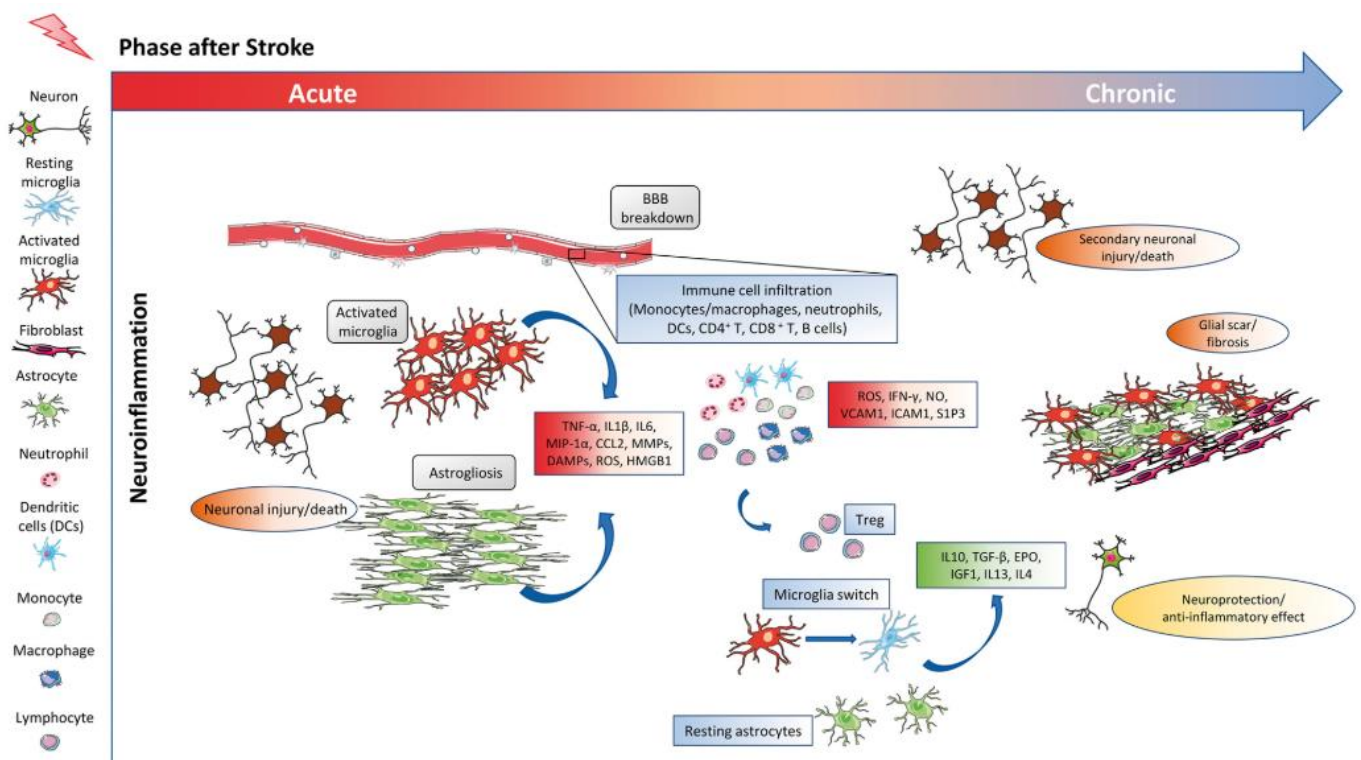


Figure 11. Représentation schématique des mécanismes de la neuro-inflammation post-AVC. BBB = BHE : barrière hémato-encéphalique ; TNF- α : tumor necrosis factor alpha ; IL1 β : interleukine-1beta ; IL6 : interleukine-6 ; CCL2 : C-C motif chemokine ligand 2 ; MIP-1 α : macrophage inflammatory protein-1 alpha ; MMPs : matrix metalloproteinases ; DAMPs : damage-associated molecular patterns ; DCs : dendritic cells = cellules dendritiques ; ROS : reactive oxygen species = espèces réactives de l'oxygène ; HMGB1 : high mobility group box 1 ; IFN- γ : interferon gamma ; NO : Nitric oxide ; VCAM1 : vascular cell adhesion molecule 1 ; ICAM1 : intercellular adhesion molecule 1 ; S1P3 : sphingosine 1-phosphate receptor subtype 3 ; TGF- β : transforming growth factor-beta ; IL10 : interleukine-10 ; EPO : érythropoïétine ; IGF1 : insulin-like growth factor-1 ; IL13 : interleukine-13 ; IL4 : interleukine-4. Schéma issu de (Cirillo et al., 2020).

F. Mécanismes de réparation cellulaire et tissulaire post-AVC

1. Physiologie des neurogenèse et gliogenèse adultes dans le SNC

Avant d'aborder les mécanismes de réparation cellulaire, de reconstruction tissulaire et de neurogenèse post-AVC, il est important d'appréhender globalement les points essentiels de la neurogenèse physiologique. La neurogenèse adulte est le processus de fabrication de nouveaux neurones à partir de cellules souches neurales multipotentes (Kempermann 2022). Ces cellules sont capables de s'auto-renouveler et de se différencier en 3 types cellulaires majeurs du SNC - neurones, astrocytes et oligodendrocytes - en présence de mitogènes (**Figure 12**). La neurogenèse dans le cerveau adulte a une fonction adaptative car les neurones nouvellement produits peuvent s'intégrer dans les circuits neuronaux existants et les modifier. D'autres régions du cerveau ont une capacité plus faible à créer de nouveaux neurones, et cela se produit généralement par la genèse de cellules parenchymateuses, en particulier corticale, et péri-ventriculaires (Rusznák et al. 2016).

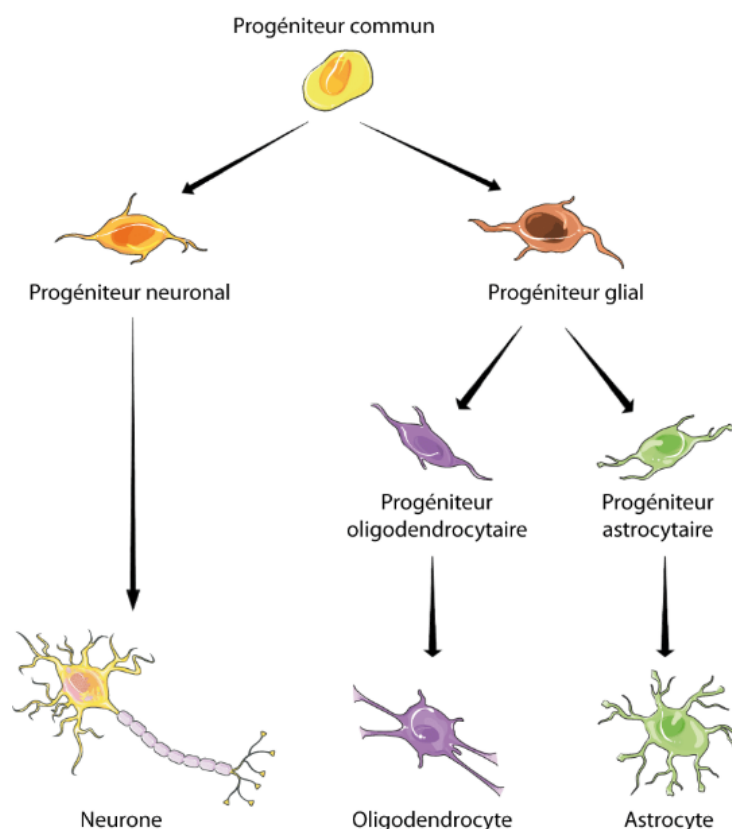


Figure 12. Représentation schématique simplifiée de la neurogenèse et de la gliogenèse à partir d'une cellule souche neurale multipotente ou progéniteur commun. Schéma issu de (Balzeau 2013).

Par rapport à la neurogenèse, la gliogenèse est plus fréquente dans le cerveau des mammifères adultes, et une interaction peut se produire entre les deux. La

neurogenèse modifie la connectivité neuronale dans des zones spécifiques du cerveau, tandis que la gliogenèse assure la myélinisation et produit de nouvelles cellules de soutien en générant des oligodendrocytes et des astrocytes (Rusznák et al. 2016). La neurogenèse et la gliogenèse produisent des neurones et des cellules gliales qui peuvent s'intégrer dans certaines régions du cerveau mature (Peretto, Bonfanti 2015).

La zone sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe ainsi que la zone sous-ventriculaire sont les deux sites majoritaires de neurogenèse adulte (Abrous, Koehl, Le Moal 2005). Ces zones sont des vestiges de développement des régions germinales du cerveau et conservent donc la capacité à générer des cellules progénitrices neuronales à l'âge adulte. En effet, l'ontogenèse unique de ces deux zones leur permet de préserver leur capacité à générer des cellules proliférantes dans le cerveau pendant toute la durée de vie des mammifères. Elles sont donc capables de neurogenèse et de gliogenèse, en particulier après une lésion ou une certaine stimulation. Chez l'adulte, les sites neurogéniques primaires produisent principalement des neurones ainsi que quelques astrocytes et oligodendrocytes (Rusznák et al. 2016). Dans le cerveau humain, environ 700 néo-neurones sont générés par l'hippocampe chaque jour (Spalding et al. 2013). Dans le cerveau des rongeurs adultes, les cellules progénitrices neuronales générées dans la zone sous-ventriculaire traversent le flux migratoire rostral et s'installent dans le bulbe olfactif, où elles se différencient en interneurones locaux, en cellules granuleuses et en cellules périglomérulaires. De la gliogenèse est également observée dans cette zone (Alvarez-Buylla, García-Verdugo 2002; Sakamoto, Kageyama, Imayoshi 2014). La production continue de nouveaux neurones dans la zone sous-ventriculaire adulte suggère que les cellules souches neurales persistent dans cette couche germinale, constituant un pool de cellules disponibles à tout moment (Alvarez-Buylla, García-Verdugo 2002).

Outre les sites neurogéniques primaires, le parenchyme est également capable de produire de nouvelles cellules (Bonfanti, Peretto 2011). En effet, dans la plupart des régions du SNC, les progéniteurs parenchymateux maintiennent un rythme lent de gliogenèse constitutionnelle, qui est important pour le renouvellement des oligodendrocytes et, dans une moindre mesure, des astrocytes (Rusznák et al. 2016). De plus, de l'astrogénèse adulte a été rapportée dans le cortex de la souris et est principalement due à la division locale des astrocytes matures, étant capable de subir des mitoses et de faire preuve de multipotence, contrairement aux neurones matures

(Ge et al. 2012). De nouveaux neurones sont également produits dans le parenchyme, même s'ils ne sont pas nombreux, et que leur intégration fonctionnelle peut-être restreinte. En effet, chez les mammifères non humains, la neurogenèse des cellules parenchymateuses a été identifiée comme un mécanisme potentiel de production de progéniteurs neuronaux (Bonfanti 2013). Par ailleurs, outre les sites préalablement cités, la zone ventriculaire abrite les précurseurs neuraux initiaux, non engagés. Les cellules épendymaires sont aussi capables de jouer le rôle de cellules souches neurales dans le cerveau adulte. Enfin, d'autres zones cérébrales sont suspectées capables de produire des cellules souches neurales, comme la substance noire ou l'hypothalamus (Rusznák et al. 2016).

De nombreuses interactions existent entre la gliogenèse et la neurogenèse. En effet, il a été montré que les astrocytes du cortex cérébral de souris peuvent être reprogrammés directement vers une neurogenèse via l'intervention de progéniteurs réactivateurs. Ils peuvent alors se différencier en neurones uniquement par division cellulaire, ou en neuroblastes. D'autres mécanismes existent également en ce sens, mais ils ne sont pas encore tous bien compris (Heins et al. 2002; Rusznák et al. 2016).

Les mécanismes de la neurogenèse sont complexes et font intervenir de nombreux facteurs (facteurs de croissance, de migration, de différenciation, etc.). De manière succincte, une cellule souche neurale multipotente se différencie en neuroblaste (cellule progénitrice des neurones). Le corps cellulaire de ce dernier migre vers la zone d'accueil prédéterminée (via les vaisseaux et les cellules gliales), son axone se prolonge vers sa structure cible, puis les dendrites et la synaptogenèse se forment. Un neurone immature est alors créé. Enfin, le processus de maturation a lieu avec renforcement des synapses « utiles » et élagage du reste, puis la plasticité neuronale est acquise, menant à l'obtention d'un neurone entièrement mature (Zhao, Deng, Gage 2008).

2. Processus de réparation neuronale post-AVC

En dehors de la nécrose et de la mort des cellules neuronales, un certain nombre de lésions neuronales peuvent être rencontrées après un AVC ischémique. Ces lésions touchent les différentes parties des neurones (axones, dendrites, synapses...). Néanmoins, les lésions qui affectent les régions riches en corps cellulaires n'auront pas les mêmes conséquences que celles touchant des faisceaux de fibres, qui affectent à la fois les neurones et les cellules constituant la myéline (Kolb,

Whishaw, Teskey 2019). De nombreux mécanismes inhérents à la plasticité cérébrale vont alors intervenir pour réparer les zones lésées.

Pour survivre, un axone blessé doit rapidement réparer sa membrane. Pour cela, des réarrangements du cytosquelette local se produisent souvent dans l'extrémité axonale et peuvent former un cône de croissance. Cependant, pour obtenir une régénération axonale substantielle, le corps cellulaire doit réactiver un programme de croissance axonale (via des facteurs de croissance ou de transcription comme TGF- β ou KLF7) qui assurera la synthèse des matériaux nécessaires, le transport et l'assemblage des différents composants le long de l'axone et à la terminaison nerveuse. Ce bourgeonnement axonal et dendritique a été observé dans des modèles animaux notamment au niveau cortical dans l'hémisphère ipsi- et contro-lésionnel, mais aussi dans les régions sous-corticales contralésionnelles, dans le tronc cérébral, et dans la moelle épinière (Cirillo et al. 2020). Les projections axonales sont également réorientées après un AVC pour s'appuyer sur d'autres voies de transmission que celles lésées (Hermann, Chopp 2012). Ces remodellements des voies fonctionnelles seront présentés ultérieurement.

3. Neurogenèse post-AVC

Le remaniement neuronal post-AVC est principalement dû aux neurones résiduels ayant survécu à la phase d'ischémie-reperfusion et aux néo-neurones issus de la neurogenèse. Après un AVC ischémique, une augmentation prononcée de la neurogenèse a en effet été observée dans les modèles animaux et chez l'homme dans les zones lésées, peu propices à la neurogenèse en temps normal, notamment au niveau du cortex cérébral (Lindvall, Kokaia 2015). Cette augmentation est associée à une neurogenèse accrue dans les niches primaires (Cuartero et al. 2021). En effet, de nombreuses études montrent qu'une multitude de processus endogènes d'auto-réparation et de repopulation des zones lésées sont activés dans le cerveau par l'intermédiaire de nombreux facteurs de croissance et de transcription (majoritairement sécrétés par l'immunité locale, comme le facteur NGF : Nerve Growth Factor), notamment par une stimulation de la neurogenèse sous-ventriculaire. La zone sous-ventriculaire a en effet été identifiée comme la source majoritaire de neuroblastes générés post-AVC chez le rongeur (Lindvall, Kokaia 2015), mais également chez l'humain (Jin et al. 2013). Ces neuroblastes vont ensuite migrer jusqu'à la zone lésée par détournement des voies usuelles de migration via de nombreux facteurs de signalisation (Thored et al. 2006).

Des études menées sur des cerveaux de patients 5 à 40 jours après le début clinique de l'AVC ont révélé dans la pénombre ischémique la présence de cellules co-exprimant des marqueurs de prolifération (Ki67) et des marqueurs de lignage neuronal tels que la doublecortine (DCX) et la protéine β III tubuline, non présents dans le cerveau des sujets sains. Ces cellules ont également été retrouvées à proximité des vaisseaux sanguins, suggérant l'existence d'une interaction entre la neurogenèse et l'angiogenèse après AVC, notamment en matière de migration et de prolifération (Jin et al. 2006). Dans les modèles expérimentaux d'AVC, le BrdU (bromodésoxyuridine), un analogue de la thymidine, a été utilisé pour marquer les cellules en prolifération afin d'étudier la neurogenèse. Chez les marmousets, une augmentation des neurones BrdU/NeuN (NeuN : Neuronal Nuclei, marqueur nucléaire des neurones matures) a été observée dans le cortex, la pénombre ischémique et le striatum 45 jours après une obstruction de l'artère cérébrale moyenne, suggérant bien une stimulation de la neurogenèse locale (Bihel et al. 2010).

En plus d'une augmentation de la neurogenèse dans les niches primaires, une neurogenèse corticale a également été rapportée chez le rat après une ischémie globale transitoire du cerveau antérieur induite par une occlusion bilatérale de l'artère carotide commune, démontrant une prolifération, une migration puis une différenciation des progéniteurs corticaux en neurones matures fonctionnels dans la zone péri-lésionnelle (Ohira et al. 2010). De plus, après un AVC ischémique, la neurogenèse peut également provenir des astrocytes et des péricytes (Magnusson et al. 2014). Plus précisément, les astrocytes du striatum, après activation par des facteurs spécifiques, peuvent générer des neuroblastes, des neurones immatures (après une semaine) et matures (après deux semaines) dans des modèles murins d'AVC ischémique (Duan et al. 2015). En effet, les astrocytes réactifs du parenchyme cérébral peuvent donner naissance à des neurones par dédifférenciation, puis par transdifférenciation neuronale, ou par l'intermédiaire de cellules en transit amplificatrices, transformées par la dérégulation d'un programme transcriptionnel neurogène latent (Shimada et al. 2012; Magnusson et al. 2020). Ce dernier mécanisme a été mis en évidence dans des modèles de lésion cérébrale chez le rongeur, et les quantités de cellules générées semblent efficaces pour les stratégies de remplacement cellulaire (Magnusson et al. 2020; 2014).

Pour ce qui est de la chronologie, les processus de migration sont plus rapides : le raccourcissement du cycle cellulaire permet d'accélérer les processus de

neurogenèse primaire à partir de 2 jours post-AVC. Cette dernière atteint un pic 2 semaines après et retrouve un niveau légèrement supérieur au niveau basal environ 6 semaines post-lésion (Zhang et al. 2001; Thored et al. 2006; Zhao, Deng, Gage 2008). La migration ectopique des neuroblastes vers le site lésé et la formation de nouveaux neurones débutent quant à elles 3 à 4 jours post-ischémie et persistent encore 1 an après la lésion dans des modèles murins d'ischémie cérébrale (Lindvall, Kokaia 2015). Concernant la neurogenèse locale, le bourgeonnement axonal des neurones résiduels n'apparaît quant à lui pas avant 14 jours après l'ischémie, même dans la pénombre ischémique, et l'apparition de circuits corticaux nouvellement formés peut être détectée dès 3 semaines après l'ischémie, ce qui est associé à un début de récupération fonctionnelle (Kanazawa et al. 2017; Ma et al. 2021).

Les cellules souches neurales primaires et les précurseurs corticaux contribuent donc à la neurogenèse locale dans les modèles animaux d'AVC ischémique, mais ce phénomène est étroitement imbriqué avec les phénomènes de neuroplasticité qui se mettent en place concomitamment, rendant difficile de jauger le réel apport de cette neurogenèse isolée (Bruce C. V. Campbell et al. 2019). De plus, il a été montré chez le rat que cette neurogenèse post-AVC n'est pas suffisante pour remplacer efficacement tout le tissu nerveux nécrosé. En effet, une étude a démontré chez les rats que seuls 0,2% des neurones striataux perdus étaient effectivement remplacés par les nouveaux neurones migrants depuis la zone sous-ventriculaire, et ce 6 semaines après occlusion de l'artère cérébrale moyenne (Arvidsson et al. 2002). En effet, seulement 0,2% des nouveaux neurones générés ont survécus. En outre, ils restent confinés au bord de la lésion et ne sont que peu efficaces pour remplacer l'étendue de tissu neuronal perdu. Ainsi, bien qu'une neurogenèse locale ait lieu au site lésionnel après un AVC ischémique, elle ne saurait être suffisante à elle seule pour permettre la réparation de lésions majeures ou la récupération de l'intégrité anatomique et fonctionnelle du tissu lésé (Cirillo et al. 2020).

4. Inflammation chronique et gliogenèse post-AVC

L'infiltration de cellules inflammatoires et la réponse astrocytaire durent environ un mois chez les rongeurs et 3 mois ou plus chez les patients atteints d'AVC ischémique. La réponse astrocytaire est en effet très prononcée post-AVC, mais les mécanismes impliqués sont peu compris, bien qu'il semblerait que la multiplication locale soit plus facilement imputable à la division cellulaire qu'à la migration (Hampton et al. 2004). Elle est notamment étroitement impliquée dans les processus de

formation de la cicatrice gliale (barrière physico-chimique) dès 7 jours post-lésion, décrits précédemment. Cette cicatrice est un composant majeur de l'inflammation chronique et participe à l'isolation de la zone lésée, compliquant les processus locaux de régénération (Cirillo et al. 2020). Il a également été montré que l'astrogliose pouvait s'étendre de 3 jours à 2 mois post-lésion dans le but de maintenir la cicatrice gliale et de définir les bords de la cavité lésionnelle, et était initialement détectée en bordure du cortex cérébral lésé (Villapol, Byrnes, Symes 2014).

De plus, l'inflammation post-AVC joue également un rôle dans l'induction des processus de régénération axonale, principalement par l'intermédiaire de cytokines. Par rapport au système nerveux périphérique, le statut immunitaire privilégié du cerveau et l'absence d'anticorps endogènes retardent l'élimination de la myéline et la régénération axonale après une lésion (Cirillo et al. 2020). Par ailleurs, certaines cellules inflammatoires de l'immunité périphérique persistent longtemps dans l'environnement péri-lésionnel. C'est le cas par exemple des cellules T proliférantes, trouvées dans la zone péri-infarctus, près des astrocytes réactifs, plusieurs années après la lésion (activation prolongée jusqu'à 1 mois), ce qui indique qu'elles pourraient jouer un rôle dans le processus de réparation neuronale après l'ischémie cérébrale. Les Treg sont également retrouvés en phase chronique et participeraient à la protection cérébrale ainsi qu'à la régulation neuronale et à la formation de la cicatrice gliale en phase chronique (Cirillo et al. 2020).

Enfin, d'autres médiateurs participent activement au recrutement, à la maturation et à la différenciation des progéniteurs des oligodendrocytes au site lésionnel, de manière à accélérer la myélinisation des axones neuronaux et à favoriser la reconstruction neuronale (Cirillo et al. 2020).

5. Angiogenèse post-AVC

La réparation du tissu neuronal après la phase aiguë de l'AVC implique trois processus principaux : le remodelage neuronal, qui comprend la neurogenèse et le remodelage synaptique, la gliogenèse et l'angiogenèse. L'angiogenèse correspond à la synthèse de nouveaux vaisseaux. Après l'AVC, en phase aiguë à subaiguë, l'angiogenèse est très importante surtout dans la zone de pénombre (Krupinski et al. 1994). En effet, la reconstruction de vaisseaux est primordiale pour permettre les apports sanguins nécessaires à l'élimination des tissus endommagés. En phase chronique, l'angiogenèse va diminuer. A terme, l'angiogenèse dans la zone péri-

lésionnelle, mais aussi dans les zones en reconstruction, détermine le rétablissement du flux sanguin cérébral, la régénération neuronale et la reconstruction des connexions synaptiques entre les cellules nerveuses, qui influencent le degré de récupération fonctionnelle du patient (Ma et al. 2021).

Après l'AVC, l'hypoxie entraîne l'activation des tissus de la pénombre ischémique et la libération de facteurs angiogéniques afin d'augmenter la perméabilité vasculaire et d'établir une circulation collatérale, puis de connecter les vaisseaux sanguins nouvellement formés au réseau vasculaire préexistant (Ma et al. 2021). Or, dans un premier temps, la distribution des micro-vaisseaux corticaux dans la région péri-lésionnelle reste inchangée. Il a en effet été démontré que de nouveaux vaisseaux sanguins apparaissent à partir du 3^{ème} jour post-ischémie, et persistent pendant au moins 3 mois après le début de l'AVC (Villapol, Byrnes, Symes 2014). L'angiogenèse est majoritairement stimulée par la production massive de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) par les tissus hypoxiques après l'AVC, mais de nombreuses études ont identifié que diverses cellules immunitaires et cytokines sont directement ou indirectement impliquées dans la régulation de l'angiogenèse (Ma et al. 2021).

Ces phénomènes d'angiogenèse sont étroitement imbriqués avec ceux de neuro- et de gliogenèse. En effet, une étude a montré que les interactions entre les astrocytes et les vaisseaux sont détectables à 7 jours post-lésion et sont maximales à 14 jours post-lésion. Les interactions entre les astrocytes et les vaisseaux sanguins à paroi épaisse sont détectables jusqu'à 30 jours et les contacts astrocytes-vaisseaux avec le bord de la cavité ont été maintenus jusqu'à 60 jours post-lésion (Villapol, Byrnes, Symes 2014). Il a été montré d'une part que les facteurs libérés par les cellules endothéliales résidentes ou nouvellement formées favorisent la différenciation des cellules souches neurales, la maturation des nouveaux neurones ainsi que la croissance axonale. D'autre part, le principal processus de migration des neuroblastes est étroitement guidé par les vaisseaux sanguins, qui interagissent pour orienter la différenciation des cellules souches neurales en cellules neuronales (Greenberg, Jin 2005). Enfin, les cytokines de la microglie et des cellules immunitaires périphériques envahissantes activent les astrocytes, qui favorisent l'angiogenèse et synchronisent l'activité neuronale pour induire des excroissances axonales et établir de nouvelles connexions (Ma et al. 2021). Par conséquent, la modulation de l'angiogenèse et de la neurogenèse ainsi que de la gliogenèse s'influencent mutuellement dans le processus de réparation du tissu nerveux lésé.

6. Synthèse sur la reconstruction tissulaire post-AVC

La reconstruction tissulaire post-AVC fait donc intervenir un ensemble de facteurs et de mécanismes liant étroitement entre eux les processus d'angio- de glio- et de neurogenèse. Ces processus doivent être rétablis le plus tôt possible après un AVC et dépendent d'un ensemble de médiateurs spécifiques mais également communs. L'ensemble des mécanismes de régénération cellulaire et tissulaire après un AVC sont résumés dans la **Figure 13**.

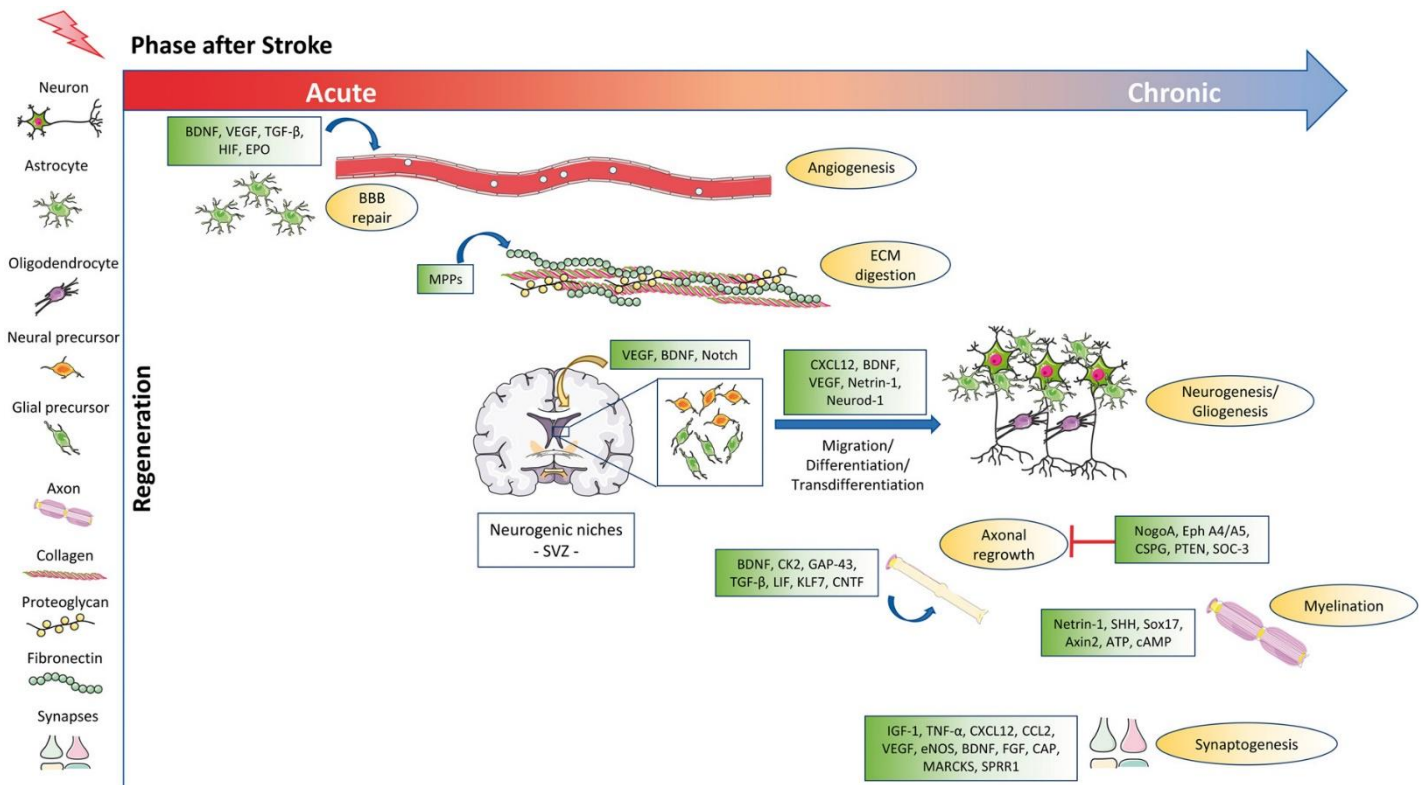


Figure 13. Schéma présentant les différents mécanismes de la régénération post-AVC. Ce schéma rassemble l'ensemble des processus de régénération cellulaire et tissulaire post-AVC, en étudiant les mécanismes de neuro- angio- et gliogenèse ainsi que les médiateurs impliqués. BBB = BHE : barrière hémato-encéphalique ; BDNF : brain-derived neurotrophic factor ; VEGF : vascular endothelial growth factor ; TGF-β : transforming growth factor-beta ; HIF : hypoxia-inducible factor ; EPO : erythropoietin ; ECM : extracellular matrix ; MMPs : metalloproteinases ; SVZ : subventricular zone ; CXCL12 : C-X-C motif chemokine ligand 12 ; GAP-43 : growth associated protein 43 ; LIF : leukemia inhibitory factor ; KLF7 : Kruppel-like factor 7 ; CNTF : ciliary neurotrophic factor ; SHH : sonic hedgehog signaling ; ATP : adenosine triphosphate ; Camp : cyclic adenosine monophosphate ; IGF-1 : insulin-like growth factor 1 ; TNF-α : tumor necrosis factor-alpha ; CCL2 : C-C motif chemokine ligand 2 ; eNOS : endothelial nitric oxide synthase ; FGF : fibroblast growth factor ; CAP : cortical cytoskeleton-associated protein ; MARCKS : myristoylated alanine-rich C-kinase substrate ; SPRR1 : small proline repeat rich protein 1 ; CSPG : chondroitin sulfate proteoglycans ; PTEN : phosphatase and tensin homolog ; SOC-3 : suppressor of cytokine signaling 3. Schéma issu de (Cirillo et al., 2020).

G. Mécanismes d'adaptation et de compensation post-AVC

Après un AVC ischémique, de nombreux mécanismes se mettent en place visant à une bonne récupération fonctionnelle. Parmi eux, comme vu dans le paragraphe précédent, la plasticité cérébrale occupe une place centrale. Il s'agit de la capacité du cerveau à se remodeler en ce qui a trait aux synapses, neurones et réseaux

neuronaux ; de manière, dans ce cas-là, à récupérer la fonction motrice endommagée. Il existe deux types majeurs de plasticité cérébrale : l'adaptative, et la mal-adaptative, chacune faisant intervenir un ensemble de mécanismes différents (Cirillo et al. 2020).

1. Plasticité cérébrale adaptative

En réponse à une lésion aiguë, le cerveau développe un haut degré de plasticité pour permettre la réorganisation de ses fonctions et de ses structures. En dehors des mécanismes de genèse cellulaire, d'autres mécanismes de la plasticité cérébrale adaptative vont également intervenir. En effet, le premier mois post-AVC est une période critique et particulièrement importante pour ce qui est de la plasticité cérébrale, et ce via un ensemble de mécanismes différents :

- La désinhibition : réorganisation péri-lésionnelle par la réhabilitation et la réactivation de circuits latents (démasquage et synaptogenèse), démontrée chez le rat, des primates non-humains ainsi que chez l'Homme (Chen, Cohen, Hallett 2002; Cirillo et al. 2020). Une étude a en effet montré la réorganisation des projections spinales du cortex moteur secondaire (M2) chez le macaque rhésus avec une lésion partielle de l'aire du bras dans le cortex moteur primaire (McNeal et al. 2010). Les zones corticales adjacentes peuvent donc être en mesure de prendre en charge la fonction manquante.
- Détour axonal : au niveau cérébral ou spinal, modifications des réseaux prédéfinis en passant par des points relais clés intracérébraux (thalamus, noyaux de la base) ou par des zones remplissant d'autres fonctions au niveau spinal (Cirillo et al. 2020).
- Le diaschisis : phénomène d'inhibition fonctionnelle soudaine d'une partie du cerveau située à distance d'une lésion cérébrale, causée par la diminution de circuits afférents se dirigeant vers cette région, menant à une hypostimulation, une baisse du métabolisme cellulaire et de potentielles lésions secondaires dans ces zones hypostimulées (Chen, Zheng 2014).
- Activation cérébrale controlatérale : prise en charge des fonctions motrices par l'hémisphère contro-lésionnel. De nombreuses études d'imagerie ont montré l'implication de l'hémisphère primaire contro-lésionnel M1 en cas de lésion motrice, notamment par des connexions inter-hémisphériques dans le corps calleux (Chollet et al. 1991). Le degré de cette compensation controlatérale dépend par contre de la balance inter-hémisphérique

(excitabilité accrue du cortex contro-lésionnel délétère à une bonne récupération ispsi-lésionnelle) et de l'intégrité du tractus corticospinal (Lotze et al. 2012).

- Renforcement des voies lésées : neurogenèse, croissance axonale

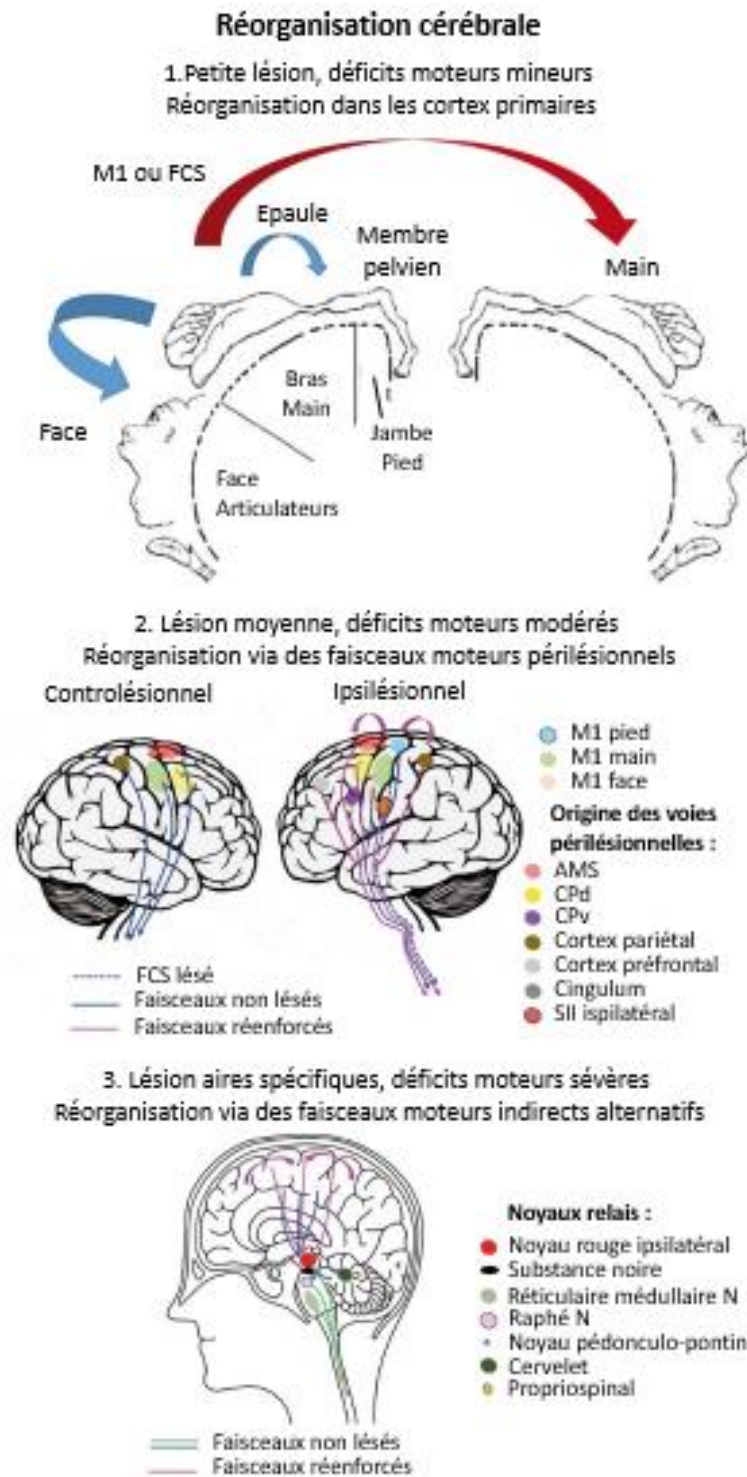


Figure 14. Schéma représentant 3 patterns de réorganisation cérébrale post-lésionnelle dépendant de la localisation et de la taille de la lésion. M1 : cortex moteur primaire ; FCS : faisceau corticospinal ; AMS : aire motrice supplémentaire ; CPd : cortex prémoteur dorsal ; CPv : cortex prémoteur ventral ; SII : aire somatosensorielle. Schéma adapté de (Cirillo et al. 2020).

Il y a donc de nombreux mécanismes impliqués dans cette plasticité cérébrale adaptative, majoritaire le premier mois post-AVC. Globalement, on peut extraire trois schémas de réorganisation cérébrale en fonction de la taille ou de la localisation de la lésion (**Figure 14**) (Cirillo et al. 2020) :

- Cas n°1 : petites lésions cérébrales associées à des déficits moteurs mineurs, causés par une lésion du cortex moteur primaire (M1) ou du tractus corticospinal. La réorganisation corticale se produit alors dans les cortex moteurs primaires ipsi-lésionnel ou contro-lésionnel.
- Cas n°2 : lésions moyennes affectant de plus grandes zones du cerveau, provoquant ainsi des déficits modérés. La réorganisation s'appuie dans ce cas-là soit sur les voies motrices directes péri-lésionnelles qui peuvent être renforcées, soit sur les aires contro-lésionnelles.
- Cas n°3 : lésions importantes ou lésions de zones cérébrales spécifiques (toutes tailles), pouvant provoquer des déficits sévères en raison de leur localisation clé. Dans ce cas-là, les voies issues des aires corticales qui peuvent être renforcées font des relais sur les noyaux moteurs formant des voies motrices alternatives qui sont donc indirectes.

Dans chaque cas, en fonction de la gravité et de la réserve structurelle, les mécanismes peuvent être redondants : démasquage des fibres redondantes existantes, ou bourgeonnement dendritique à courte et longue distance aux niveaux cortical, sous-cortical, pontin ou spinal, et prise en charge de nouvelles fonctionnalités par des zones motrices non lésionnelles. La taille de la lésion affecte la réserve structurelle et diminue le nombre de connexions potentielles pertinentes, obligeant la réorganisation à avoir lieu dans des zones corticales plus éloignées, ce qui affecte le niveau de récupération (Cirillo et al. 2020).

Concernant le tractus moteur, l'intégrité du cortex moteur primaire est essentielle pour la récupération de fonctions telles que la dextérité de la main, un mouvement complexe qui nécessite un réseau de travail bi-hémisphérique, interrompu dans l'AVC. La destruction totale entraîne des déficits chroniques de dextérité, comme cela a été observé chez les rongeurs. En ce qui concerne la force, les modèles animaux ont montré que la récupération après un AVC est possible, bien que lente (Laurence Vaysse et al. 2015).

2. Plasticité cérébrale mal-adaptative

La plasticité mal-adaptative dans le cerveau est définie comme l'ensemble des processus de réorganisation qui limitent la récupération motrice post-AVC. Ce phénomène est en effet responsable de mouvements compensatoires, de déficits de coordination, de syncinésies, de spasticité, de douleurs, de dystonie et même d'épilepsie. En l'absence de traitement, les symptômes s'aggravent progressivement avec le temps et limitent considérablement la récupération fonctionnelle (Jang 2013; Takeuchi, Izumi 2012).

Les mécanismes les plus connus de cette plasticité mal-adaptative sont les suivants (Takeuchi, Izumi 2012) :

- Le mouvement compensatoire : la réalisation du mouvement souhaité du côté le moins lésé aide à retrouver une certaine fonctionnalité et une autonomie de mouvement à court terme, mais cette compensation crée également un modèle de mouvement inapproprié (réduction d'amplitude, sensation de douleur persistante) et limite finalement la récupération motrice de par une sous-utilisation du membre parétique, un phénomène appelé « apprentissage de la non-utilisation », avec pour conséquence une réduction de la capacité à récupérer des compétences motrices.
- Les projections motrices ipsilatérales : celles activées après un AVC ne sont pas en mesure de soutenir suffisamment la perturbation du faisceau corticospinal et induisent un mouvement anormal lié à une faible capacité motrice.
- L'interaction compétitive entre les deux hémisphères : elle induit une inhibition inter-hémisphériques anormale qui affaiblit la fonction motrice chez les patients ayant subi un AVC.
- La désinhibition généralisée : elle augmente le risque d'interaction compétitive entre l'aire lésée et l'aire péri-lésionnelle, ce qui entraîne une récupération motrice incomplète.

Ces mécanismes mal-adaptatifs sont courants post-AVC car 15 à 40% des patients souffrent de spasticité invalidante (Lundström, Terént, Borg 2008), et la plasticité mal adaptative a été démontrée chez les patients et dans les modèles de primates non humains de l'AVC ischémique (Jang 2013). Ces éléments perturbent donc la rééducation et la bonne récupération motrice post-AVC.

3. Pronostic fonctionnel

En ce qui concerne le pronostic moteur, il dépend d'un ensemble de facteurs comme la gravité initiale de l'AVC, la déficience motrice initiale, l'âge, les comorbidités, le volume lésionnel, les zones lésées ainsi que l'intégrité du FCS et des autres voies motrices descendantes (Stinear 2017). Différentes mesures existent pour évaluer ces éléments et tenter de prédire l'évolution de la motricité, et notamment l'utilisation de l'IRM dans les phases aiguës (24 à 48 heures post-AVC). Globalement, les patients présentant une atteinte du cortex moteur primaire et/ou des faisceaux moteurs descendants présentent une moins bonne récupération motrice, et la récupération motrice est proportionnelle au niveau de déficit observé 72 heures post-AVC (Prabhakaran et al. 2008).

Ainsi, globalement, selon les chiffres avancés par la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2024 : « les victimes d'AVC conservent dans 40 % des cas des séquelles de gravité diverse, et dans 25 % des séquelles lourdes après 1 an ». Or, il est admis que bien qu'on puisse déterminer des facteurs de pronostic négatif comme énoncé dans le paragraphe ci-dessus, le délai de récupération fonctionnelle et l'étendue des capacités motrices récupérées sont tout de même difficiles à prévoir et varient considérablement d'une personne à une autre.

III. Stratégies thérapeutiques actuelles

A l'heure actuelle, peu de stratégies thérapeutiques efficaces sont disponibles en phase aiguë et en phase chronique, et celles qui le sont ne sont parfois pas réalisables et ne permettent pas toujours une récupération fonctionnelle complète. En effet, bien que de nombreuses thérapies aient été testées sur des modèles expérimentaux (O'Collins et al. 2006), seulement deux constituent à l'heure actuelle le traitement standard en cas d'AVC ischémique : (1) la thrombolyse et la thrombectomie en phase aiguë, (2) la physiothérapie en phase chronique.

A. Prise en charge de la phase aiguë de l'AVC ischémique

Après diagnostic via les techniques de neuro-imagerie conventionnelles, la prise en charge de la phase aiguë de l'AVC ischémique passe par deux stratégies thérapeutiques validées, visant à rétablir la perfusion cérébrale pour préserver les tissus hypoperfusés : (1) la thrombolyse intraveineuse, et (2) la thrombectomie

mécanique. Ces stratégies sont utilisées en pratique clinique et permettent de limiter l'extension des lésions et l'installation de déficits fonctionnels plus lourds, bien qu'elles ne soient en réalité que très rarement utilisées en pratique à cause de la fenêtre d'action très resserrée et des nombreux critères d'exclusion. De nombreuses autres thérapies sont étudiées pour la phase aiguë à subaiguë (inhibiteurs, protecteurs, régénérateurs, stimulateurs, etc.), pour essayer de limiter les lésions induites par les processus d'ischémie, d'hypoxie, d'excitotoxicité, d'inflammation, de mort cellulaire et de nécrose, mais aucune ne semble pour l'instant cliniquement applicable et ne surpasse encore l'efficacité des stratégies actuellement disponibles.

1. Thrombolyse intraveineuse

La thrombolyse intraveineuse consiste en l'administration de fibrinolytiques par voie intraveineuse de manière à détruire le thrombus à l'origine de l'ischémie cérébrale.

Pendant de nombreuses années, seule une molécule était disponible pour la réalisation de cette thrombolyse intraveineuse : l'altéplase (tPA), une glycoprotéine activant la biotransformation du plasminogène lié au thrombus en plasmine, laquelle dégrade la matrice fibrineuse du thrombus (Hui et al. 2025). Selon les recommandations de l'American Heart Association (AHA)/American Stroke Association (ASA), cette molécule doit être administrée par voie intraveineuse (IV) aux patients qui satisfont aux critères d'inclusion : diagnostic d'AVC ischémique avec « déficit neurologique mesurable », apparition des symptômes dans les 3 heures précédant le traitement et un âge de minimum 18 ans (Hoh et al. 2023). L'altéplase doit être administré à raison de 0,9 mg/kg IV, avec une dose maximale de 90 mg. Les premiers 10 % de la dose sont administrés en bolus au cours de la première minute, et le reste est administré au cours des 60 minutes suivantes. Le premier essai clinique historique qui a démontré la sécurité et l'efficacité de l'altéplase IV en 1995, montre que s'il est administré dans les trois premières heures suivant l'apparition des symptômes, les patients ont au moins 30 % de chances supplémentaires de ne présenter qu'un handicap minime ou nul à 90 jours (Herpich, Rincon 2020). La durée a ensuite été prolongée jusqu'à 4,5 heures post-AVC par l'AHA/ASA en 2009 (Hui et al. 2025).

A l'heure actuelle, un autre agent fibrinolytique, le ténecteplase, peut être considéré comme une alternative à l'altéplase. Il dérive de ce dernier par des

modifications au niveau de trois sites de sa structure protéique lui conférant une plus grande spécificité pour la fibrine et une plus grande résistance à l'inactivation par son inhibiteur endogène. Le ténecteplase présente l'avantage, par rapport au tPA, d'avoir une demi-vie plus longue et de pouvoir être administré en une seule dose intramusculaire (IM) plutôt qu'en une perfusion IV de 1 heure. Il peut sinon être administré à une dose de 30 à 50 mg en bolus IV sur 5 secondes en une seule fois (en fonction du poids). La fenêtre d'administration reste la même : 0-4,5 heures post-AVC. Le ténecteplase est devenu l'agent fibrinolytique de choix pour de nombreux centres de traitement des AVC depuis quelques années, et des études récentes ont montré qu'il semble avoir des profils d'efficacité et de sécurité similaires à ceux de l'altéplase (Kvistad et al. 2022; Rehman et al. 2023).

Ainsi donc, deux agents sont maintenant disponibles pour la réalisation de cette thrombolyse IV, mais leur administration n'est réellement efficace que si elle est réalisée dans les 4,5 heures suivant le début de l'AVC. Or, une étude a montré que le délai d'administration pouvait être prolongé à 9 heures post-AVC si des techniques d'imagerie étaient préférentiellement utilisées pour évaluer l'éligibilité de cette technique (Bruce C V Campbell et al. 2019). La fenêtre d'action en phase aiguë reste tout de même très restreinte, et il y a par ailleurs des critères d'éligibilité et des contre-indications à respecter, ce qui réduit encore le nombre de patients ayant réellement accès à cette thérapie. En effet, près de 69% de patients sont inéligibles à la thrombolyse uniquement à cause d'une présentation retardée à l'hôpital (Herpich, Rincon 2020).

Selon la FDA (Food and Drug Administration), les contre-indications à la thrombolyse IV comprennent une hémorragie interne active, une chirurgie intracrânienne récente ou un traumatisme crânien sévère, des conditions intracrâniennes susceptibles d'augmenter le risque de saignement, une diathèse hémorragique, une hypertension sévère non contrôlée, une hémorragie intracrânienne actuelle, une hémorragie sous-arachnoïdienne et des antécédents d'accident vasculaire cérébral récent. Enfin, les contre-indications relatives sont un âge supérieur à 80 ans, un score de NIHSS <6 ou >25, une utilisation d'anticoagulants oraux ou des antécédents de diabète. Une alternative thérapeutique est donc disponible en phase aiguë.

2. Thrombectomie mécanique

La thrombectomie mécanique doit être envisagée chez tous les patients, même ceux qui ont reçu un traitement fibrinolytique, avant l'observation d'une quelconque réponse de ce dernier (lignes directrices de l'AHA/ASA) (Hoh et al. 2023). Elle consiste au retrait d'un thrombus par chirurgie ou par cathétérisme endovasculaire (stent) dans le but de recanaliser une artère cérébrale occluse. En 2015, de multiples essais sur l'AVC ont montré que la thrombectomie endovasculaire dans les 6 premières heures est bien meilleure que les soins médicaux standards chez les patients souffrant d'une occlusion des gros vaisseaux de la circulation antéro-proximale (artères carotide interne intracrâniale ou artère cérébrale moyenne proximale) (Widimsky et al. 2023). Plus tard, en 2018, l'essai DAWN a montré les avantages significatifs de la thrombectomie endovasculaire chez ces mêmes patients et a étendu la fenêtre d'action à 24 heures chez des patients sélectionnés en utilisant l'imagerie de perfusion (Nogueira et al. 2018).

3. Syndrome de reperfusion

La thrombolyse intraveineuse et la thrombectomie mécanique permettent de restaurer la perfusion cérébrale et de préserver la pénombre et ainsi de réduire le handicap neurologique. Cependant, lors de la fragmentation ou du retrait du thrombus, des lésions d'ischémie/reperfusion peuvent apparaître suite à la restauration brutale du flux sanguin. Une des complications les plus fréquentes de ce processus de revascularisation est la transformation hémorragique. Elle survient chez 10 à 40 % des patients ayant subi un AVC ischémique et soumis à un traitement thrombolytique ou endovasculaire (Jickling et al. 2014). Elle contribue à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité liées à l'AVC (Khatri, Wechsler, Broderick 2007). Elle est notamment liée aux processus endovasculaires et inflammatoires locaux, ainsi qu'à la fragilité de la BHE (Xiong, Liu, Yang 2018). De nombreuses études ont échoué à trouver des thérapies encourageantes pour palier à cette complication. Il faut donc anticiper ce syndrome de reperfusion, de manière à réduire son impact sur les patients, en particulier après l'utilisation des thérapies de la phase aiguë, pour, à terme, arriver à restaurer le flux sanguin cérébral sans induire de complications.

Au final, le nombre de thérapies utilisables en phase aiguë reste très restreint, et les nombreux critères d'éligibilité et contre-indications rendent essentiel le développement de thérapies efficaces en phase chronique.

B. Prise en charge de la phase subaiguë à chronique de l'AVC ischémique

Comme énoncé précédemment, les AVC représentent la première cause de handicap sévère de l'adulte, et plus de 500 000 personnes expriment avoir des difficultés en rapport avec les séquelles d'un AVC. La prévalence des différents types de handicaps moteurs post-AVC est singulièrement mal quantifiée : environ 50 % des personnes ont des difficultés à la marche, 40 % ont des troubles de la préhension, et près de 30 % conservent une hémiplégie sévère (Sturm et al. 2004; Yelnik 2022). De nombreux déficits fonctionnels peuvent donc être observés en phase chronique chez les patients ayant soufferts d'un AVC, qui ont un impact plus ou moins important sur leur vie quotidienne.

A l'heure actuelle, en phase subaiguë à chronique, la rééducation reste la seule thérapie qui montre des bénéfices fonctionnels (Ottenbacher, Stull 1993). Depuis quelques années, l'approche de la rééducation post-AVC s'enrichit régulièrement et devient beaucoup plus active, avec un résultat global largement reconnu : diminution des complications, réduction des handicaps moteurs et meilleure autonomie (Yelnik 2022).

La rééducation motrice post-AVC comprend un ensemble d'éléments et commence par la réalisation de mesures de la motricité, des déficits élémentaires (échelles diverses et scores de NIHSS et de Fugl Meyer), des activités, via un ensemble d'échelles et de scores. Cette étape est nécessaire pour évaluer l'ampleur des déficits fonctionnels (Yelnik 2022). Le but est ensuite de travailler sur une récupération des déficits, puis des fonctions et enfin des activités. La période optimale pour une bonne récupération se situe dans les premières semaines et les premiers mois pour la récupération des déficits. Les premiers jours post-AVC, la rééducation a avant tout un objectif de prévention des complications de l'immobilité (Bernhardt et al. 2015; Cumming et al. 2011).

Les points clés de cette rééducation motrice sont l'intervention de professionnels spécialisés (kinésithérapeute, ergothérapeute, professeur d'activité physique adaptée...), des structures spécialisées, le temps (période et durée des séances adéquates) et la personnalisation des exercices (Yelnik 2022). Concernant la durée de la période d'efficacité optimum, toutes les études confirment que l'essentiel (environ 75 %) de la récupération des déficits moteurs est fait dans les 6 premiers mois post-AVC, mais cela varie de 3 mois à au-delà de 12 mois en fonction de la sévérité des

atteintes (Duncan, Min Lai, Keighley 2000). De plus, la durée quotidienne nécessaire de rééducation paraît se situer entre deux et trois heures (Yelnik 2022).

La physiothérapie est un axe majeur de cette rééducation post-AVC, avec la réalisation de programmes d'entraînements d'exercices, de fréquence, de durée et d'intensité adaptés aux déficits fonctionnels des patients. De plus, une des autres approches étudiées pour cette rééducation est la thérapie du mouvement induit par la contrainte (TMIC), consistant à restreindre les mouvements du membre non affecté de manière à encourager l'utilisation du membre lésé dans différentes tâches. Cela permettrait de diminuer les effets de la plasticité mal-adaptative, mais les études menées sur cette thérapie actuellement ne montrent pas de résultats très encourageants (Corbetta et al. 2015). Elle semblerait surtout efficace chez les patients les moins sévères.

Ainsi, la rééducation motrice en phase chronique est un élément clé de la récupération fonctionnelle post-AVC, mais les résultats sur la récupération d'une fonction et d'une autonomie motrice sont très patients et lésions dépendants, et il peut s'écouler des années avant d'observer un réel bénéfice. Enfin, actuellement, l'évaluation de nouvelles approches en matière de réadaptation - telles que l'utilisation de la robotique pour adapter l'entraînement moteur, l'intelligence artificielle, l'imagerie mentale, les paradigmes de réalité virtuelle - fait l'objet de nombreuses études qui pourront potentiellement constituer à terme des éléments clés de la rééducation motrice post-AVC.

IV. Expérimentation animale et AVC ischémique

A. Ethique

Depuis plusieurs décennies maintenant, l'utilisation d'animaux pour le bénéfice de l'homme soulève quelques aspects éthiques. C'est le cas notamment de leur utilisation à des fins scientifiques, représentant un nombre d'animaux non négligeable chaque année. En effet, en France en 2016, 1,9 millions d'animaux ont été utilisés dans ce but (chiffres de la Fondation du Droit Animal). Les modèles animaux restent néanmoins essentiels, notamment dans le cas de l'AVC, pour mieux comprendre sa physiopathologie et explorer de nouveaux axes thérapeutiques.

L'utilisation des animaux à des fins scientifiques fait l'objet d'une réglementation nationale spécifique depuis plus de 25 ans, relevant conjointement du ministère en charge de l'agriculture et du ministère en charge de la recherche. La protection de ces animaux est non seulement une obligation législative et réglementaire mais également un devoir moral. Inclus dans le cadre général de la loi de protection des animaux et de la nature de 1976 et dans le Code Civil qui reconnaît, depuis 2016, que les animaux sont des êtres vivants doués de sensibilité, l'utilisation des animaux à des fins scientifiques, ou « expérimentation animale », est l'objet de dispositions réglementaires spécifiques issues de directives européennes. La première directive de 1986 a été remplacée par une autre directive en 2010 (directive 2010/63/UE), transposée dans le code rural en 2013 par la publication d'une ordonnance, d'un décret et de plusieurs arrêtés d'application. Ces textes stipulent que « les pratiques doivent être limitées aux expérimentations strictement nécessaires et prendre en compte le fait que les animaux sont des êtres sensibles, sujets à la douleur et ayant des besoins physiologiques et comportementaux propres à chaque espèce » (informations issues du site du ministère chargé de l'enseignement supérieur et de la recherche). Un certain nombre de dispositions sont donc à respecter et tout projet scientifique impliquant l'utilisation d'animaux doit obtenir préalablement une autorisation de projet spécifique par le ministère de la recherche, sous réserve de l'obtention d'un avis favorable par le comité d'éthique.

Outre les exigences légales, il existe également plusieurs lignes directrices ou outils qui aident à mener des études sur les animaux dans le respect de l'éthique. Par exemple, le guide ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) est une liste de recommandations offrant un cadre pour la rédaction de rapports sur les expériences in vivo, l'objectif étant que la recherche publiée soit transparente, clairement expliquée au public et conforme aux 3R (Kilkenny et al. 2010). La règle des 3R consiste à « Remplacer » l'expérimentation animale dès que possible, à « Réduire » le nombre d'animaux utilisés dans le cas contraire et à « Raffiner » les procédures, c'est-à-dire optimiser les méthodologies employées pour diminuer la douleur animale tout en garantissant un niveau élevé de résultats scientifiques. Ce guide ARRIVE a vu le jour en 2010 et a été plusieurs fois mis à jour depuis. De plus, on peut aussi citer le guide PREPARE (Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence), offrant un accompagnement complet dans chaque étape d'un projet scientifique, de manière à optimiser sa réalisation et sa conformité aux 3R, notamment en étudiant la possibilité

d'alternatives *in vitro*, en aidant à la formulation du projet, au dialogue entre les différentes parties et au contrôle qualité (Smith et al. 2018).

B. Modèles animaux d'AVC ischémique

1. Recommandations et éléments clés dans un modèle animal d'AVC

A l'heure actuelle, de nombreux modèles animaux sont disponibles et fréquemment utilisés pour étudier la physiopathologie de l'AVC et tester de nouveaux traitements en phase aiguë et en phase subaiguë à chronique.

Bien qu'il n'existe encore aucun modèle expérimental qui représente entièrement la physiopathologie de l'AVC ischémique humain, certaines caractéristiques importantes d'un modèle animal d'AVC doivent être considérées : (1) la minimisation ou la non manipulation du tissu cérébral, (2) la proximité avec la physiopathologie de l'AVC ischémique chez l'homme, (3) la production de lésions d'une taille et d'une localisation prévisibles, (4) la production de déficits sensorimoteurs durables et mesurables, (5) la survivabilité de la procédure. Ces différentes caractéristiques sont importantes à considérer, car elles sont essentielles à l'étude des effets chroniques de l'AVC et à la réalisation de tests pour des thérapies dans la phase chronique.

De plus, les groupes « Stroke Therapy Academic Industry Roundtable » STAIR (Fisher et al. 2009; Liebeskind 2018) et « Stroke Recovery and Rehabilitation Roundtable » (Corbett et al. 2017) recommandent d'utiliser idéalement plus d'une espèce pour valider les résultats d'une étude expérimentale. Cela implique donc la nécessité de valider un modèle expérimental dans au moins deux espèces différentes, puis de tester une stratégie thérapeutique chez ces deux espèces avant de valider les résultats et de statuer sur l'efficacité véritable d'un traitement. Cela nécessite donc de disposer de différentes espèces animales pouvant être utilisées dans la modélisation de l'AVC cérébral et donc dans l'étude de nouvelles stratégies thérapeutiques.

2. Animaux les plus fréquemment utilisés

Pour ce qui a trait à la recherche préclinique pour l'AVC, les rongeurs (rats, souris) sont largement utilisés dans l'étude de l'ischémie cérébrale, en raison de leur faible coût, de l'abondance des sources permettant de mener rapidement des projets avec de larges populations d'étude, ainsi que de leur simplicité d'utilisation (Lin et al. 2022). De nombreuses stratégies thérapeutiques se sont en effet avérées efficaces

après un AVC chez les rongeurs, mais leur application clinique n'a pas connu autant de succès. La principale raison de cet échec est la grande différence entre le cerveau des rongeurs et celui des humains, entraînant des réactions différentes pour une même lésion ischémique (Lin et al. 2022). Cela suggère que les modèles de rongeurs ont une valeur prédictive limitée et que d'autres modèles d'animaux de plus grande taille et plus proches de l'homme ont un rôle important à jouer dans la recherche préclinique de l'AVC. En effet, les grands animaux comme les cochons, les canidés ou encore les primates non humains possèdent de nombreuses similarités avec les humains en matière d'antécédents génétiques, de caractéristiques physiologiques et comportementales, de facteurs de risques de maladie cérébrovasculaire, ainsi que d'anatomie du tissu cérébral et de sa vascularisation (Cai, Wang 2016). Par conséquent, les grands animaux et en particulier les primates non humains (PNH) ont davantage de similarités pour ce qui est de la physiopathologie et des manifestations cliniques de l'AVC avec l'homme que les rongeurs (Cai, Wang 2016; Lin et al. 2022).

Ainsi, bien que plus contraignants en matière de ressources et de considérations éthiques, les grands animaux, et tout particulièrement les PNH, jouent un rôle essentiel pour les études précliniques sur l'AVC. Les avantages des PNH par rapport aux rongeurs en ce qui concerne la modélisation de l'AVC sont notamment : (1) une anatomie du système cérébrovasculaire (notamment les aires de distributions de l'artère cérébrale moyenne) et du système moteur plus proche de celle des humains, (2) un rapport matière blanche/matière grise plus élevé que les rongeurs, (3) une grande dextérité au niveau des membres supérieurs, et (4) des déficits neurologiques post-AVC similaires à ceux des humains (très utile notamment en ce qui concerne le traitement et la réhabilitation) (Lin et al. 2022; Okano et al. 2016). C'est pourquoi de plus en plus de PNH sont utilisés pour évaluer notamment une variété de méthodes thérapeutiques post-AVC, aussi bien en phase aiguë que chronique.

Les principales espèces de PNH utilisées dans la recherche sur les AVC sont les singes gyrencéphales tels que les babouins (*Papio anubis*), les singes cynomolgus (*Macaca fascicularis*), les singes rhésus (*Macaca mulatta*) ; et les singes non gyrencéphales tels que les singes-écureuils (*Saimiri sciurea*) et les marmousets communs (*Callithrix jacchus*). Les grands singes de l'ancien monde présentent un répertoire comportemental plus riche et une anatomie cérébrale plus proche de celle des humains que les primates du nouveau monde, mais ils sont coûteux à conserver et difficiles à élever. En revanche, les petits singes du nouveau monde, comme les

marmousets, offrent un compromis valable entre les rongeurs et les grands primates en matière de proximité avec l'homme et de facilité de manipulation. C'est pourquoi ils suscitent un intérêt croissant dans le domaine des neurosciences (Kishi, Okano 2017). Les marmousets ainsi que leurs caractéristiques spécifiques seront présentés dans la partie suivante.

Ainsi, les différentes espèces animales utilisées pour la recherche dans le domaine de l'AVC possèdent chacun des avantages et des inconvénients, et la nécessité de trouver des compromis reste essentielle. Aussi, une alternative repose sur la sélection des rongeurs comme modèles d'AVC pour les tests initiaux, et l'utilisation des PNH (ou autres grands animaux) comme deuxième espèce, en accord avec les recommandations de l'année 2009 du groupe STAIR (Cai, Wang 2016).

C. Le marmouset commun - *Callithrix jacchus*

Le marmouset commun est l'une des espèces de PNH communément utilisée dans la recherche préclinique pour l'AVC, offrant une alternative entre les rongeurs et les grands primates sur le plan de la proximité avec l'Homme. C'est sur cette espèce que se base le projet présenté dans cette thèse.

1. Caractéristiques du marmouset commun

Le marmouset commun (*Callithrix jacchus*) est un primate du Nouveau Monde originaire des forêts côtières atlantiques du nord-est du Brésil. C'est un singe de petite taille mesurant entre 20 et 30 cm et pesant entre 250g et 400g à l'âge adulte, la femelle étant approximativement 10% moins lourde que le mâle (Carrion, Patterson 2012). La durée de vie du marmouset commun est relativement courte par rapport à celle d'autres PNH : la maturité est atteinte à l'âge de 18-24 mois, la reproduction se déroule à l'âge de 3 ans et il est considéré comme âgé à 8 ans (Abbott, Hearn 1978). Cette courte durée de vie représente un avantage certain pour la recherche, permettant une certaine flexibilité des populations de marmousets disponibles.

Ce petit singe arboricole est omnivore, insectivore et gommivore, mangeant particulièrement des exsudats de plantes, des lézards et des petits mammifères. Comme caractéristiques physiques particulières, il possède des touffes d'oreilles, une queue relativement longue et rayée et n'a pas de pouce opposable. Le marmouset commun est monogame et, contrairement à de nombreux autres PNH, vit en familles stables d'environ dix membres (Tardif et al. 2003). Les femelles donnent généralement

naissance à deux individus par portée (deux portées par an) et la reproduction peut reprendre environ 10 jours après. Les femelles allaitent leurs petits, et le partenaire mâle ainsi que les autres membres du groupe s'occupent également d'eux, ce qui est un trait remarquablement semblable à celui de l'Homme (Kishi, Okano 2017).

Sur le plan évolutif, les macaques sont plus proches de l'homme que les marmousets communs, mais certains traits de ces derniers sont plus proches de ceux de l'homme, peut-être en raison d'une ségrégation géographique ou d'une évolution convergente. On estime que les primates du Nouveau Monde ont divergé des primates de l'Ancien Monde il y a environ 35 millions d'années et que ces singes se sont adaptés aux environnements néotropicaux. Malgré cette distance phylogénétique, les marmousets communs comme les humains, présentent de fortes relations de parenté intergénérationnelles et des communications vocales sociales (Eliades, Wang 2008; Gordon, Rogers 2010), ce qui pourrait indiquer une trajectoire convergente dans leur évolution.

2. Avantages à l'utilisation du marmouset en recherche biomédicale

Le marmouset commun s'est révélé être un modèle remarquable pour l'étude du vieillissement, de la reproduction, de la neuroscience, de la toxicologie ainsi que des maladies infectieuses de l'Homme (Mansfield 2003). Il est en effet utilisé pour la recherche biomédicale depuis les années 1960 grâce à sa petite taille, sa grande disponibilité et sa haute reproductivité (Kishi, Okano 2017). Il offre de nombreux avantages dans ce domaine incluant : (1) d'importantes similarités physiologiques, métaboliques, immunologiques, hématopoïétiques, anatomiques et comportementales avec l'Homme, (2) des coûts réduits pour l'hébergement et l'entretien de ce PNH de petite taille, (3) un génome séquencé et bien connu, et (4) la possibilité de production de marmousets transgéniques (Han, Powers, Gabrielson 2022).

De manière un peu plus détaillée, l'endocrinologie et le métabolisme du marmouset sont plus proches de ceux de l'homme que le rongeur, ce qui est important pour les études pharmacologiques et toxicologiques des nouveaux médicaments candidats. Il est également plus étroitement lié à l'homme sur le plan phylogénétique, leur ancêtre commun étant plus proche qu'avec celui du rongeur (Kishi, Okano 2017; Kitamura et al. 2011). En Europe, le marmouset est désormais utilisé comme deuxième espèce non rongeur dans les tests de sécurité des médicaments (Korte,

Everitt 2019). De plus, du fait de sa petite taille, il est plus manipulable que la plupart des PNH, et les coûts ainsi que l'espace qui lui est nécessaire sont également réduits (Kishi, Okano 2017). Il est également facile à obtenir pour une utilisation en laboratoire et, contrairement aux macaques, les marmousets ne sont pas porteurs du virus de l'herpès B (*Macacine herpesvirus 1*), ce qui constitue un avantage en matière de sécurité pour les chercheurs et les zootechniciens (Mansfield 2003). Par ailleurs, les marmousets communs sont parmi les primates les plus reproductifs, avec un cycle ovarien d'environ 28 jours, comme chez l'homme, une période de gestation d'environ 145-148 jours et une reprise de l'activité sexuelle environ 10 jours après l'accouchement. L'efficacité reproductive remarquable des marmousets est extrêmement bien adaptée au développement de techniques transgéniques et d'édition du génome (Kishi, Okano 2017).

D'un point de vue neuro-anatomique, le cerveau du marmouset est lissencéphale, bien que moins que celui du rongeur, et la structure presque lisse du cortex cérébral avec peu de fissures anatomiques représente un avantage pour ce qui a trait à l'exploration fonctionnelle cérébrale. Il présente aussi une organisation cérébrale qui se rapproche de celle de l'homme avec cinq aires motrices et quatre aires sensorielles, contrairement au rongeur qui présente deux aires motrices et deux aires sensorielles (Kaas 2021). L'aire du cortex moteur primaire a bien été identifiée et cartographiée chez le marmouset et comme pour les autres primates, cette aire contrôle également les mouvements du corps controlatéral, des membres pelviens à la face (Kaas 2021). De plus, l'atlas stéréotaxique du cerveau du marmouset publié en 2012 décrit des structures sous-corticales similaires aux autres primates et reconnaît un total de 116 aires corticales définies histochimiquement par hémisphère chez le marmouset, ce qui se rapproche des estimations actuellement définies pour les cerveaux beaucoup plus grands des macaques (environ 140) et des humains (environ 180) (Kaas 2021; Paxinos et al. 2012). Par ailleurs, l'une des caractéristiques architecturales la plus distinctive du néocortex est que la taille des neurones varie d'une couche corticale à l'autre et d'une aire corticale à l'autre, avec des aires corticales frontales présentant une moins grande densité de neurones plus larges que des aires postérieures, ce qui se retrouve chez tous les primates et également les PNH dont le marmouset (Kaas 2021). Enfin, le ratio matière grise et blanche du marmouset est plus proche de celui de l'homme (50/50) que celui du rongeur (90/10) (Narayan et al. 2021).

Ainsi, le marmouset possède de nombreux avantages qui en font un modèle de plus en plus utilisé dans la recherche biomédicale, et notamment dans les modèles d'AVC. De nombreux outils adaptés à son évaluation sont actuellement disponibles (outils comportementaux, atlas, cartographie cérébrale, histologie, etc.) et continuent de se développer, son rôle devenant de plus en plus prépondérant dans la recherche préclinique de différentes pathologies, dont l'AVC.

Bien qu'il existe de nombreux avantages à l'utilisation du marmouset comme modèle expérimental de l'AVC, il existe aussi quelques aspects à garder à l'esprit, notamment sur le plan de l'éthique. En effet, bien que les contraintes éthiques à respecter dans l'expérimentation animale soient les mêmes quelle que soit l'espèce animale, les pressions sociales rendent plus pesantes les expérimentations sur les primates que sur les rongeurs, ce qui peut constituer un inconvénient dans l'utilisation du marmouset. Néanmoins, n'étant pas un grand primate, les contraintes éthiques restent tout de même moins prononcées chez le marmouset que chez le macaque par exemple. Enfin, bien que le marmouset constitue un bon modèle pour l'Homme, il existe tout de même quelques différences interspécifiques, notamment anatomiques.

D. Principales variations interspécifiques neuro-anatomiques

De manière globale, plus l'animal est proche de l'Homme sur le plan phylogénétique, plus il est susceptible de servir de modèle pour la pathologie humaine (Levy 2012). Néanmoins, malgré un degré de proximité important, principalement entre les PNH et l'Homme, il existe tout de même quelques différences interspécifiques, notamment en matière de neuro-anatomie, qui participent à expliquer les difficultés de translation d'un modèle animal comme les PNH à l'Homme.

1. Organisation cérébrale – Cortex, structures sous-corticales et généralités

Tout d'abord, les aires péri-lésionnelles jouent un rôle important dans la plasticité cérébrale post-ischémique. Bien que le marmouset présente une organisation similaire à celle de l'homme pour ce qui est des aires motrices et sensorielles, c'est moins le cas du rongeur (Kaas 2021). Or, il semblerait que des structures moins différenciées comme chez le rongeur faciliteraient la récupération post-lésionnelles : on constate fréquemment une bonne récupération post-lésionnelle chez le rongeur, avec un succès des thérapies ne se traduisant que rarement chez l'homme et qui semble aussi moins évident chez le marmouset (Kishi, Okano 2017).

De plus, comme énoncé précédemment, on note également une différence en matière d'aires corticales définies chez les différents primates avec 116 aires corticales définies histochimiquement par hémisphère chez le marmouset, contre 140 pour les grands des macaques et environ 180 pour les humains (Kaas 2021; Paxinos et al. 2012). Ces chiffres, bien qu'étant tout de même relativement proches, témoignent d'une légère différence, dont le réel impact sur la translation des études aux humains est encore peu connu. Par ailleurs, les aires associatives occupent la plus grande partie du cortex cérébral chez l'Homme (essentiellement dans les lobes frontaux et pariétaux), contrairement aux autres mammifères.

De plus, une étude quantitative comparative des noyaux de la base chez le rat, le singe et l'homme a montré des différences conséquentes entre les rats et les primates, alors que l'anatomie de la substance noire, du pallidum interne et du noyau sous-thalamique était largement similaire entre les marmousets, les macaques, les babouins et les humains (Hardman et al. 2002). De plus, les espèces primates possédaient des proportions plus importantes de neurones sous-thalamiques et du pallidum externe que les rongeurs, illustrant l'importance anatomique et fonctionnelle des noyaux de la base chez les singes et les humains.

Enfin, les marmousets sont presque 10 fois plus petits que les macaques et ont par conséquent moins d' $1/10^{\text{ème}}$ de leur masse cérébrale et de leur nombre de neurones, ce qui représente tout de même là encore un facteur non négligeable lors de la transposition à l'Homme. Néanmoins, la masse cérébrale constitue environ 2% du poids total du corps chez l'Homme, et il en est de même pour le marmouset (Herculano-Houzel et al. 2007). Il a aussi été montré que les différents ratios de cellules des différentes structures cérébrales humaines étaient relativement similaires à ceux des autres primates (Bahney, von Bartheld 2018; Azevedo et al. 2009). Or, l'Homme reste tout de même l'espèce comptabilisant le plus grand nombre de neurones en nombre absolu, offrant par-là beaucoup plus de possibilités et de variabilité (Herculano-Houzel 2017).

2. Voies motrices descendantes

Comme présenté dans la partie sur le SNC, les voies motrices descendantes vont être responsables du contrôle du mouvement et font intervenir notamment les faisceaux corticospinal (FCS) et corticobulbaire (FCB) ainsi que les faisceaux extrapyramidaux et les interneurons et motoneurons spinaux innervant les muscles.

Le FCS contrôle les mouvements du torse et des membres thoraciques et pelviens, tandis que le FCB contrôle les mouvements de la face et du cou et que les faisceaux extrapyramidaux sont plutôt impliqués dans le maintien de la posture.

Or, il a été démontré chez le macaque par l'intermédiaire de traceurs d'axones que la formation réticulée pontomédullaire, d'où part le tractus réticulospinal, reçoit des projections corticobulbaires ipsilatérales du cortex prémoteur et de l'aire motrice supplémentaire. Cependant, les projections corticobulbaires en provenance du cortex moteur primaire sont plus rares et se terminent principalement dans la formation réticulée pontomédullaire contralatérale (Fregosi, Rouiller 2017). De plus, la stimulation de la formation réticulée peut provoquer une réponse musculaire dans le membre thoracique (Zaaimi et al. 2018). Ces études récentes soulignent l'importance de l'interaction entre les différentes voies descendantes pour coordonner efficacement les mouvements volontaires fractionnés, et les subtilités dans l'anatomie des voies motrices descendantes chez les différentes espèces peuvent engendrer quelques différences dans ce domaine.

De plus, bien que les données suggèrent que les voies descendantes du tronc cérébral sont distribuées de manière similaire chez tous les mammifères (Kuypers 2011), il existe tout de même des différences inter-espèces significatives dans l'anatomie et la fonction du tractus pyramidal (ou FCS). Concernant ce dernier, chez les rongeurs, il n'y a pas de connexions monosynaptiques directes entre les neurones corticospinaux et les motoneurones cervicaux qui innervent les muscles des membres thoraciques : les interneurones relaient l'information aux motoneurones. Au cours de l'évolution du FCS chez les PNH et chez l'homme, des connexions corticospinales directes avec les motoneurones sont apparues, ainsi qu'une augmentation de la taille et du nombre des fibres corticospinales, permettant une amplification du potentiel postsynaptique transmis. En outre, chez les rongeurs, la plupart des fibres du FCS circulent dans les colonnes dorsales, là où celles des primates circulent principalement dans les colonnes latérales, avec une proportion significative de fibres corticospinales (10-20%) descendant ipsilatéralement (Courtine et al. 2007; Kondo et al. 2015; Walker, MacLean, Hatsopoulos 2017).

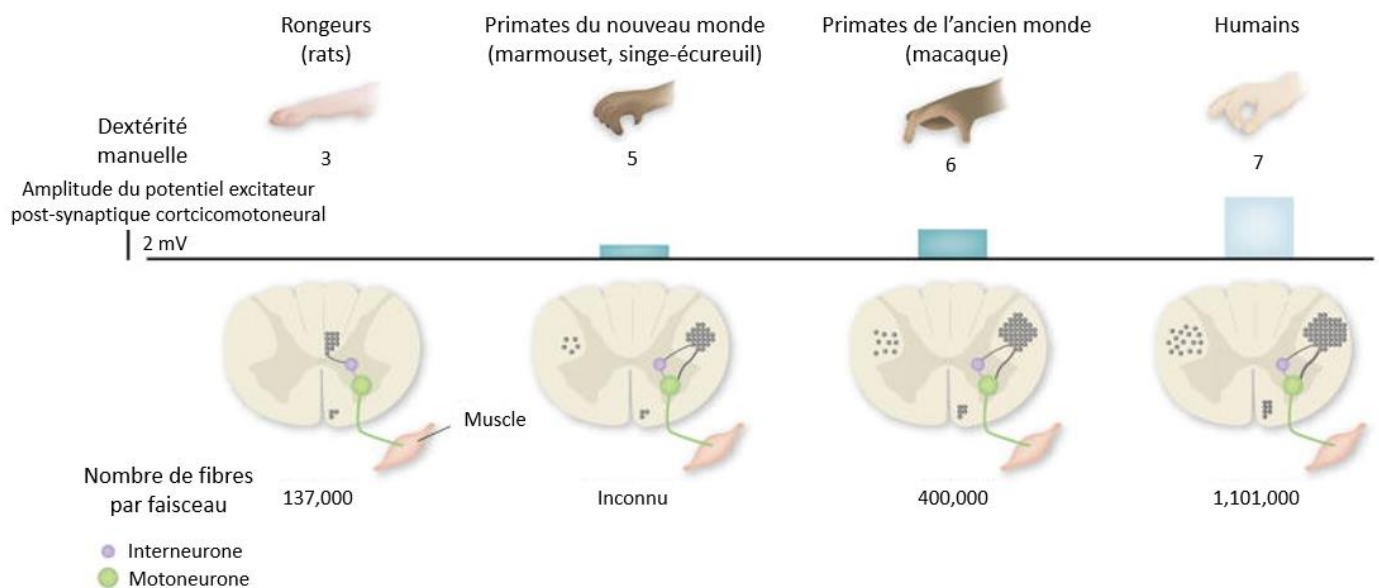


Figure 15. Représentation schématique du lien entre le développement du faisceau corticospinal et l'émergence de capacités de contrôle de la motricité précises. Schéma adapté de (Courtine et al. 2007).

Le développement du FCS est en corrélation avec la dextérité, et en particulier la capacité à effectuer une préhension de précision des doigts et du pouce, que les marmousets sont incapables d'effectuer. Cette divergence, ainsi que l'absence de pouce opposable, peut expliquer les différences de dextérité des membres thoraciques observées entre les marmousets, les primates de l'ancien monde et l'humain, comme illustré sur la **Figure 15** (Courtine et al. 2007).

Par ailleurs, une abondance d'axones du FCS se projettent bilatéralement vers la zone intermédiaire ventromédiane de la moelle spinale cervicale inférieure chez tous les primates, marquant une ressemblance étroite entre les FCS du marmouset et des primates de l'ancien monde et des humains. En effet, ces projections corticospinales bilatérales sont beaucoup plus rares chez le rongeur (rat), car la grande majorité des fibres du FCS se projettent dans la corne dorsale contralatérale de la moelle spinale chez les rongeurs, comme énoncé précédemment, limitant la réorganisation en cas d'atteinte hémilatérale de la moelle spinale, contrairement aux primates (Friedli et al. 2015).

3. Anatomie cérébrovasculaire

Les différences interspécifiques en matière d'anatomie cérébrovasculaire doivent impérativement être prises en compte lors de la modélisation de l'AVC ischémique, en particulier lors de l'utilisation de méthodes vasculaires.

On rappelle que le cercle de Willis est un réseau vasculaire anastomosé qui relie la partie antérieure et postérieure ainsi que le côté gauche et droit du cerveau, assurant une circulation sanguine collatérale en cas d'AVC. Il est composé de l'artère cérébrale antérieure (ACA), de l'artère communicante antérieure, de l'artère carotide interne (ACI), de l'artère cérébrale postérieure (ACP), et de l'artère communicante postérieure. L'artère cérébrale moyenne (ACM) naît quant à elle du cercle de Willis (Narayan et al. 2021). Des variations de la circulation latérale peuvent donc influencer la gravité et la progression de l'AVC ischémique. Les souris, les rats et les primates ont généralement un cercle de Willis complet, mais une étude a révélé que ce cercle est le plus souvent incomplet dans sa configuration anastomotique chez l'Homme, et la circulation collatérale n'est donc normale que chez moins de 50 % de la population humaine (Kapoor, Singh, Dewan 2008). En plus de cette variation intraspécifique chez l'Homme, on observe également une variation interspécifique dans la vascularisation cérébrale, les modèles animaux existant pour les études de l'AVC ischémique présentant chacun des particularités spécifiques. En effet, chez le singe rhésus, le chien et le lapin, le cercle de Willis est presque similaire à celui de l'homme, sauf que chez ces animaux, les artères cérébrales antérieures se rejoignent pour former un seul vaisseau médian, entre autres particularités (Kapoor, Kak, Singh 2003). Les organisations cérébrovasculaires autour du cercle de Willis du rongeur, du singe rhésus et de l'Homme sont illustrées dans la **Figure 16**.

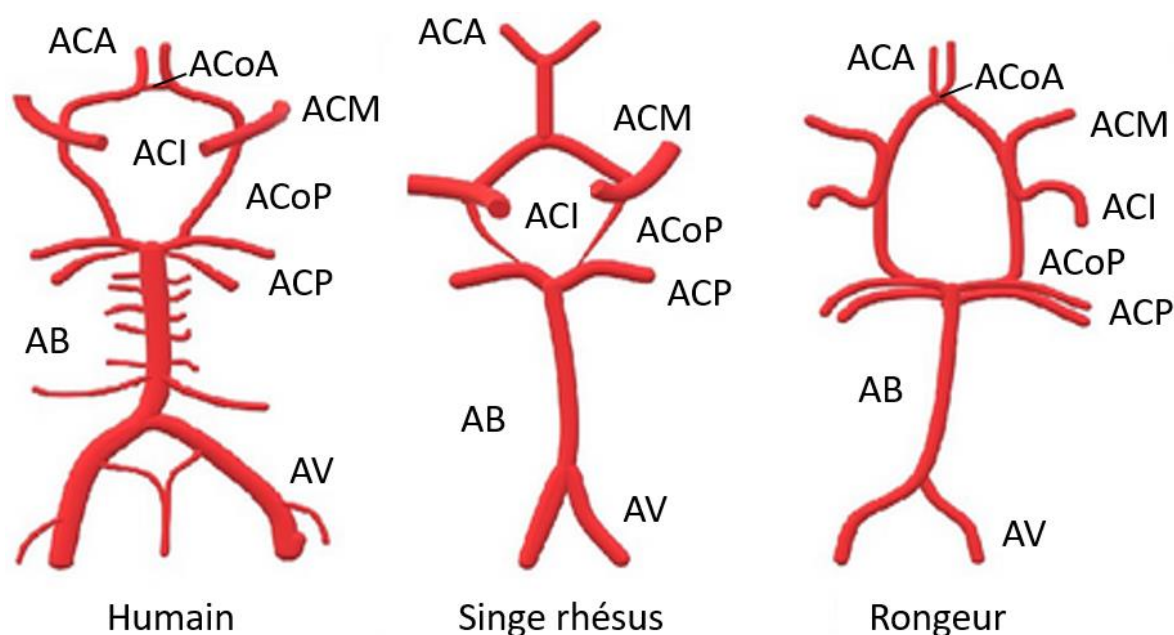


Figure 16. Schéma illustrant les différences dans l'anatomie cérébrovasculaire du cercle de Willis entre l'Homme, le singe rhésus et le rongeur. ACA : artère cérébrale antérieure ; ACoA : artère communicante antérieure ; ACM : artère cérébrale moyenne ; ACI : artère carotide interne ; ACoP : artère communicante postérieure ; ACP : artère cérébrale postérieure ; AB : artère basilaire ; AV : artère vertébrale. Schéma adapté de (Narayan et al. 2021).

Chez l'homme, le diamètre de l'artère communicante postérieure est la moitié de celui de l'ACA, ce qui entraîne un débit sanguin réduit dans l'artère communicante postérieure par rapport aux animaux, chez lesquels les deux artères présentent le même diamètre (notamment chez le mouton et le porc) (Ashwini, Shubha, Jayanthi 2008). De même, chez le babouin, les ACA bilatérales sont reliées par un réseau d'artères, alors que chez l'homme, elles sont reliées par un seul vaisseau, ce qui peut affecter le flux sanguin collatéral et doit donc être pris en compte dans la modélisation de l'AVC chez l'animal (Kapoor, Kak, Singh 2003). De manière générale, les collatérales semblent plus robustes et développées chez les singes que chez les humains, ce qui peut leur conférer une certaine protection en cas d'occlusion artérielle et doit donc être pris en compte dans le choix d'un modèle expérimental pour l'AVC chez le singe (Cook, Tymianski 2012). Par ailleurs, une ACI tortueuse et un siphon carotidien ont été décrits chez les babouins et les marmousets (Virley et al. 2004). Il existe également des différences de vascularisation intraspécifiques chez les animaux, notamment chez les différentes espèces de macaque, de rats et de souris, favorisant ou contre-indiquant l'utilisation de certaines espèces pour certains modèles.

4. Neurogenèse adulte

La neurogenèse adulte a été bien caractérisée dans au moins deux zones spécifiques du cerveau chez l'Homme, la zone sous-granulaire (SGZ) du gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire (SVZ) du ventricule latéral. Il a également été démontré que les néoneurones générés dans le gyrus denté viennent alimenter la couche granuleuse, tandis que les cellules générées dans la SVZ semblent migrer sur de plus longues distances vers le bulbe olfactif où elles donnent principalement naissance à des interneurones (Lois, Alvarez-Buylla 1994). Ce mode de migration va néanmoins différer en fonction des espèces. Chez les rongeurs, les cellules progénitrices migrent le long du flux migratoire rostral selon un modèle de migration en chaîne, avec un rôle prépondérant des cellules gliales (Gritti, Vescovi, Galli 2002). Chez l'homme (comme chez d'autres mammifères comme le mouton), il a été suggéré que le flux migratoire rostral est organisé comme une extension ventriculaire latérale au niveau de laquelle les neuroblastes migrent vers le bulbe olfactif, en faisant une boucle orientée d'abord vers l'arrière puis vers l'avant (Curtis et al. 2007). Chez le marmouset, une étude a révélé que la niche neurogénique cérébrale contenant la zone sous-ventriculaire, le flux migratoire rostral et le bulbe olfactif est anatomiquement organisée de façon similaire au rongeur plutôt qu'au cerveau humain,

avec une chaîne migratoire sans extension des ventricules latéraux, malgré un degré de migration moins conséquent que chez la souris. Cette étude a également montré que bien que la prolifération des neurones ait lieu dans les deux niches neurogéniques du cerveau adulte chez le marmouset, la neurogenèse semble se produire à un niveau quelque peu inférieur à celui des souris dans ces deux zones (Bunk et al. 2011).

V. Modèles expérimentaux actuels de l'AVC ischémique

Dans le cadre de la recherche biomédicale sur l'AVC ischémique, différents modèles expérimentaux ont été développés *in vitro* et *in vivo*, sur animaux, pour modéliser certains aspects de la pathologie vasculaire sous-jacente, de la pathologie parenchymateuse résultant d'une atteinte vasculaire, ou parfois des deux à la fois (Krafft et al. 2012). Globalement, les méthodes existantes de modélisation de l'AVC ischémique *in vitro* sont peu nombreuses, et les modèles *in vivo* chez les animaux de laboratoire peuvent être divisées en deux grandes catégories : les approches vasculaires (voir B) et les approches non vasculaires (voir C).

A. Modèles *in vitro*

Les modèles *in vitro* disponibles pour l'étude de l'AVC ischémique sont peu variés, mais ils restent communément utilisés. La situation complexe de l'AVC ischémique peut difficilement être modélisée dans un système *in vitro* avec des cellules uniques ou des morceaux de tissu cérébral en l'absence de vaisseaux sanguins intacts et de flux sanguin, ainsi que d'infiltration de leucocytes. Néanmoins, les modèles *in vitro* permettent d'étudier des mécanismes biochimiques et moléculaires fondamentaux spécifiques dans des conditions de déficit énergétique similaires à celles de l'ischémie. Ils offrent également la possibilité d'effectuer des analyses à haut débit, ce qui est intéressant pour tester de nouveaux produits pharmaceutiques potentiellement neuroprotecteurs (Sommer 2017).

Un nombre conséquent de modèles *in vitro* comprennent une co-culture de différents types de cellules, comme les astrocytes, les cellules endothéliales, les neurones et les autres cellules gliales, ce qui permet de reproduire certaines propriétés de la BHE et d'étudier les interactions cellulaires dans des conditions ischémiques (Yang, Shah, Abbruscato 2012). D'autres modèles *in vitro* utilisent des cultures primaires prélevées sur le tissu cérébral des animaux ou des humains (coupes de

cerveaux la plupart du temps). Ces cultures peuvent être utiles pour étudier les effets de différents traitements sur des éléments spécifiques du cerveau, tels que les neurones du cortex cérébral (Baik et al. 2015).

Globalement, il existe deux façons principales d'induire des événements similaires à l'ischémie à l'extérieur d'un organisme vivant : soit la privation d'oxygène et de glucose (le plus fréquemment utilisé), soit le blocage chimique ou enzymatique du métabolisme cellulaire. Pour engendrer un déficit en oxygène et en glucose, l'atmosphère de l'incubateur contenant les cellules cultivées ou les tranches de cerveau est échangée : le milieu normal équilibré en O₂/CO₂ est remplacé par un milieu équilibré en N₂/CO₂ dans une chambre hypoxique, sans glucose dans le milieu, pendant 1 à 24 heures. En effet, par rapport aux modèles *in vivo*, il faut généralement un épisode plus long de carence énergétique pour induire la mort neuronale (Goldberg, Choi 1993). La modélisation de l'ischémie-reperfusion peut ensuite être réalisée par un retour aux conditions de culture standard. De plus, un aspect particulier de la cascade ischémique est l'excitotoxicité, résultant d'une augmentation du glutamate avec une suractivation consécutive des récepteurs du glutamate. Les modèles *in vitro* permettent une analyse isolée de cette composante spécifique en exposant la culture au glutamate ou à d'autres agonistes excitateurs spécifiques des récepteurs (Choi 1993).

Ainsi, ces modèles *in vitro* présentent un certain nombre d'avantages, car ils permettent aux chercheurs de modéliser certains aspects spécifiques de l'AVC ischémique et d'étudier directement les comportements cellulaires, ce qui peut aider à comprendre les différences de réactions à l'AVC entre les espèces et ainsi aider à faciliter la transposition des résultats *in vivo* obtenus sur animal à l'Homme. Cependant, les études *in vitro*, aussi importantes soient-elles, doivent être combinées avec des études *in vivo* pour obtenir une image complète de l'ischémie chez l'homme (Barthels, Das 2020; Sommer 2017).

Enfin, aucun de ces modèles n'est adapté à l'étude de la régénération et de la reconstruction tissulaire, car il n'est pas encore possible de les maintenir *in vitro* sur une durée suffisamment longue pour que ce soit réalisable.

B. Méthodes vasculaires *in vivo*

Les méthodes vasculaires sont les plus utilisées dans les modèles expérimentaux d'AVC ischémique. Ils impliquent généralement l'occlusion d'une artère cérébrale et

peuvent être transitoires ou permanents, ces derniers étant plus représentatifs de la réalité clinique d'un AVC ischémique, la reprise de la circulation normale n'étant que très peu observée en pratique clinique (McBride, Zhang 2017).

1. Localisation de l'occlusion artérielle et aspect pratique

L'artère cérébrale moyenne (ACM) et ses branches sont les vaisseaux cérébraux les plus souvent touchés dans les AVC ischémiques humains, représentant environ 70 % des infarctus (Bogousslavsky, Van Melle, Regli 1988). Les techniques impliquant l'occlusion de l'ACM sont donc les plus proches de l'AVC ischémique humain. C'est pour cette raison que l'ACM est le vaisseau le plus souvent occlus dans les modèles de rongeur et de PNH. C'est un vaisseau cérébral majeur qui irrigue les cortex latéraux, frontaux, pariétaux et temporaux, ainsi que les noyaux de la base et la capsule interne. Cette artère peut être classée en quatre segments à partir de la bifurcation terminale de l'ACI jusqu'aux territoires corticaux irrigués : M1' (segment sphénoïdal), M2 (segment insulaire), M3 (segment operculaire) et M4 (segments corticaux). Ainsi, l'occlusion de l'ACM produit des syndromes d'AVC significativement différents en fonction de l'endroit où elle se produit, l'occlusion du segment proximal M1 étant à l'origine de lésions ischémiques beaucoup plus sévères (larges lésions corticales et sous-corticales) car elle interrompt le flux sanguin dans l'ensemble du territoire de l'ACM (Marshall, Ridley 1996).

Bien que l'occlusion de l'ACM reste la plus répandue, notamment dans les modèles rongeurs et PNH de l'AVC ischémique, l'occlusion peut également être réalisée au niveau des autres artères cérébrales : (1) l'artère cérébrale antérieure (ACA) (large atteinte antérieure, lésions sévères), (2) l'artère choroïdienne antérieure (atteinte de la capsule interne), (3) les artères lenticulostrées latérales, branches de M1' (atteinte des noyaux de la base et de la capsule interne) (Sommer 2017). Néanmoins, ces modèles sont utilisés pour induire des types d'AVC particuliers dans des régions ciblées, et ne sont que peu fréquemment utilisés en pratique, n'étant pas les plus représentatifs de l'AVC ischémique humain.

Comme énoncé dans une partie précédente, la circulation cérébrale collatérale du singe est très développée, beaucoup plus que chez l'Homme, pouvant limiter les lésions ischémiques consécutives aux modèles vasculaires chez les PNH. Or, pour tenter de pallier ce phénomène et limiter les variabilités inhérentes à la collatéralisation spécifique, des méthodes ont été décrites pour réduire le flux sanguin collatéral comme

la technique de l'« occlusion des trois vaisseaux » (occlusion bilatérale des ACA en plus du vaisseau visé) ou la réalisation d'une occlusion plus distale pour limiter l'influence des collatérales. (Cook, Tymianski 2012; Huang et al. 2000). Néanmoins, en pratique, ces techniques sont tout de même peu réalisées, certains préférant la réalisation de méthodes non vasculaires en alternative.

2. Méthodes d'occlusion extraluminale

L'induction d'une ischémie cérébrale focale peut être réalisée par l'occlusion extraluminale de l'artère cérébrale visée, nécessitant un accès direct à cette artère. Une des méthodes extraluminales la plus communément utilisée est l'occlusion directe de l'ACM par la réalisation d'une ligature ou par le biais de clips chirurgicaux (Cook, Tymianski 2012; Roitberg et al. 2003). Par ce biais, l'occlusion peut être transitoire ou permanente, en fonction du retrait ou non des mécanismes d'occlusion, permettant aussi l'étude des mécanismes de reperfusion si souhaité. Cette technique est largement utilisée dans les modèles AVC de rongeurs ou de PNH. Pour réaliser cette occlusion extraluminale, d'autres études s'intéressent à l'utilisation d'un ballonnet, placé autour de l'artère visée lors d'une procédure chirurgicale et pouvant être gonflé à posteriori, sur des animaux vigils, puis dégonflé au besoin. Une étude a notamment testé cette technique sur des babouins (Del Zoppo et al. 1986).

Une autre technique extraluminale d'occlusion artérielle assez communément décrite est l'électrocoagulation. Elle consiste à exposer l'ACM ou tout autre artère visée chirurgicalement et à brûler la région correspondante avec des électrodes de manière à occlure les vaisseaux sanguins et à provoquer un infarctus cortical ou sous-cortical dans la zone d'alimentation vasculaire. L'occlusion réalisée par cette méthode est permanente et n'est donc pas applicable à la recherche sur les mécanismes de reperfusion ou sur la thérapie thrombolytique (Tsuji et al. 2013; Zeng et al. 2023). Cette méthode est utilisée chez la souris, et a également été utilisée dans les premiers modèles marmousets de l'AVC ischémique focal (Marshall, Ridley 1996), bien qu'elle semble parfois mener à une occlusion non complète.

Enfin, l'endothéline-1, un peptide aux propriétés vasoconstrictrices puissantes et durables, peut également être utilisée comme méthode d'occlusion extraluminale transitoire dans les modèles d'AVC ischémique (Yanagisawa et al. 1988). En effet, l'application sur un vaisseau exposé dans ce cas-là (mais injection possible aussi à la surface du cerveau ou dans le parenchyme cérébral) entraîne une vasoconstriction

induisant une ischémie en aval (Fluri, Schuhmann, Kleinschnitz 2015). En fonction de la concentration d'endothéline-1, la gravité et la durée de l'ischémie ainsi que la taille de l'infarctus qui en résulte peuvent être variables. L'occlusion induite par l'endothéline-1 est en revanche transitoire, car lorsque son effet s'atténue, le flux sanguin est progressivement rétabli, et la durée de l'occlusion induite ne peut pas être prédite. De plus, très peu d'œdème est provoqué par ce modèle, contrairement aux lésions induites par l'AVC ischémique chez l'Homme (Schirrmacher et al. 2016). De plus, il a été démontré que l'application d'endothéline-1 induit la prolifération de l'astroglie, produisant un milieu permissif pour la croissance axonale, ce qui peut interférer avec les mécanismes de récupération post-AVC (Carmichael 2005). Ce modèle a été développé chez le rat puis modifié pour être utilisé chez la souris, puis chez le marmouset.

Toutes ces approches extraluminales directes permettent d'induire une ischémie qui peut être transitoire ou permanente en fonction des techniques utilisées, avec des répercussions proches de celles de l'AVC humain pour certains modèles (pénombre ischémique, lésion de la BHE, processus inflammatoire et mort cellulaire). De plus, l'approche extraluminale est associée à des taux de survie importants et permet une confirmation visuelle directe du succès de la procédure. Néanmoins, ces méthodes sont hautement invasives car elles nécessitent un abord chirurgical, par craniotomie la plupart du temps ou par voie transorbitale (Cook, Tymianski 2012). Cette dernière méthode, bien qu'efficace, requiert soit la destruction de la machoire, soit l'énucléation d'un œil, et au-delà de l'aspect invasif de cette procédure, limite la prise alimentaire ou les tests comportementaux *a posteriori*, qui requièrent une vision binoculaire intacte. De plus, la craniectomie avec incision de la dure-mère peut induire de l'inflammation, et le cerveau est exposé à l'atmosphère, affectant la pression et la température intracrânienne. La récupération post-chirurgie est également plus longue. Tous ces éléments peuvent impacter les interprétations par la suite. Par ailleurs, ces types de modèles ne permettent pas de reproduire les effets d'une thromboembolie ou d'une thrombolyse, et nécessitent une anesthésie générale. Les conséquences physiopathologiques restent donc plutôt éloignées de la réalité de l'AVC ischémique chez l'homme, même si ces modèles, avec leurs multiples variantes, sont tout de même couramment utilisés chez de nombreuses espèces, dont les PNH, pour étudier certains aspects spécifiques (Hossmann 2012).

3. Méthodes d'occlusion intraluminale

Les méthodes d'occlusion intraluminale sont généralement moins invasives que les méthodes extraluminales, car elles ne nécessitent pas d'intervention chirurgicale lourde au niveau du crâne. Au lieu de cela, les embolies sont insérées dans une artère accessible, puis guidées vers le vaisseau cible (le plus souvent l'ACM). Il existe un certain nombre de modèles différents.

Tout d'abord et de manière la plus répandue, l'occlusion peut être réalisée mécaniquement et être transitoire ou permanente, notamment par l'insertion d'adhésif cyanoacrylate, de fil de nylon (avec silicone ou non), de sutures en soie, de sphères de polystyrène (Wu et al. 2018), de microcathéters (de Crespigny et al. 2005), ou de ballonnets intraluminaux (Gao et al. 2006). Pour une occlusion mécanique permanente, les premières études réalisées par le biais de cette méthode intraluminale ont en effet utilisé de l'adhésif cyanoacrylate comme embolie, injecté dans la branche distale de l'ACM, mais elles ont rapporté une grande variation dans la taille de l'infarctus et une mortalité plutôt élevée (D'Arceuil et al. 2006). Puis, afin de restreindre le site d'occlusion, des études ultérieures ont obstrué différentes sections de l'ACM (majoritairement distales) et de la vascularisation collatérale chez le PNH à l'aide de sutures en soie, ayant permis d'induire avec succès un infarctus cortical reproductible et approprié, avec des déficits neurologiques quantifiables (Tong et al. 2015; Zhang et al. 2015). Cette méthode de filament/suture intravasculaire est à l'heure actuelle couramment utilisée et l'occlusion peut être transitoire si la suture est retirée. Elle a été réalisée chez le marmouset pour la première fois en 2007 avec du fil de nylon inséré dans l'ACI et avancé jusqu'à l'ACM, avec succès (Freret et al. 2008). Par ailleurs, l'injection de sphères emboliques constitue une approche alternative pour le développement de modèles occlusifs permanents. Une étude a en effet testé d'injecter des sphères de polystyrène de différents diamètres dans l'ACI de singes *cynomolgus* afin d'induire une ischémie focale et a constaté que les lésions et déficiences neurologiques engendrées étaient proportionnelles au diamètre des sphères, explicable par la migration plus distale des sphères de plus petit diamètre (Cook, Teves, Tymianski 2012). Or, il n'est pas possible de contrôler le site d'occlusion et de récupérer les sphères dans ces modèles, ce qui engendre des occlusions permanentes, comme avec l'adhésif. Les modèles d'occlusion mécanique transitoire, quant à eux, font souvent intervenir un outil récupérable tel qu'un microcathéter ou un ballonnet gonflable, ou une micro-bobine. Or, dans ces modèles d'occlusion

transitoire, la recanalisation se produit immédiatement après le retrait de l'embolie, contrairement à la reperfusion progressive observée en pratique clinique chez les patients victimes d'un AVC quand elle a lieu. Un des inconvénients majeurs de l'occlusion mécanique est qu'elle peut causer des lésions endothéliales avant même la mise en place de l'occlusion. Néanmoins, cette méthode a tout de même de nombreux avantages et est largement utilisée pour produire des déficits chroniques sur les modèles rongeurs et PNH d'AVC ischémique (Wu et al. 2018).

L'occlusion vasculaire peut également être réalisée par thromboembolie grâce à l'introduction de caillots sanguins dans l'artère cérébrale cible, dans l'ACI ou par microcathétérisme dans l'ACM. Cette méthode reproduit fidèlement la pathogenèse des patients atteints d'AVC et présente un potentiel d'étude pour le traitement par thrombolyse (Wu et al. 2018). Dans les modèles thromboemboliques, le caillot sanguin peut être obtenu à partir de matériel thrombotique formé spontanément ou induit par la thrombine, le plus souvent à partir de sang autologue, mais aussi hétérologue (Durukan, Tatlisumak 2007). En fonction de la taille et du nombre de caillots ainsi que de la voie d'application, cela provoquera une occlusion plus ou moins conséquente dans le territoire visé. Il est également possible d'injecter directement de la thrombine dans l'ACI ou l'ACM pour simuler une occlusion vasculaire (*in situ* ou par cathétérisme). Cependant, la composition du caillot diffère considérablement de celle des humains puisqu'il se compose principalement de fibrine avec seulement quelques cellules qui peuvent influencer la thrombolyse (Orset et al. 2007; Sommer 2017). Or, l'inconvénient de ces modèles de thromboembolie est la variabilité considérable obtenue dans la localisation et la taille de l'infarctus induit, venant principalement de la difficulté à prédire avec certitude la zone d'occlusion finale du fait d'une migration importante des caillots sanguins ; ainsi que la reperfusion (Wu et al. 2018). Cependant, la physiopathologie de l'AVC embolique dans le modèle animal (PNH, rongeurs) correspond ici parfaitement à celle de l'AVC embolique chez l'homme en matière de pathogenèse de l'occlusion vasculaire cérébrale et d'ischémie focale (oedème cytotoxique et vasogénique, rupture de la BHE, pénombre, dépressions étendues, inflammation). Cela permet donc d'obtenir un modèle fidèle et d'étudier notamment les thérapies de thrombolyse (Wu et al. 2018).

Le modèle d'AVC photothrombotique (ou photochimique) a été principalement développé chez les rats (disponible chez la souris aussi) et consiste en l'injection systémique (IV ou intrapéritonéale) d'un colorant photosensible comme le Rose

Bengale, suivi d'une irradiation laser de la zone du cerveau visée à travers le crâne intact avec une longueur d'onde spécifique. Cette irradiation active alors le colorant, causant ainsi des lésions oxydatives majeures par la libération d'espèces réactives de l'oxygène, provoquant ensuite des lésions endothéliales, ainsi que l'activation et l'agrégation des plaquettes, menant à l'occlusion vasculaire. Cela provoque une mort cellulaire ischémique évoluant rapidement dans la zone cérébrale éclairée vers les régions artérielles terminales, conduisant finalement à une lésion ischémique corticale (Sommer 2017). Les avantages de ce modèle sont la possibilité de cibler une région corticale spécifique du cerveau pour l'induction de la lésion ischémique focale, sa grande reproductibilité (variation minimale de la taille de l'infarctus), ainsi que sa très faible mortalité, faisant ainsi de lui un modèle prédestiné pour étudier les mécanismes de réparation et les résultats fonctionnels à long terme qui en découlent (Frauenknecht et al. 2016; Sommer 2017). Néanmoins, des divergences importantes existent par rapport à la situation de l'AVC humain aigu, notamment par la cinétique des phénomènes induits, très rapides dans ce modèle, mais également par l'absence quasi-totale de pénombre et de flux sanguin collatéral. Ainsi, étant donné que la pénombre ou le tissu à risque est la cible principale de toute thérapie neuroprotectrice de la phase aiguë, l'impact translationnel de ce modèle reste faible. Des modifications du modèle classique ont été développées pour palier à ces différences (« modèle en anneau » pour obtenir un semblant de pénombre), mais restent pour le moment limitées (Sommer 2017; Wester et al. 1995).

Enfin, de manière à dépasser les limites des modèles actuels, de nouveaux modèles d'ischémie cérébrale sont en train d'émerger. Par exemple, certains chercheurs étudient l'application topique de chlorure de fer (FeCl_3) dans l'ACM comme moyen d'induire une ischémie cérébrale par formation d'un thrombus chez les rongeurs. La formation d'un thrombus par application de chlorure de fer sur un vaisseau sanguin est un phénomène utilisé depuis de nombreuses années déjà dans la recherche anti-thrombotique (Kurz, Main, Sandusky 1990), mais son application à la modélisation d'une ischémie cérébrale n'a été suggérée que récemment. Un nouveau modèle expérimental d'ischémie cérébrale focale a donc été étudié, dans lequel le FeCl_3 est appliqué topiquement via du papier filtre imbibé sur le tronc de l'ACM distale. Cette étude montre des résultats encourageants, avec l'induction d'un infarctus de petite taille et reproductible, sans provoquer d'œdème, d'inflammation ou de dommages excessifs, ni de mortalité élevée (Kurz, Main, Sandusky 1990; Zeng et al. 2023). De plus, l'utilisation de l'induction de lésions endothéliales pour modéliser

une ischémie cérébrale est également en essor, par des méthodes variées (notamment par expansion d'un ballonnet intravasculaire), le but étant d'induire une sténose par lésion intimale. Or, bien que ces méthodes soient simples et peu coûteuses, les résultats sont souvent aléatoires, ce qui fait qu'elles ne sont que peu utilisées en pratique (Zeng et al. 2023).

Pour l'ensemble de ces modèles intravasculaires, l'accès intra-artériel chirurgical pour effectuer l'occlusion intraluminale est souvent obtenu par l'artère fémorale (AF), une approche rapportée dans plusieurs modèles de PNH de l'AVC (Cook, Teves, Tymianski 2012). Chez les marmousets (Freret et al. 2008) et les macaques (Gao et al. 2006), l'accès intra-artériel par l'artère carotide externe (ACE) est possible après incision de la ligne médiane du cou pour exposer cette dernière. Une fois l'accès intra-artériel obtenu, les emboles sont soigneusement insérés puis avancés pour occlure l'artère concernée, le plus souvent l'ACM. Les cathéters pour l'administration des emboles peuvent être guidés par fluoroscopie pour un meilleur contrôle.

Ainsi, ces différentes méthodes vasculaires intraluminales sont variées et présentent de nombreux avantages, notamment celui d'être moins invasives que les extraluminales, mais aussi celui d'un potentiel translationnel important pour certaines techniques.

C. Méthodes non vasculaires *in vivo*

Il existe un certain nombre de méthodes non vasculaires *in vivo* permettant la modélisation de l'AVC ischémique. Plus précisément, ces méthodes induisent généralement des lésions focales de volume et de localisation moins variables que celles induites par l'occlusion artérielle des méthodes vasculaires. Cela permet une reproductibilité intéressante, avec un meilleur contrôle sur la zone et les territoires lésés. Les méthodes non vasculaires les plus communément utilisées vont être présentées ici.

1. Injection intracorticale d'acide malonique ou malonate

L'acide malonique ou malonate est un acide dicarboxylique à trois carbones connu pour être un inhibiteur compétitif de la succinate déshydrogénase (Kim 2002). Cette enzyme, aussi appelée complexe II de la chaîne respiratoire, est une oxydoréductase présente dans la membrane interne de la mitochondrie qui participe

au transfert d'électron de la phosphorylation oxydative ainsi qu'au catabolisme du succinate dans le cycle de Krebs (Brière et al. 2005; Hederstedt, Rutberg 1981). C'est donc une enzyme essentielle pour la bonne réalisation de la respiration mitochondriale, nécessaire au bon fonctionnement cellulaire. Le malonate est une excitotoxine qui se lie au récepteur localisé au niveau de la sous-unité catalytique A de l'enzyme (SDHA), bloquant ainsi l'oxydation du succinate en fumarate et interrompant la respiration mitochondriale.

L'utilisation de cette toxine a déjà fait l'objet de plusieurs études et elle a notamment été utilisée pour produire des lésions striatales chez le rat (Henshaw et al. 1994; Schulz et al. 1998). Plusieurs équipes ont par la suite utilisé ce modèle de lésion striatale induite par le malonate pour explorer des pistes de traitements potentiellement neuroprotecteurs contre les effets du stress oxydatif (Barros-Miñones et al. 2013; Morland et al. 2004). Le mécanisme de cette toxine est donc bien connu et largement documenté. Il a en effet été décrit que la mort cellulaire induite par l'injection de malonate dans les tissus proviendrait d'un ensemble de mécanismes suite à son entrée dans les cellules et à sa fixation sur la succinate déshydrogénase : déficit énergétique consécutif à la perturbation de la respiration cellulaire, stress oxydatif et activation des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) résultante (excitotoxicité), dépolarisation cellulaire, activation retardée des caspases et mort cellulaire par apoptose consécutive (Fernandez-Gomez et al. 2005 ; Schulz et al. 1998 ; Henshaw et al. 1994). Ainsi, même si tous les mécanismes exacts par lesquels le malonate induit une toxicité restent encore incertains, on sait que ceux largement décrits à l'heure actuelle sont des effets aigus connus de l'AVC ischémique (Ding et al. 2025 ; Soldatov et al. 2024 ; Dirnagl, Iadecola, Moskowitz 1999). Cela fait donc de l'injection de malonate un modèle focal plutôt adapté à cette pathologie, bien que cela ne reproduise pas la composante vasculaire.

L'injection intracérébrale de malonate pour induire une lésion focale du cortex moteur primaire M1 a été initialement développée comme modèle de lésion cérébrale focale mimant un AVC ischémique chez le rat au sein de l'équipe iDREAM de l'unité ToNIC (L. Vaysse et al. 2015). Ce modèle a ensuite été transposé et adapté au sein de la même équipe chez le marmouset (Le Friec et al. 2021). Cette étude chez le marmouset en fait la première à utiliser le malonate chez le primate. Dans l'intervalle, le malonate a été utilisé pour induire une lésion focale de la capsule interne chez le rat, toujours au sein de l'équipe iDREAM (Cirillo et al. 2018). La procédure est simple,

non létale et entraîne une déficience fonctionnelle de longue durée, permettant de tester de nouvelles stratégies thérapeutiques dans la phase chronique de l'ischémie. Les études menées par l'équipe ont montré que les lésions induites par le malonate constituent un modèle valable pour tester l'innocuité et l'efficacité des stratégies thérapeutiques basées notamment sur les cellules souches et la greffe d'implants régénérateurs (voir partie VI).

Ainsi, ce modèle a la particularité d'être focal et d'induire une lésion cérébrale mimant les effets d'un AVC, sans la composante vasculaire. Il permet également de cibler la zone à léser, son étendue, et de créer des lésions d'ischémie et des déficits fonctionnels durables, ce qui constitue un réel avantage dans la recherche sur les stratégies thérapeutiques dans la phase chronique de l'AVC ischémique. C'est ce modèle qui a été utilisé dans l'étude ayant donné lieu à cette thèse.

2. Injection intracorticale d'acide iboténique

Une autre méthode non vasculaire d'induction de lésions corticales focales est l'utilisation d'acide iboténique. Il s'agit d'un analogue de l'acide glutamique, qui va se fixer de manière non sélective sur les récepteurs du glutamate et détruire les corps cellulaires des neurones tout en épargnant les axones. Son action neurotoxique a été évaluée dans le cerveau du rat il y a de cela plusieurs années, et comparée à d'autres acides, moins efficaces et plus toxiques (Schwarcz et al. 1979). Cette excitotoxine a également permis de générer avec succès des lésions focales du cortex moteur primaire chez le macaque après injection intracorticale, par la réalisation de plusieurs injections répétées sur une période de temps donnée, permettant la bonne diffusion de la toxine et donc l'extension de la lésion (Murata et al. 2008). Dans ce modèle, les lésions du cortex moteur primaire ont été associées à des atteintes corticobulbaires (nombre de fibres) et prémotrices (nombre de neurones couche V), mais les déficits engendrés étaient relativement modérés, et la récupération de la dextérité s'est faite en 1 à 2 mois (Murata et al. 2008; 2015). Plus récemment, l'acide iboténique a été utilisé pour générer des lésions corticales afin de tester une thérapie par anticorps anti-Nogo-A (promouvant la croissance des neurites) chez le macaque (Fregosi et al. 2018). Cependant, un inconvénient majeur de l'acide iboténique par rapport au malonate est qu'il ne fait que reproduire les événements excitotoxiques, omettant la phase de stress oxydatif précédente, importante dans la physiopathologie de l'AVC ischémique.

3. Injection intracorticale d'endothéline-1

Comme expliqué dans les méthodes vasculaires, l'endothéline-1 est un peptide aux propriétés vasoconstrictrices puissantes et durables. Bien qu'elle soit le plus souvent appliquée à la surface d'une artère cible telle que l'ACM, l'endothéline-1 a également été utilisée dans des expériences d'injection intracorticale. Une étude menée chez le rat a comparé quatre méthodes différentes d'induction d'une ischémie focale avec l'endothéline-1 : (1) l'application topique, (2) l'injection intracorticale au niveau de la région corticale motrice responsable du mouvement des membres thoraciques, (3) la combinaison d'injections intracorticales et intrastriales et, enfin, (4) l'injection à proximité de l'ACM (Windle et al. 2006). C'est la 3^{ème} méthode qui s'est avérée la plus efficace pour produire des déficits comportementaux durables. De plus, l'endothéline-1 a été utilisée par injection intracorticale pour provoquer des lésions ischémiques dans le cortex visuel de marmousets (Teo, Bourne 2014), ainsi que par injection stéréotaxique dans la capsule interne comme modèle d'AVC lacunaire chez le rat, avec cependant une mortalité variable en fonction des auteurs (Blasi, Whalen, Ayata 2015; Frost et al. 2006). Elle peut donc constituer un modèle intéressant de lésion ischémique cérébrale focale, mais les méthodes disponibles restent variées et les résultats pas toujours satisfaisants. L'expérience de l'endothéline-1 de l'équipe iDREAM s'est quant à elle avérée infructueuse, puisqu'aucune lésion n'a été obtenue.

4. Résection corticale par aspiration sous-piale et électrocoagulation

D'autres méthodes un peu moins répandues de modélisation d'une ischémie focale sont également disponibles et ont fait l'objet de quelques études. Certains auteurs décrivent l'utilisation de la résection corticale par aspiration sous-piale des zones motrices corticales chez des macaques, avec électrocoagulation pour contrôler les saignements (Darling et al. 2014; McNeal et al. 2010). Cette méthode permet un contrôle total de l'emplacement et de la taille de la lésion et est notamment utile pour étudier les contributions des différentes régions cérébrales au contrôle moteur ainsi qu'aux processus de plasticité post-lésionnels. Un des inconvénients de ce modèle est qu'il est plutôt éloigné de la situation de l'AVC ischémique chez l'Homme, ce qui fait qu'il est peu utilisé dans ce domaine, mais il a contribué à la compréhension des réorganisations corticales chez le macaque, un PNH.

VI. Axes de recherche sur les thérapies régénératrices en phase chronique de l'AVC ischémique

A l'heure actuelle, de nombreux axes thérapeutiques sont explorés pour permettre une meilleure prise en charge des patients ayant été victimes d'un AVC. Le véritable enjeu se trouve dans la mise en place de stratégies thérapeutiques ciblant la phase chronique de l'AVC, ce qui fait réellement défaut à l'heure actuelle. En effet, les stratégies thérapeutiques actuellement validées et utilisées en pratique clinique ne concernent que la phase aiguë de l'AVC ischémique. La rééducation est la seule méthode actuellement utilisée en phase chronique.

L'enjeu de la recherche de cette phase chronique est donc essentiellement la mise en place de thérapies régénératives pour promouvoir la réparation tissulaire des zones ischémiques et ainsi améliorer la récupération fonctionnelle de manière à ce que les patients puissent retrouver une autonomie motrice plus rapidement et plus efficacement qu'avec la seule rééducation. Pour cela, les principales stratégies thérapeutiques étudiées sont celles axées sur l'implantation de biomatériaux et sur la transplantation de cellules souches dans la zone cérébrale lésée. Et au cours des dernières années, l'intérêt pour ces différentes stratégies thérapeutiques s'est considérablement accru.

A. Transplantation de cellules souches

1. Généralités

Une des premières méthodes étudiées pour promouvoir la reconstruction tissulaire et la récupération motrice après un AVC ischémique est la transplantation de cellules souches dans les zones ischémiques. C'est une méthode qui est étudiée depuis de nombreuses années, sur modèles animaux et sur patients AVC.

Les cellules souches possèdent deux propriétés fondamentales qui les rendent potentiellement bénéfiques après un AVC ischémique : (1) leur capacité à remplacer les cellules perdues pendant l'ischémie-reperfusion (mécanisme de remplacement), et (2) la sécrétion de nombreuses protéines et cytokines, pouvant fournir un environnement favorable à la récupération (mécanisme paracrine) (Hurd et al. 2021; Salikhova et al. 2021). De nombreux types cellulaires ont déjà été étudiés pour cette transplantation, et en particulier les cellules souches mésenchymateuses (CSM) dérivées de la moelle osseuse ou les cellules souches neurales (CSN), mais

également les cellules mononucléaires de la moelle osseuse, les cellules souches de la pulpe dentaire, les cellules souches pluripotentes inducibles et les cellules souches génétiquement modifiées (Suda et al. 2020; Hurd et al. 2021).

Globalement, tous ces types cellulaires se sont révélés capables d'améliorer les résultats neurologiques et en particulier la récupération fonctionnelle dans les modèles animaux d'AVC. Une méta-analyse a en effet démontré que la transplantation de cellules souches mésenchymateuses ou de moelle osseuse semblerait améliorer les déficits neurologiques et la qualité de vie des patients (rat et Homme) ayant subi un AVC ischémique, sans effets indésirables graves (Ouyang et al. 2019). De plus, plusieurs essais de thérapies par cellules souches mésenchymateuses dans ce contexte suggèrent qu'elle est faisable, sûre et qu'elle peut favoriser la récupération chez les victimes d'un AVC ischémique (Hurd et al. 2021). Cependant, les essais cliniques chez l'Homme donnaient plutôt des résultats mitigés, avec la réalisation de transplantations plutôt sûres, mais de nombreux essais n'ont pas permis d'amélioration fonctionnelle, et les preuves de réels bénéfices de la transplantation de cellules souches chez l'Homme manquent encore (Boncoraglio et al. 2019). Or, des essais cliniques sont en cours pour continuer à évaluer leur efficacité chez l'Homme (Suda et al. 2020). C'est donc un axe thérapeutique qui semble prometteur et qui fait l'objet de plus en plus d'études depuis quelques années.

2. Etat des lieux des différents types cellulaires testés

De nombreux types cellulaires ont été testés dans les modèles d'AVC ischémique étudiant les bénéfices de la transplantation de cellules souches *in vivo*.

Cellules souches mésenchymateuses.

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM, le plus souvent dérivées de la moelle osseuse) ont de nombreux avantages : abondance relative, absence de problème éthique lié au prélèvement, absence de tumorigénicité, potentiel d'auto-renouvellement, facilement cultivables *in vitro*, faible immunogénicité (Suda et al. 2020; Hurd et al. 2021). En raison de ces facteurs et d'autres encore, ces CSM sont un des types principaux de cellules transplantables à l'étude pour le traitement des AVC ischémiques (Stonesifer et al. 2017). Leur effet bénéfique passe par un ensemble de facteurs : transfert de leur mitochondrie dans les cellules endothéliales lésées, réduction des facteurs de nécrose tumorale, sécrétion de nombreuses cytokines stimulant la neurogenèse endogène, potentiel de différenciation en cellules locales

(neurones, glie et cellules endothéliales) (Hurd et al. 2021), quoique leur potentiel neurogénique reste très faible à non efficace *in vivo*. Dans l'ensemble, plusieurs études confirment l'innocuité des CSM dérivées de la moelle osseuse pour la transplantation chez les patients ayant subi un AVC ischémique, bien que l'efficacité thérapeutique reste controversée et que les résultats obtenus lors des essais cliniques restent inconstants. Par exemple, dans le seul essai clinique de phase III achevé (STARTING-2), la transplantation autologue IV de CSM n'a montré aucune amélioration statistiquement significative de l'échelle de Rankin modifiée après 90 jours, bien qu'une légère amélioration de la motricité des jambes ait été relevée (Chung et al. 2021). Néanmoins, cette étude sur de trop petites cohortes (< 50 patients) reste encore non convaincante. Or, dans un cas proche de l'AVC, le traumatisme crânien, et sur la base d'une étude bien construite avec un groupe contrôle (phase II), il a néanmoins été montré récemment pour la première fois l'efficacité de l'injection intracérébrale de cellules mésenchymateuses sur la récupération motrice à 6 mois post-traumatisme (Kawabori et al. 2021). D'autres études sont donc nécessaires pour une meilleure compréhension de la mise en pratique optimale de ces CSM comme thérapie post-AVC ischémique. Elles restent néanmoins les cellules souches les plus étudiées dans ce contexte.

Cellules souches neurales.

Les cellules souches neurales (CSN) peuvent être dérivées de plusieurs sources, notamment de cellules souches embryonnaires et de tissus fœtaux. Elles n'ont pas fait l'objet d'études aussi poussées que les CSM, principalement en raison de leur rareté et des problèmes éthiques liés à leur mode de prélèvement sur fœtus (Zhang, Zhu, Wang 2019). Malgré cela, les CSN ont un potentiel pour le traitement de l'AVC ischémique par leurs différentes propriétés : capacité de différenciation en neurones, astrocytes et oligodendrocytes en fonction du microenvironnement local dans le tissu cérébral (régulation des signaux exogènes), préservation de la BHE, amélioration de l'inflammation, stimulation de la neurogenèse et de l'angiogenèse ; permettant une amélioration de la récupération fonctionnelle observable lors des essais précliniques (Zhang, Zhu, Wang 2019; Boese et al. 2018). Cela leur confère un potentiel à la fois pour le remplacement des cellules et les mécanismes paracrines, à l'instar des CSM. Étant donné le manque d'études pertinentes, peu d'essais cliniques ont été réalisés avec les CSN ; cependant, ceux de petite taille réalisés jusqu'à présent ont été prometteurs et encourageants (Hurd et al. 2021; Kalladka et al. 2016; Muir et

al. 2020). Un essai clinique récent de phase IIb (PISCES-3), portant sur environ 130 patients a montré pour l'instant qu'après une injection intracérébrale, les scores de l'échelle de Rankin modifiée semblaient améliorés après la chirurgie et à 6 mois post-traitement (Suda et al. 2020; Laskowitz et al. 2023). Nous n'en sommes cependant pas encore aux essais cliniques de phase III de grande envergure, qui devront être menés à l'avenir.

Cellules mononuclées de la moelle osseuse.

Les cellules mononuclées de la moelle osseuse (CMN) comprennent une population de monocytes, lymphocytes, cellules souches mésenchymateuses et hématopoïétiques, et de cellules progénitrices hématopoïétiques et endothéliales (Suda et al. 2020). Elles ont l'avantage de pouvoir être prélevées de manière autologue juste avant l'administration, ce qui pourrait être avantageux dans le cadre de soins cliniques aigus. La justification expérimentale de l'utilisation des CMN dans le traitement de l'AVC comprend un certain nombre de mécanismes d'action : modulation de l'inflammation locale et systémique, stimulation de l'angiogenèse et de la neurogenèse endogène, différenciation en de nombreux types de cellules qui facilitent les processus de réparation cellulaire, sécrétion de facteurs neurotrophiques de la phase aiguë à la phase chronique après l'AVC (Kamiya et al. 2014; 2008). Quelques études ont montré un réel intérêt à l'utilisation des CMN. Par exemple, une étude a rapporté que la perfusion IV de CMN autologues 7 à 10 jours après le début de l'AVC était une thérapie sûre et faisable qui a conduit notamment à une amélioration de la récupération fonctionnelle et à une augmentation du flux sanguin cérébral et du métabolisme chez les patients ayant subi un AVC avec une ischémie sévère (score NIHSS ≥ 10 au 7ème jour après l'AVC) (Taguchi et al. 2015). Cependant, un essai clinique randomisé multicentrique de phase II a démontré que la perfusion IV de CMN autologues 18,5 jours en moyenne après le début de l'AVC était sûre, mais n'a pas observé d'effet bénéfique du traitement sur les résultats de l'AVC (Prasad et al. 2014). Par ailleurs, la plus grosse étude connue à ce jour menée sur 129 patients n'a également montré aucune amélioration neurofonctionnelle à 90 jours post-AVC après administration de CMN, bien que cette dernière ait été sûre et bien tolérée par les patients (Hess et al. 2017). Il n'est donc encore pas connu à ce jour si une transplantation précoce de MNC peu après le début de l'AVC (ayant une action anti-inflammatoire) pourrait être plus efficace pour favoriser la récupération. Comme les CMN présentent l'avantage particulier d'une transplantation autologue (aiguë ou

chronique), de nombreux facteurs inhérents aux patientx pourraient influencer à la fois la susceptibilité de ces derniers et la fonctionnalité des greffes de MNC, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour s'en assurer (Suda et al. 2020).

Cellules souches de la pulpe dentaire.

Les cellules souches de la pulpe dentaire (CSPD) humaines sont des cellules souches issues de la lignée neuronale qui résident dans les niches périvasculaires de la pulpe dentaire (Nosrat et al. 2004). Elles peuvent être facilement obtenues comme déchets médicaux sans complications éthiques ou logistiques (Pierdomenico et al. 2005). Elles ont de nombreux avantages dans l'utilisation thérapeutique post-AVC : très bonne prolifération *in vitro*, multipotentes, puissantes propriétés immunomodulatrices (effet paracrine), sécrétion de facteurs neurotrophiques favorisant la survie neuronale et les processus de neurogenèse, peu d'induction de tumeurs (Suda et al. 2020). Une étude antérieure a en effet montré que les CSPD humaines pouvaient potentiellement se différencier en cellules progénitrices neurales ou en neurones fonctionnels, qui peuvent s'intégrer à d'autres tissus cérébraux (Király et al. 2011). Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la transplantation de CSPD humaines est associée à des effets neuroprotecteurs et améliore la récupération fonctionnelle après une ischémie cérébrale *in vivo* (Suda et al. 2020). Cependant, davantage d'études scientifiques fondamentales sont nécessaires pour confirmer une méthode sûre et efficace pour leur transplantation après un AVC ischémique. Un essai clinique portant sur l'injection IV de ces cellules est d'ailleurs en cours chez le patient AVC (Suda et al. 2022).

Cellules souches pluripotentes induites.

Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC : induced Pluripotent Stem Cells) ont été créées pour la première fois en introduisant quatre facteurs de transcription dans des fibroblastes de souris (Takahashi, Yamanaka 2006). Elles peuvent constituer une source idéale de cellules pour la thérapie cellulaire, car elles peuvent être reprogrammées à partir de cellules somatiques ou sanguines de n'importe quel individu, et ont une capacité d'auto-renouvellement et une pluripotence illimitées, ce qui leur permet de se différencier en tous les types de cellules dérivées des trois couches germinales (endoderme, mésoderme et ectoderme) (Takahashi, Yamanaka 2006; Takahashi et al. 2007). Cela leur confère un avantage unique par rapport aux autres sources de cellules souches citées. Elles suscitent moins de controverses éthiques que les cellules souches embryonnaires (Suda et al. 2020).

Leurs effets bénéfiques comme thérapie cellulaire pour l'AVC ischémique résident dans différents modes d'action : sécrétion de facteurs trophiques ou d'immunomodulateurs (réduction de l'inflammation, soutien des tissus résiduels et amélioration de la régénération), formation de connexions avec les réseaux neuronaux de l'hôte, différenciation en neurones fonctionnels (Suda et al. 2020). Les iPSC ont été utilisées dans de nombreux modèles animaux d'AVC (rat, souris, porc), avec des résultats d'abord incohérents entre les différentes études, puis la découverte de la différenciation de ces cellules en cellules neuronales immatures et leur transplantation dans les cerveaux ischémiques de modèles d'AVC ont permis la réduction de l'inflammation et du volume de l'infarctus ainsi que l'amélioration des symptômes associés à l'AVC (Jiang et al. 2011; Oki et al. 2012; Jensen et al. 2013; Baker et al. 2017). Un des avantages majeurs des iPSC est leur potentiel illimité d'autorenouvellement et de pluripotence. Cette caractéristique permet de nombreuses possibilités thérapeutiques, mais l'autorenouvellement illimité est associé à un fort risque de tumorigénèse, et la pluripotence de ces cellules signifie qu'il est nécessaire d'identifier le type cellulaire optimal ou l'état de différenciation souhaité (Suda et al. 2020). La tumorigénicité est l'inconvénient majeur de ces iPSC, mais il est retrouvé uniquement lorsque ces cellules sont utilisées à l'état indifférencié, et n'est plus retrouvé lors de leur utilisation à l'état différencié (Kawai et al. 2010). Ainsi, l'évaluation de l'état de différenciation des iPSC, la détection et l'exclusion des cellules indifférenciées, et l'estimation de la tumorigénicité des cellules différenciées sont autant d'étapes nécessaires à l'obtention de résultats satisfaisants. Par conséquent, bien que les iPSC soient une source prometteuse pour la thérapie cellulaire, de nombreux obstacles doivent encore être surmontés (Suda et al. 2020).

Cellules souches génétiquement modifiées.

Enfin, l'utilisation de cellules souches génétiquement modifiées est une autre possibilité étudiée dans les différents modèles animaux d'AVC ischémique. Ces cellules souches agissent en effet comme des vecteurs de gènes tout en sécrétant divers facteurs neurotrophiques. Ainsi, de nombreuses études ont démontré que la transplantation de cellules souches génétiquement modifiées surexprimant divers facteurs de croissance ou cytokines, tels que le facteur neurotrophique issu du cerveau (BDNF), le facteur neurotrophique issu de la glie (GDNF), le facteur de croissance nerveuse (NGF), le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), le facteur de croissance hépatocytaire (HGF), le facteur de croissance placentaire (PIGF),

l'angiopoïétine-1 (ANG-1), l'érythropoïétine (EPO), l'IL-10 et la noggine, favorisait de manière significative la récupération fonctionnelle par rapport aux cellules souches non génétiquement modifiées dans des modèles expérimentaux d'AVC (Suda et al. 2020).

3. Voies d'administration

Il existe différentes voies d'administration pour la transplantation de ces cellules souches. Les plus courantes sont la voie intraveineuse (IV), la voie intra-artérielle (IA) et la voie intracérébrale ou intracrânienne (Hurd et al. 2021).

La transplantation IV est totalement non invasive et permet une circulation des cellules souches dans toute la vascularisation cérébrale pour répondre à l'ischémie cérébrale globale, bien que la capacité limitée à traverser la BHE et la survie limitée dans les zones ischémiques - nécessitant donc l'administration d'une quantité plus importante de cellules - représentent des inconvénients majeurs à cette voie d'administration (Wechsler et al. 2018; Carpenter et al. 2018). En effet, un essai clinique (MASTERS) a administré 1,2 milliard de cellules aux patients par voie IV, alors que les études intracrâniennes n'ont administré que 2 à 20 millions de cellules (Wechsler et al. 2018).

La transplantation IA présente notamment l'avantage de nécessiter un plus petit nombre de cellules et d'éviter l'accumulation dans les poumons et les organes immunitaires périphériques (Wechsler et al. 2018). Cependant, elle est invasive et peut entraîner des effets secondaires plus conséquents, comme c'était le cas dans une étude où elle a entraîné des taux de mortalité plus élevés en raison d'occlusions microvasculaires causées par l'agglutination des cellules transplantées (Carpenter et al. 2018). De plus, le franchissement de la BHE est également un élément important à considérer. De nombreuses études ont donc été menées sur la perméabilisation de la BHE pour améliorer l'administration de cellules souches transplantées par voie IA et IV (Hurd et al. 2021).

Enfin, la transplantation intracrânienne présente l'avantage de nécessiter le plus petit nombre de cellules car elles sont directement délivrées dans la zone cible et n'ont donc pas besoin de traverser la BHE, contrairement aux autres voies d'administration (Lee et al. 2020). Cependant, cette méthode est la plus invasive, car elle nécessite une intervention chirurgicale et peut donc entraîner des événements indésirables plus ou moins graves inhérents à la procédure (Wechsler et al. 2018). Pour le moment, les études d'implantations intracérébrales n'ont cependant pas montré d'effets

secondaires graves imputables aux cellules (Kawabori et al. 2021; Kalladka et al. 2016).

A l'heure actuelle, des essais cliniques sont menés en utilisant toutes ces méthodes, toutefois, compte tenu des recherches menées sur la perméabilisation de la BHE, les inconvénients inhérents à la transplantation IV peuvent être résolus, ce qui en fera probablement la voie de transplantation la plus importante à l'avenir dans l'AVC ischémique aigu (Hurd et al. 2021). Cependant, la transplantation IV est plus difficile dans le cas d'un AVC chronique, car la signalisation chimiotactique est plus faible à ce stade, ce qui rend la transplantation intracrânienne nécessaire chez les patients souffrant d'un AVC chronique (Wechsler et al. 2018; Hurd et al. 2021).

4. Futures perspectives

Les cellules souches sont devenues des candidats intéressants pour la thérapie cellulaire dans le traitement des AVC ischémiques, bien qu'aucune intervention thérapeutique idéale ne soit encore disponible à ce jour. Dans les différents modèles animaux, la transplantation de cellules souches a permis d'obtenir une certaine récupération fonctionnelle, mais encore incomplète. Par ailleurs, bien que les cellules souches soient associées à divers effets bénéfiques, notamment la neuroprotection, la réduction des réponses inflammatoires et la stimulation de l'angiogenèse et de la neurogenèse, le mécanisme principal par lequel chaque type de cellule est capable d'atténuer les dommages causés au système nerveux n'a pas encore été entièrement élucidé.

A ce jour, les défis cliniques à relever peuvent inclure de nombreux facteurs de complication inhérents aux patients mais également à l'AVC, ce qui peut affecter l'efficacité de la thérapie cellulaire. De plus, l'efficacité de la transplantation cellulaire est limitée par une survie faible des cellules souches dans la zone lésée, un manque de support environnemental par la perte de la matrice extra-cellulaire dans la zone lésée, et une difficulté des cellules souches à arriver à maturité et à s'intégrer dans les tissus de l'hôte (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Il y a donc encore de nombreux obstacles et de nombreuses études à réaliser avant que la thérapie cellulaire ne devienne un traitement standard de l'AVC ischémique. L'obstacle principal reste de trouver une source cellulaire capable de donner de nouveaux neurones. L'utilisation de cellules du système nerveux entérique peut en cela constituer une alternative

prometteuse aux autres souches cellulaires citées, notamment par la possibilité d'une greffe autologue, et sont actuellement à l'étude dans l'équipe iDREAM chez le rat.

A l'avenir, la combinaison des cellules souches et de la thérapie génique pourra aussi avoir un rôle important à jouer dans les modèles expérimentaux et les traitements cliniques (Suda et al. 2020). Néanmoins, cette approche faisant intervenir des cellules génétiquement modifiées est à ce jour encore fortement réprimée en France par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). La combinaison d'autres techniques thérapeutiques ainsi que le développement de techniques complémentaires constituent un point essentiel pour l'avenir de la thérapie cellulaire, avec notamment la conception de neuro-implants faisant intervenir des biomatériaux comme support aux cellules souches transplantées.

B. Implantation de biomatériaux dans le site lésionnel

1. Contexte et généralités

Une lésion cérébrale ischémique entraîne, en plus de la mort des cellules, la destruction de la matrice extracellulaire (MEC), ce qui crée un environnement non propice à la réparation cellulaire et tissulaire par manque d'élément architectural de soutien (Moreau et al. 2012). Cela constitue un réel défi dans la recherche d'un traitement efficace de l'AVC ischémique. Par conséquent, l'ajout d'une structure de soutien permettant de fournir une bio-architecture au sein de la cavité lésionnelle est nécessaire. Les biomatériaux désignent une classe de matériaux tolérés par l'organisme et conçus pour produire un effet bénéfique sur un système biologique ciblé (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Ce sont des réseaux de polymères naturels ou synthétiques qui fournissent un environnement approprié à la survie, la prolifération et la différenciation des cellules, facilitant la formation d'une nouvelle MEC (Ghuman et al. 2016), ainsi que la restauration des fonctions cellulaires. Ces deux éléments sont les clés de la restauration neuronale (Esteban-Garcia et al. 2020).

On peut relever 3 utilités majeures à l'utilisation de biomatériaux dans le cadre de la thérapie post-AVC ischémique :

- Apport d'un support structurel : les biomatériaux peuvent en effet servir d'échafaudage pour remplacer la MEC détruite, permettant ainsi d'assurer la stabilité mécanique du cerveau lésé et facilitant ainsi l'invasion des différentes molécules de support et des nouvelles cellules endogènes migrantes ou en croissance. Ce support permet donc de fournir un substrat

physique pour la réparation endogène et permet notamment aux cellules migrantes de surmonter la cicatrice gliale générée et de pénétrer dans la lésion. Leur architecture peut également permettre de guider la croissance axonale vers leurs cibles biologiques, rétablissant ainsi des connexions efficaces entre le tissu lésé et le tissu sain (Modo et al. 2018; Meng, Modo, Badylak 2014; L. Vaysse et al. 2015). On parle alors de biomatériaux guidants.

- Libération de médicaments ou de signaux inductifs : les biomatériaux sont largement utilisés pour la libération contrôlée de médicaments et de molécules exogènes initiateurs de la migration et de la réparation cellulaire et tissulaire (NGF, VEGF, etc.), directement dans le site lésionnel. L'avantage est qu'ils transportent les molécules bioactives jusqu'à la cible thérapeutique et qu'ils peuvent contrôler leur taux de libération (Massensini et al. 2015). On parle alors de biomatériaux bioactifs.
- Amélioration des stratégies thérapeutiques cellulaires : les biomatériaux peuvent en effet servir à relever les défis des thérapies médicamenteuses et cellulaires. Ils peuvent notamment être utilisés pour : contourner la BHE, localiser les thérapies cellulaires sur des sites ciblés, réduire les effets négatifs du microenvironnement hostile (action de barrière protectrice), augmenter la survie des cellules, servir d'échafaudages aux cellules souches greffées (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). En combinaison avec la thérapie cellulaire, les matériaux peuvent être bioactifs et/ou guidants.

Tous ces éléments en font une stratégie clé dans la mise au point de thérapies efficaces de l'AVC ischémique, et de bons candidats pour la réalisation d'une thérapie combinée avec la transplantation cellulaire.

2. Caractéristiques essentielles des biomatériaux pour une implantation intracérébrale

La fragilité du tissu cérébral et l'espace confiné du crâne imposent un ensemble de critères de conception pour l'utilisation de biomatériaux dans le cerveau. Il est en effet important de considérer les propriétés chimiques et mécaniques des biomatériaux implantés, qui vont conditionner le succès de sa fonctionnalité. Les critères relatifs au biomatériau dépendent bien évidemment du type de thérapie utilisée, mais certaines caractéristiques communes se dégagent (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

Tout d'abord, le biomatériau doit être biocompatible avec le tissu cérébral et non toxique. Il doit donc être biologiquement accepté par le tissu hôte, de manière à produire une réponse immunitaire et inflammatoire minimale (Wang 2013). Pour une biocompatibilité maximale, ses propriétés mécaniques doivent être proches de celles du tissu cérébral, car les biomatériaux trop rigides entraînent en général une augmentation de la gliose et une aggravation des lésions, tandis que ceux qui sont trop souples entraînent une mauvaise stabilité de l'implant sur le site lésionnel (Spencer et al. 2017; Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Néanmoins, notre équipe a montré que des implants en silicone beaucoup plus rigides que le cerveau n'augmentaient pas la gliose (Davoust et al. 2017), à défaut de ce que l'on retrouvait dans la littérature. La biocompatibilité à long terme du biomatériau avec le tissu hôte marque l'efficacité de l'implantation. En outre, le biomatériau ne doit pas relarguer de molécules ou produits secondaires toxiques pour l'hôte.

De plus, le biomatériau doit être adapté à l'espace confiné du crâne, pour éviter de comprimer le tissu cérébral et d'augmenter la pression intracrânienne. Les biomatériaux injectables et adaptables sont donc généralement préférés aux implants rigides car ils nécessitent des procédures chirurgicales moins invasives et peuvent s'adapter à des espaces hétérogènes (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Néanmoins, il est difficile d'obtenir un implant guidant avec un biomatériau injectable. Le biomatériau doit également être facilement stérilisable, pour réduire tout risque de contamination et d'infection bactérienne.

Par ailleurs, la biodégradabilité et le caractère résorbable du biomatériau constitueraient des avantages certains, car il semblerait que cela entraîne moins d'effets indésirables inhérent à la présence d'un corps étranger permanent dans le cerveau (Biran, Martin, Tresco 2005). En effet, dans le cas d'une infection non maîtrisée localisée autour d'un implant non dégradable, il faudra procéder au retrait de l'implant ou instaurer une antibiothérapie sur le long terme lorsqu'il devient trop dangereux de retirer l'implant à cause de la néovascularisation et du tissu en reconstruction qui pourraient engendrer trop de saignements, c'est-à-dire à environ 3 mois post-implantation. En outre, dans le cas d'implants biodégradables, les produits de dégradation doivent être non cytotoxiques. De plus, la vitesse de dégradation des biomatériaux est un facteur important. La dégradation doit en effet être assez lente pour permettre une bonne fonctionnalité du biomatériau et une réaction à corps étranger maîtrisée, mais également assez rapide pour laisser la place au tissu de se

reconstruire. Il convient donc de trouver un équilibre entre la vitesse de dégradation et la fonctionnalité (Garnes 2015).

Enfin, en plus de ces caractéristiques essentielles, l'utilisation prévue du matériau déterminera l'importance de ses propriétés respectives ainsi que d'autres caractéristiques requises. Par exemple, pour la délivrance de cellules, le matériau doit être dégradable et cytocompatible, c'est-à-dire capable de promouvoir l'adhésion cellulaire ainsi qu'une bonne distribution des cellules afin d'éviter leur agrégation (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Par ailleurs, la fonctionnalité du support fournie par le biomatériau est définie par sa composition, le lieu d'implantation, la voie d'administration, le sort des cellules exogènes qu'il héberge (et/ou la libération du médicament), ce qui est obtenu grâce à ses propriétés chimiques et mécaniques (Esteban-Garcia et al. 2020). Cependant, il est difficile de trouver un biomatériau présentant toutes les propriétés souhaitées, ce qui nécessite de jouer sur les propriétés de chacun et de réussir à trouver le biomatériau le plus adapté à son utilisation (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

3. Types de biomatériaux testés - Généralités

Les biomatériaux peuvent être produits à partir de matériaux naturels et/ou synthétiques. Les biomatériaux utilisés dans le cerveau peuvent être des polymères ou prendre la forme d'hydrogels injectables, de nano- et microparticules et de fibres électrofilées (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Les hydrogels sont des réseaux de polymères réticulés par des liaisons chimiques ou des interactions physiques et principalement composés d'eau. Ils présentent une excellente perméabilité aux nutriments et à l'oxygène, favorisant ainsi la survie des cellules à l'intérieur de l'échafaudage (Ta, Dass, Dunstan 2008). Ces biomatériaux peuvent également être formulés pour exister à l'état liquide à température ambiante tout en formant des gels *in situ*, ce qui permet une administration peu invasive par des aiguilles de petit calibre, éventuellement sous guidage IRM (Massensini et al. 2015). Il existe à l'heure actuelle de nombreux biomatériaux différents synthétiques ou naturels utilisables dans les modèles d'AVC ischémiques, chacun ayant ses avantages et ses inconvénients.

4. Types de biomatériaux naturels testés pour une implantation intracérébrale

Les biomatériaux naturels sont dérivés des composants de la MEC (acide hyaluronique (AH), collagène, fibrine, laminine, héparine, peptides et protéines) ou de

sources xénobiotiques (alginate, chitosane, Matrigel™, soie, méthylcellulose) (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Ces polymères d'origine naturelle sont avantageux par rapport aux polymères synthétiques car ils sont constitués de composants de la MEC, ou ont des propriétés similaires, et leur biocompatibilité en est donc accrue (Nair, Laurencin 2007). L'objectif des biomatériaux naturels est donc d'implanter dans le tissu endommagé un substitut de MEC transitoire ou permanent qui facilite la croissance cellulaire pour former, à nouveau, la structure tridimensionnelle du tissu à réparer (Crapo et al. 2012).

Deux des composés les plus abondants de la MEC sont le collagène et l'AH, ce qui explique pourquoi leur utilisation en biomédecine s'est étendue au cours de la dernière décennie (Esteban-Garcia et al. 2020). Le collagène possède une résistance mécanique et une immunogénicité, et les fragments dérivés du collagène actif contribuent à des activités biologiques telles que la croissance, la différenciation et la migration cellulaire, ce qui a facilité son utilisation dans diverses études sur des modèles de rongeurs sous forme d'hydrogel (Cross et al. 2010). L'autre composé naturel, aux caractéristiques similaires, que l'on trouve dans la MEC du SNC est l'AH. Son poids moléculaire est directement lié à ses fonctions biologiques ; en particulier, on attribue à l'AH de ≥ 60 kDa des propriétés essentielles pour une bonne migration et une intégration autant des cellules endogènes qu'exogènes. L'AH permettrait également de maintenir les astrocytes dans un état non réactif et d'inhiber la formation de la cicatrice gliale (Lin et al. 2009; Khaing et al. 2011). Ses propriétés anti-inflammatoires et son soutien à la survie cellulaire ont largement été démontrés (Jiang et al. 2014). En outre, dans une étude *in vivo* sur un modèle de souris avec occlusion de l'ACM dans laquelle un hydrogel d'AH avec des molécules bioactives (VEGF ou angiopoïétine-1) a été implanté, il a été observé une bonne biocompatibilité avec le tissu cérébral et une augmentation de l'angiogenèse autour de l'hydrogel implanté (Ju et al. 2014).

Enfin, la combinaison acide hyaluronique + méthylcellulose a été largement utilisée dans des modèles d'AVC, de lésion de la moelle épinière et de dégénérescence rétinienne (Ho, Teal, Shoichet 2019), après sa première utilisation en 2006 (Gupta, Tator, Shoichet 2006). En effet, une étude récente utilise cette combinaison comme véhicule pour libérer de la cyclosporine et de l'érythropoïétine directement dans la cavité lésionnelle, afin de promouvoir la récupération fonctionnelle suite à un AVC (Esteban-Garcia et al. 2020; Tuladhar et al. 2020).

5. Types de biomatériaux synthétiques testés pour une implantation intracérébrale

Généralités.

Les biomatériaux synthétiques couramment utilisés pour les pathologies cérébrales sont généralement des polymères de polyéthylène glycol (PEG), d'acide polylactique, d'acide polyglycolique, de polydiméthylsiloxane (PDMS), de polylysine, de poly(acide sébacique), de polycaprolactone (PCL) ; ainsi que des copolymères de lactide et de glycolide (sous forme de nanoparticules) (Hoffman 2012; Drury, Mooney 2003). Ils sont plus faciles à mettre au point et un des avantages intéressant est la possibilité d'obtenir une production homogène par lot, c'est-à-dire de reproduire avec précision certaines propriétés physico-chimiques de manière uniforme en quantité importante (Esteban-Garcia et al. 2020; Ghuman, Modo 2016). Cela se traduit par un meilleur contrôle de leur taux de dégradation et par une réduction de la variabilité de la réponse immunitaire générée chez l'hôte, ce qui leur confère une stabilité *in vivo* supérieure. Par ailleurs, bien qu'ils soient dépourvus des composants innés de la MEC nécessaires à la survie des cellules (tels que les ligands adhésifs), ils peuvent être fonctionnalisés avec des ligands bioactifs (Hoffman 2012).

A l'heure actuelle, parmi les biomatériaux synthétiques, les nanoparticules et les gels fabriqués à partir d'acide polylactique, d'acide polyglycolique ainsi que du copolymère formé par les deux acides sont principalement utilisés pour l'administration de médicaments, car leur taux de dégradation peut être contrôlé en ajustant simplement le ratio polylactide/polyglycolide (Ghuman, Modo 2016). Les copolymères de lactide et de glycolide sont en effet largement utilisés dans le domaine de la délivrance contrôlée de médicaments, car ils font partie des rares polymères biodégradables dont l'utilisation clinique a été approuvée par la FDA (Langer 1990; Cohen-Sela et al. 2009).

Le PEG est également un polymère synthétique couramment utilisé dans les applications de biomatériaux et connu pour résister à l'absorption des protéines. Il est souvent utilisé sous forme d'hydrogel. Or, bien que les cellules ne se fixent pas directement aux hydrogels de PEG, d'autres polymères comme l'AH ou la gélatine sont souvent utilisés concomitamment pour favoriser l'attachement et la migration des cellules. Ces hydrogels à base de PEG sont prometteurs dans les domaines de l'administration de médicaments et de cellules pour de nombreuses raisons, notamment l'administration contrôlée de médicaments ou le taux de dégradation, la

non-toxicité et la biocompatibilité (Ghuman, Modo 2016). Par ailleurs, une étude récente a été publiée sur les nanogels d'urokinase conjugués au PEG (PEG-UK), démontrant que l'administration de PEG-UK en dehors de la fenêtre thérapeutique habituelle pouvait encore exercer des effets protecteurs chez les rats ayant subi une occlusion permanente de l'ACM grâce au maintien de l'intégrité de la BHE et à l'inhibition de l'apoptose et de l'excito-neurotoxicité (Esteban-Garcia et al. 2020; Cui et al. 2020).

Contrairement aux biomatériaux naturels, il faut garder à l'esprit que les biomatériaux synthétiques ont tout de même une capacité limitée à induire des réponses de réparation endogènes, de sorte qu'ils sont principalement utilisés pour les prothèses et les implants (Koupaei, Karkhaneh, Daliri Joupari 2015; Yuan et al. 2019). Ils sont souvent peu ou pas biodégradables. Ils restent néanmoins des éléments majeurs dans la combinaison des thérapies cellulaires avec biomatériaux.

Biomatériaux synthétiques et implants guidants.

Une des premières études menées sur les implants guidants synthétiques a comparé 5 macro-architectures différentes de PCL poreux dans un modèle de lésion spinale chez le rat. Il a été montré que les 2 architectures d'échafaudage à voie ouverte ont amélioré la régénération de la moelle spinale par rapport aux trois autres conceptions sans l'utilisation de facteurs biologiques (Dy et al. 2008). Cela a ouvert la voie à d'autres études sur l'utilisation des biomatériaux synthétiques guidants et bioactifs sur d'autres modèles de lésion, notamment cérébrale. Ces études sont largement documentées (Accardo et al. 2019).

Une première étude a testé l'implantation intracérébrale de deux architectures cylindriques différentes d'implants en PCL de 3 x 3 mm à porosité variable dans le cerveau de rats cérébrolésés, ce qui constituait une des premières études de greffe intracérébrale d'implants guidants (Wong, Krebsbach, Hollister 2008). Cette étude a permis de comprendre l'importance de l'architecture des implants guidants intracérébraux pour la facilitation de la migration et de la reconstruction tissulaire. Elle a en l'occurrence montré que la reconstruction tissulaire, l'infiltration et l'alignement de neurones immatures étaient favorisés par la présence de rainures microscopiques et de canaux longitudinaux.

Par la suite, l'implantation intracérébrale d'implants guidants de copolymères d'acrylate avec canaux alignés a été testée chez le rat cérébrolésé et a montré qu'ils

permettaient le maintien de la continuité avec le tissu neural environnant (Martínez-Ramos et al. 2012). Ces implants étaient également colonisés par des astrocytes et des neurones (notamment lors d'une implantation proche de la zone sous-ventriculaire). En effet, de nouveaux axones et de nouvelles cellules neurales provenant de la niche sous-ventriculaire ont abondamment colonisé la structure interne du biomatériau après 2 mois. Une angiogenèse locale a aussi été mise en évidence à l'intérieur des pores de ces implants, et ces derniers n'ont pas entraîné de développement excessif de la cicatrice gliale. Ces résultats indiquaient la biocompatibilité du polymère avec le tissu cérébral et ont mené à la réalisation d'autres études testant cette fois la biocompatibilité et la capacité d'accueil cellulaire d'échafaudages copolymères à base d'acrylate d'éthyle ou d'acrylate d'hydroxyle et d'éthyle *in vivo* après une lésion cérébrale expérimentale chez le rat (Martínez-Ramos et al. 2015). Après 8 semaines, ces copolymères ont provoqué une réponse cicatricielle minimale de la part du tissu hôte et ont permis l'invasion de neurones et de cellules gliales à l'intérieur, ainsi que le développement de nouveaux vaisseaux sanguins. Ces études ont montré que ces implants guidants de copolymères s'avèrent offrir un environnement approprié produisant un réseau cellulaire potentiellement utile dans la réparation du cerveau après une lésion cérébrale.

Parallèlement, l'équipe iDREAM a mis au point des implants guidants 2D en PDMS microstructurés et recouverts de polylysine/laminine (Bédier et al. 2012). Leur implantation intracérébrale chez le rat lésé a également montré des résultats prometteurs, qui seront décrits par la suite (C. 3.) (L. Vaysse et al. 2015; Davoust et al. 2017).

Enfin, une autre étude récente a testé la biocompatibilité *in vivo* après lésion cérébrale de trois polymères bioéliminables ou biorésorbables distincts imprimés en 3D chez le rat afin d'obtenir une architecture poreuse et guidante : le polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA), le PCL et un PEGDA mélangé à du méthacrylate de gélatine (PEGDA-GelMA) (Clauzel et al. 2024). Il en est ressorti que le PEGDA-GelMA est celui qui a présenté les meilleurs résultats et est apparu comme un candidat prometteur pour l'implantation intracérébrale : il a facilité la création d'une couche gliale permissive, tout en induisant une néovascularisation et en attirant des progéniteurs neuronaux sur le site lésionnel.

6. Thérapie combinée avec la chondroïtinase

Les biomatériaux peuvent aussi être combinés avec des enzymes. Lors d'une lésion dans le SNC, une cicatrice gliale composée d'éléments de la matrice extracellulaire se développe, incluant notamment des protéoglycanes de chondroïtine sulfate (ou CSPGs, « chondroitin sulphate proteoglycans », macromolécules glucidiques) (Hill et al. 2012 ; Fawcett, Asher 1999). Ces derniers semblent impliqués dans la diminution de la régénération et de la croissance axonale au niveau de cette cicatrice gliale par divers mécanismes (Orr, Gensel 2018 ; Bradbury et al. 2002 ; Davies et al. 1999). Une des raisons de la difficulté de rétablissement après un AVC peut donc s'expliquer par le développement de cette cicatrice gliale avec ses composants, à la limite entre tissu normal et tissu ischémique (Hill et al. 2012). Cette cicatrice gliale et la barrière physico-chimique qu'elle constitue peut également entraver la régénération des zones lésées et limiter les bénéfices observés par l'utilisation de certaines thérapies, notamment les thérapies cellulaires et implantatoires. Ainsi, de nombreuses études se sont intéressées à la possibilité de dégrader ces CSPGs de manière à limiter l'inhibition de la croissance axonale et à optimiser l'utilisation des différentes stratégies thérapeutiques étudiées, notamment celle de la greffe de biomatériaux dans le site lésionnel.

Parmi ces études, certaines se sont intéressées à la chondroïtinase (ChABC), une enzyme capable de dégrader directement les CSPGs en clivant les chaînes latérales des glycosaminoglycanes (Nakamae et al. 2010). Elle permettrait grâce à cela d'entraîner une dégradation de la cicatrice gliale visible par la diminution de son épaisseur, mais diminuerait également la densité de cette cicatrice et augmenterait sa perméabilité (Hettiaratchi et al. 2019). Pour cette action sur les constituants de la cicatrice gliale, elle a donc fait l'objet de nombreuses études et a été largement utilisée dans différentes études, seule, ou en thérapie combinée avec des implants notamment ou des cellules. De nombreuses études ont notamment étudié l'effet bénéfique de cette ChABC dans le cas de lésions du SNC, et il a été montré *in vivo* que cette enzyme seule améliorerait la régénération nerveuse et favoriserait la récupération motrice après une lésion de la moelle spinale chez les rats et les PNH (Bradbury, Carter 2011; Zhang et al. 2013; Bradbury et al. 2002; Stepankova, Jendelova, Machova Urdzikova 2021; Khanteymoori et al. 2025). Cet effet semble également retrouvé chez les rats en phase chronique d'AVC avec une injection quotidienne pendant 7 jours (Hill et al. 2012).

Bien que l'utilisation de cette enzyme en cas de lésions cérébrales soit répandue et malgré plusieurs études démontrant ses bénéfices, son efficacité reste controversée. Elle possède en effet certains inconvénients qui limitent son utilisation et diminuent son efficacité comme sa forte instabilité à température ambiante et la nécessité d'une injection à dose élevée, d'injections répétées ou de libération prolongée pour pallier à la production continue des CSPGs sur les semaines post-lésion (Hettiaratchi et al. 2019). Ainsi, bien que son utilisation soit répandue aussi bien seule qu'en thérapie combinée avec des implants notamment, son efficacité ne semble pas toujours assurée.

C. Conception et greffe de neuro-implants

Comme énoncé antérieurement, la greffe de cellules souches, bien qu'ayant montré des résultats prometteurs dans les modèles animaux d'AVC et dans certains essais cliniques, n'est souvent pas suffisante pour régénérer un réseau neuronal fonctionnel dans la cavité d'une lésion ischémique. En effet, la survie des cellules transplantées après la greffe est faible, elles semblent construire des édifices non ordonnés seulement autour de la zone de la lésion, il y a un manque de support environnemental par la perte de la MEC dans la zone lésée, et une difficulté des cellules souches à arriver à maturité et à s'intégrer dans les tissus de l'hôte (Richardson et al. 2010; Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Il y a également peu de preuves que les axones de la greffe parviennent à se reconnecter avec les neurones des tissus cérébraux intrinsèques pour former des réseaux neuronaux organisés et fonctionnels.

Pour compenser ces phénomènes, depuis quelques années, l'utilisation de biomatériaux comme support aux cellules souches et leur greffe combinée dans la cavité lésionnelle a montré des résultats encourageants pour la régénération des tissus cérébraux et la réduction du volume de la lésion (Lu et al. 2007; Jin et al. 2010; Bible et al. 2009). A terme, l'objectif de cette thérapie combinée par greffe de neuro-implants est d'obtenir un réel effet bénéfique sur la reconstruction tissulaire et la récupération fonctionnelle post-AVC, en alliant les bénéfices de ces deux stratégies thérapeutiques.

1. Biomatériaux naturels et thérapie cellulaire

Les hydrogels naturels sont privilégiés pour la transplantation de cellules après un AVC en raison de la similitude de leurs propriétés mécaniques avec celles du tissu cérébral natif (consistance molle et nature élastique) (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

L'un des hydrogels naturels utilisés pour la délivrance de cellules est le Matrigel™, un biomatériau dérivé d'une lignée cellulaire de sarcome de souris, principalement composé de laminine-1 et de collagène IV et contenant de nombreuses molécules adhésives et des facteurs de croissance qui favorisent la viabilité des cellules (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018). Des résultats prometteurs ont déjà été obtenus dans certaines études alliant l'utilisation de ce biomatériau avec des cellules progénitrices neurales. Cependant, le Matrigel™ étant dérivé d'une source xénobiotique, il présente une grande variabilité d'un lot à l'autre, ce qui le rend peu adapté à une utilisation clinique (Jin et al. 2010). En outre, le Matrigel™ se gélifie à température ambiante par le biais d'interactions hydrophobes entre les composants, ce qui le rend techniquement difficile à utiliser pour l'injection de cellules *in vivo* (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

Pour conserver les propriétés souhaitables du Matrigel™ sans ses inconvénients, d'autres stratégies combinées ont favorisé l'utilisation d'hydrogels à base de composants de la MEC, tels que l'AH, la fibrine et le collagène (Nair, Laurencin 2007; Nih, Carmichael, Segura 2016), avec quelques résultats prometteurs en matière de survie cellulaire, de diminution du volume de l'infarctus, de stimulation de la réparation tissulaire ainsi que d'amélioration des performances motrices. Dans la plupart des cas, ils ont été utilisés en combinaison avec des cellules exogènes qui renforcent les mécanismes de réparation endogène (Moshayedi, Carmichael 2013). En effet, une étude basée sur l'implantation d'un hydrogel de collagène combiné à des cellules souches neurales dans un modèle d'AVC ischémique chez la souris a démontré une augmentation de la survie cellulaire, de la formation de synapses et une amélioration de la fonction neuronale (Yu et al. 2010). De plus, des études *in vivo* réalisées sur des modèles de souris avec occlusion de l'ACM ont combiné un hydrogel d'AH avec des cellules exogènes, des cellules progénitrices neurales (Zhong et al. 2010), ou des cellules souches adipeuses (Sanchez-Rojas et al. 2019). Ces études ont montré une moindre infiltration de cellules réactives dans le biomatériau et une augmentation des précurseurs neuronaux dans la zone de la lésion cérébrale. Par

ailleurs, un article publié récemment est basé sur un biomatériau de fibroïne ayant le même objectif, à savoir la récupération fonctionnelle post-AVC, en encapsulant des cellules souches mésenchymateuses (Fernández-Serra et al. 2020).

Des hydrogels multicomposants dérivés de MEC naturelles ont également montré des résultats intéressants, et peuvent être utilisés pour la croissance et la multiplication pré-implantation des lignées cellulaires à transplanter. Il a en effet été montré que les hydrogels de MEC dérivés de la vessie porcine favorisaient l'extension en 3D des neurites *in vitro* (Medberry et al. 2013). De plus, lorsque l'ensemble est ensuite injecté dans la cavité du cerveau de rats victimes d'un AVC, ils entraîneraient l'infiltration de progéniteurs neuronaux et d'oligodendrocytes (Massensini et al. 2015; Ghuman, Modo 2016). Des hydrogels de MEC naturelles ont également été dérivés du cerveau et de la moelle spinale, et une étude comparant les MEC de la vessie, de la moelle spinale et du cerveau a montré qu'il y avait des différences dans la composition chimique et les propriétés mécaniques, et que si les trois étaient capables de promouvoir la formation de neurites, la MEC du cerveau favorisait les neurites les plus longs et les plus nombreux dans une lignée cellulaire de neuroblastome (Medberry et al. 2013), suggérant que la MEC dérivée du cerveau serait la plus adaptée pour la culture neuronale (Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

2. Biomatériaux synthétiques et thérapie cellulaire

Les premières études sur les biomatériaux pour la transplantation de cellules se sont concentrées sur l'utilisation de polymères synthétiques tels que le PEG, un polymère hautement hydrophile, biocompatible et non immunogène (Bjugstad et al. 2008). Le PEG peut être combiné à d'autres polymères synthétiques, ou à des polymères naturels. Il a en effet été utilisé pour concevoir des hydrogels destinés à la culture cellulaire, en incorporant du FGF2 (Fibroblast Growth Factor-2) et du collagène de type I (Mahoney, Anseth 2007), ou de l'héparine et du peptide RGD (peptide dirigeant l'association cellules/biomatériaux) (Freudenberg et al. 2009) pour cultiver des CSN embryonnaires, ce qui a permis d'augmenter la viabilité des cellules. D'autres polymères synthétiques (d'acide polyglycolique, de polylysine, de polycaprolactone, de lactide et de glycolide) sont utilisés depuis plusieurs années maintenant pour toute une série d'applications, notamment pour le revêtement cellulaire *in vitro* (Jongpaiboonkit, King, Murphy 2009) ou comme échafaudage 3D pour le soutien structurel de la transplantation cellulaire (Bible et al. 2009; Park, Teng, Snyder 2002; Accardo et al. 2019). Par exemple, lorsqu'un implant 3D en acide polyglycolique a été

utilisé pour administrer des CSN dans le cerveau de souris néonatales victimes d'un AVC et comparé à l'administration de cellules dans une solution saline, il a atténué la réponse immunitaire, réduit la cicatrisation gliale, permis la pénétration des vaisseaux sanguins et favorisé la différenciation des cellules administrées en neurones et en cellules gliales (Park, Teng, Snyder 2002).

Ainsi, les biomatériaux synthétiques présentent des avantages, et sont tout aussi répandus que les matériaux naturels pour la thérapie combinée avec des cellules souches. Néanmoins ils présentent également des inconvénients tels que des problèmes de biocompatibilité liés à bon nombre de leurs produits acides de dégradation et leur difficulté à s'interfacer avec les cellules, les molécules et l'environnement local (Hoffman 2012; Tuladhar, Payne, Shoichet 2018).

3. Neuro-implants de l'équipe iDREAM de l'unité ToNIC

A l'heure actuelle, il existe un grand nombre de gels ou hydrogels mous ainsi que d'implants à base de substances naturelles ou synthétiques. Cependant, aucun implant neuronal ne rassemble encore toutes les propriétés requises pour être accepté en clinique.

L'équipe iDREAM de l'unité ToNIC dans laquelle cette thèse a pris part s'intéresse depuis plusieurs années au concept des neuro-implants (thérapie cellulaire sur biomatériaux) dans le but de développer une stratégie thérapeutique combinée à visée clinique pour la prise en charge chronique de l'AVC ischémique ou du traumatisme crânien grave. L'équipe s'est particulièrement intéressée à la conception de neuro-implants guidants, favorisant la régénération neuronale, gliale et vasculaire, promouvant ainsi la reconstruction tissulaire et la récupération fonctionnelle dans un modèle de lésion cérébrale ischémique aiguë mimant l'AVC. Le modèle utilisé pour cela est celui de l'injection intracérébrale de malonate au niveau du cortex moteur primaire M1, initialement développée comme modèle de lésion cérébrale focale mimant un AVC ischémique chez le rat au sein de l'équipe (L. Vaysse et al. 2015), avant d'être transposé et adapté chez le marmouset (Le Friec et al. 2021).

Après avoir montré que les lésions induites par le malonate constituaient un modèle valable pour tester la sécurité et l'efficacité des stratégies thérapeutiques basées sur les cellules souches et les neuro-implants, l'équipe a mis au point une première génération d'implants guidants en deux dimensions en silicone. De manière plus précise, ces implants sont obtenus à partir de polydiméthylsiloxane (PDMS), un

élastomère inerte et non-cytotoxique. Le PDMS est un des polymères synthétiques en silicone le plus utilisé à des fins biomédicales et notamment dans la conception d'implants à visée médicale (Jensen et al. 2012), notamment grâce à sa haute biocompatibilité, mais également de par son excellente résistance à la biodégradation et à sa flexibilité (Miranda et al. 2021). Des renforcements linéaires (rainures) ont été façonnés par moulage dans ce PDMS de manière à guider la croissance axonale dans une direction prédéfinie. Il a d'abord été montré *in vitro* avec des cellules souches neurales humaines que ces structures permettent d'obtenir un taux de développement et de différenciation des neurones comparable à celui d'une surface plane sans motif, avec un guidage efficace des neurites et une viabilité des cellules souches neurales humaines à long terme (Bédier et al. 2012).

Une étude pilote a ensuite étudié l'effet de la greffe intracérébrale de cellules souches neurales humaines ensemencées sur ces implants en PDMS en deux dimensions chez des rats cérébrolésés (L. Vaysse et al. 2015). Cette approche a permis une récupération plus rapide de la force de préhension par rapport à l'injection directe de dix fois plus de cellules souches seules. L'implant n'a également pas semblé induire de réaction inflammatoire additionnelle. Une seconde étude *in vivo* menée chez les rats a ensuite confirmé le caractère prometteur de la thérapie combinant les cellules souches et cet implant en PDMS, en utilisant des cellules souches neurales primaires humaines et le même biomatériau en silicone. Après trois mois, les cellules greffées qui sont restées sur le biomatériau ont exprimé des marqueurs neuronaux matures et des progéniteurs hôtes ont également été trouvés sur les implants (Davoust et al. 2017).

Par la suite, au sein de l'équipe et après transposition du modèle malonate, ces implants 2D en PDMS ont été greffés seuls dans les cerveaux de 5 marmousets. Cela a été effectué dans le but d'étudier tout d'abord le caractère transposable et la bonne tolérance de ces implants chez un PNH, avant une potentielle transposition complète du modèle de neuro-implant chez cet animal. Ce travail a été réalisé dans les thèses de Boris Demain (2015) et d'Alice LeFric (2020), et bien qu'aucune amélioration des performances motrices n'ait été objectivée, ces implants en PDMS semblaient bien tolérés chez les marmousets. Les analyses histologiques et la caractérisation de la reconstruction tissulaire chez les marmousets de cette étude font l'objet de la thèse présentée dans ce manuscrit. Ce travail est important dans le contexte où cet implant en PDMS mis en point par l'équipe effectue actuellement son transfert vers la clinique.

Partie II : Etude expérimentale

I. Contexte de l'étude

A. Présentation

Comme énoncé dans la première partie, le manque de stratégies thérapeutiques efficaces pour la prise en charge chronique d'un patient post-AVC nous oriente depuis quelques années vers la recherche d'autres axes thérapeutiques. Néanmoins à ce jour, aucun traitement pleinement efficace n'a encore été identifié pour les atteintes du système nerveux central (SNC).

Parmi les stratégies thérapeutiques étudiées, nous avons déjà abordé dans la première partie de cette thèse celle de la thérapie cellulaire, avec l'utilisation de cellules souches pour promouvoir la régénération des zones lésées du système nerveux et à terme, permettre une récupération fonctionnelle. Or, au-delà de la sélection d'une bonne source cellulaire, la transplantation elle-même peut s'avérer délicate, de part entre autres une perte quantitative importante suite à une implantation systémique ou même locale au site de lésion lié à l'hostilité de l'environnement de la greffe et au manque de structure de soutien (Le Fric et al. 2017).

Le développement de stratégies recréant le microenvironnement de notre corps a connu un essor considérable ces dernières années, nous permettant de disposer d'architectures de plus en plus compatibles avec l'agencement de notre cerveau (Accardo et al. 2019). Le défi ici est de réussir à créer un implant répondant à des critères d'innocuité, de biocompatibilité, de biodégradabilité, de guidance, d'efficacité et de conception. A terme, le but est de réussir à concevoir un neuro-implant permettant la greffe simultanée de cellules souches sur un biomatériau permettant de promouvoir leur survie, leur croissance, leur différenciation et leur multiplication au niveau du site lésionnel. Tout cela de manière à optimiser la récupération fonctionnelle et la reconstruction tissulaire après une lésion cérébrale, tout en contrant les processus limitants (cicatrice gliale et inflammation, atrophie hémisphérique et environnement hostile à la reconstruction tissulaire).

Cette greffe simultanée de cellules souches sur un biomatériau (neuro-implants) a déjà été effectuée chez des rats cérébrólésés dans des études menées

précédemment par l'équipe iDREAM de l'unité ToNIC dans laquelle cette thèse prend part (Le Friec et al. 2017; Davoust et al. 2017; L. Vaysse et al. 2015). Dans ces études, l'ensemencement de cellules souches neurales humaines sur des implants 2D microstructurés en silicone - le polydiméthylsiloxane (PDMS) - (Bédurier et al. 2012) a montré un effet bénéfique sur la récupération de la force de préhension chez le rat cérébrolésé (**Annexe 1**), ainsi qu'une augmentation de la survie et de la maturation des cellules greffées, de même qu'une reconstruction tissulaire partielle autour du site de lésion. Les implants semblent bien tolérés chez les rats de ces études (réduction de l'atrophie hémisphérique et de la cicatrice gliale) et ont permis de guider la croissance axonale ainsi que la maturation des cellules greffées vers des cellules nerveuses matures et immatures. Ils semblent également favoriser la maturation des progéniteurs neuraux endogènes.

Ces résultats prometteurs ont donc pavé le chemin vers la transposition chez le marmouset, un primate non humain (PNH) de cette stratégie thérapeutique, ainsi que vers la réalisation d'études cliniques chez l'homme avec ces implants en silicone (projet FAVOUR actuellement en cours dans l'équipe iDREAM de ToNIC).

B. Objectifs globaux de l'étude

La thèse présentée dans ce manuscrit s'inscrit donc dans un projet plus global de l'équipe iDREAM se basant sur la réalisation et l'utilisation d'implants guidants pour promouvoir la régénération tissulaire et la récupération motrice et fonctionnelle après une lésion cérébrale aiguë, mimant un AVC ischémique.

Les résultats prometteurs obtenus chez les rats cérébrolésés par la greffe simultanée d'implants 2D microstructurés en PDMS et de cellules souches neurales humaines ont permis un transfert de l'étude chez un PNH particulier, le marmouset. L'équipe a tout d'abord étudié les effets de la greffe de ces implants seuls chez le marmouset, de manière à vérifier leur biocompatibilité, leur innocuité ainsi que leur impact sur la récupération fonctionnelle et la régénération cellulaire de l'hôte, avant d'envisager l'ajout de cellules souches par la suite. Ce travail a été effectué en grande majorité dans les thèses de Boris Demain (2015) et d'Alice LeFriec (2020).

C. Objectifs de la thèse présentée

La thèse présentée ici s'inscrit donc dans la continuité des deux thèses citées dans le paragraphe précédent. Ces dernières ont en effet permis d'étudier les différences

en matière d'évolution lésionnelle (Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) et histologie) et de déficits et récupération motrice (test de force, tests de dextérité et échelle neurologique) entre des marmousets implantés et des marmousets uniquement lésés, ainsi que l'étude de l'innocuité des implants en PDMS sur des PNH (différences dans les tailles de la lésion, l'épaisseur gliale, la récupération post-lésionnelle). Il est ressorti de ces deux thèses qu'une implantation à long terme des implants en PDMS semblait bien tolérée chez le marmouset avec aucune inflammation excessive apparente à long terme, bien qu'une augmentation importante des marqueurs de l'inflammation soit observée en phase aigüe, liée à la dégénérescence secondaire du faisceau corticospinal dans la capsule interne. Or, l'impact de la présence d'implants seuls sur l'amélioration de la récupération motrice ne semble pas très marqué chez les marmousets de cette étude. En effet, aucun résultat significatif n'a réellement été retrouvé lors de l'analyse de la comparaison des performances motrices après lésion des marmousets implantés et lésés (**Annexe 2**). Ceci corrobore les résultats précédents obtenus sur les rats avec les implants seuls (Davoust et al. 2017). Les faibles effectifs de cette étude chez le marmouset ne nous permettent pas encore de nous prononcer quand à une généralisation de l'impact réel de la présence des implants en PDMS sur la récupération motrice. Il a néanmoins été conclu que les implants seuls n'engendraient pas d'effet délétère sur le comportement et n'affectaient pas la taille de la lésion (**Annexe 3**) ni l'intégrité tissulaire dans cette étude. La différence majeure constatée entre les rats et les marmousets résidait dans une quantité particulièrement élevée de tissu en reconstruction chez le marmouset alors qu'elle était minime chez le rat avec des implants seuls. Dans ce contexte, la caractérisation de la nature de ce tissu en reconstruction était primordiale et se devait d'être réalisée.

La partie tissulaire et cellulaire de ce projet restait donc à finaliser avec notamment l'étude de l'effet des implants en PDMS sur le recrutement cellulaire endogène au niveau du site lésionnel, ainsi que sur la reconstruction tissulaire avec les mécanismes de neurogenèse, de gliogenèse et d'angiogenèse chez le marmouset cérébrolésé. En effet, une forte reconstruction d'un tissu contenant des neurones pouvait avoir un potentiel certain. La question était encore de savoir si ces neurones seraient fonctionnels. Là encore, les résultats d'IRM fonctionnelle (**Annexe 4**) d'un marmouset implanté se sont révélés très prometteurs quant à la fonctionnalité du tissu en reconstruction.

Ainsi, l'objectif de ma thèse est la caractérisation d'un point de vue cellulaire du tissu en reconstruction pour compléter ce dernier aspect du projet, en étudiant les éventuelles différences entre les deux groupes de marmousets en ce qui concerne la neurogenèse, gliogenèse et l'angiogenèse dans les tissus péri-lésionnel et en reconstruction.

Le but principal est donc de déterminer si l'ajout d'implants seuls dans la lésion permet déjà d'avoir un impact positif sur la régénération tissulaire et le recrutement cellulaire autour du site de lésion, sans exacerber l'inflammation. En effet, les réactions entre les rats et les PNH pouvant être assez différentes, il fallait prouver que la greffe de ces implants en silicone restait bien tolérée en phase chronique chez le marmouset cérébrolésé. Tout cela dans le but d'envisager par la suite une stratégie thérapeutique chez l'Homme. Dans l'éventualité où le biomatériau seul ne permettrait pas assez de neurogenèse et l'obtention de neurones fonctionnels, une co-transplantation du biomatériau et de cellules souches serait envisageable dans un modèle de lésion cérébrale aiguë similaire à l'AVC ischémique chez le marmouset par la conception de neuro-implants. Néanmoins, la recherche d'une source cellulaire transférable en clinique humaine reste un défi en soi. La fin de l'étude de ces implants en PDMS chez un PNH est également nécessaire pour envisager la poursuite de l'étude FAVOUR étudiant l'application clinique de ces implantations de biomatériaux chez l'homme.

D. Début du projet et de la thèse présentée

L'étude dans laquelle prend part cette thèse a débutée en 2013. Elle s'étend jusqu'en 2024 et a vu plusieurs personnes travailler en collaboration pour mener à bien ce projet sur toutes ces années. Quand j'ai rejoint le projet en 2024, la partie concernant les expérimentations *ante mortem* avaient déjà été menées à bien. Ainsi donc, la majorité du travail réalisé ici a été fait sur les coupes de cerveau des marmousets sacrifiés préalablement, conservées dans une solution cryoprotectrice à -20°C.

Les étapes précédant mon arrivée dans le projet vont tout d'abord être décrites succinctement. Par la suite, les étapes auxquelles j'ai pris part dans ce projet pour la réalisation de cette thèse seront présentées de manière plus complète.

II. Matériels et méthodes

A. Animaux

1. Ethique et hébergement

Tous les animaux présentés dans cette étude ont été détenus et manipulés selon les recommandations européennes (Directive Européenne 2010/63/UE). L'ensemble des protocoles de l'étude a été approuvé par la « Direction Départementale de la Protection des Populations de la Haute-Garonne », ainsi que par le « Comité d'éthique pour l'expérimentation animale Midi-Pyrénées » (autorisations n°31125507 et n°B3155501).

Les marmousets sont hébergés par deux dans une cage de 2 m³ (par mesure de sécurité). La pièce comprend 10 cages. Ils peuvent donc se voir et s'entendre, permettant les interactions sociales. Ils ont accès à des tunnels, plateformes et nids comme enrichissement et vivent avec un cycle de 12h jour/nuit. L'ensemble des règles de vie suivent les préconisations des normes Européennes, certifié par la « Direction Départementale de la Protection des Populations » avec l'autorisation n°A3155501.

2. Animaux de l'étude

Le projet global comprend au total 15 marmousets communs (*Callithrix Jaccus*) dont 10 ont été utilisés pour la réalisation du projet présenté dans cette thèse. Ces derniers sont issus de la thèse de Boris Demain publiée en 2015 (5 individus) et de celle d'Alice LeFric publiée en 2020 (5 individus). 5 animaux sont greffés avec un implant seul (groupe « marmousets implants ») : 1 femelle et 4 mâles, âgés en moyenne de 74 mois $\pm$ 16,45 au moment de la lésion et de l'implantation. Les 5 autres ne reçoivent pas d'implants après la lésion (groupe « marmousets lésés »). Ce groupe de marmousets uniquement lésés comprend 1 femelle et 4 mâles également, âgés en moyenne de 61,4 mois $\pm$ 5,13 au moment de la lésion. Les 10 marmousets de cette étude ont une moyenne d'âge globale de 67,7 mois $\pm$ 13,27. Parmi chaque groupe, des sous-groupes sont réalisés en fonction du moment du sacrifice : un sous-groupe « court-terme » (sacrifices entre 4 et 5,5 mois post-lésion) et un sous-groupe « long-terme » (sacrifices entre 8 et 12 mois post-lésion). Les différents groupes et sous-groupes, les caractéristiques générales des marmousets de l'étude présentée, ainsi que les particularités propres à chacun et les dates de réalisation des différentes étapes du protocole sont détaillés dans la **Table 1**.

Groupe	Nom Nom puce	Sexe	Date naissance	Date début comportement	Date lésion Hémisphère lésé	Date implantation	Date sacrifice Temps post-lésion	Date de coupe Epaisseur	Volume lésionnel pré-sacrifice (mm³)	TR au Crésyl Violet (%)	Autre
Groupe implants (lésion + implants)	Gollum 290	M	23/10/2013	30/11/2017	17/04/2018 D	26/04/2018	06/09/2018 4,5 mois	19/09/2018 Coronales 30 µm	117,75	7,79	/
	12F2 743	F	28/08/2008	Décembre 2014	15/04/2015 D	22/04/2015	08/09/2015 5 mois	01/10/2018 Coronales 30 µm	118,33 (à 3 mois)	21,78	> Crises d'épilepsie > Croûte de sang sur cerveau > PNN > Ajout ChABC
	18M2 721	M	28/08/2008	Décembre 2014	16/04/2015 D	22/04/2015	Janvier 2016 9 mois	09/11/2017 Coronales 30 µm	91,53	7,8	Ajout ChABC
	18M1 669	M	07/03/2010	Décembre 2014	15/04/2015 D	22/04/2015	Janvier 2016 9 mois	12/12/2016 Axiales 250-500 µm	194,177	/	> Coupes épaisses non exploitables IF > Ajout ChABC
Groupe lésés (lésion seule)	TooSpeed 2184	M	13/04/2012	20/02/2017	(1) 13/06/2017 D (2) 22/03/2021 G	31/03/2021	Décès 12/01/2022 10 mois	13/04/2022 Coronales 30 µm	109,74	21,31	> 1 ^{ère} lésion non déficitaire > Lésion déficitaire non corrélée au membre dominant > 7 µL de malonate au lieu de 8 µL 2 ^{ème} lésion > Epilepsie décembre 2021 - décès > Pas PFA > PNN
	Mama 2163	F	21/06/2012	20/02/2017	12/06/2017 G	/	11/10/2017 4 mois	04/12/2017 Coronales 30 µm	29,39	12,14	/
	9Haut 702	M	22/09/2009	Novembre 2013	08/04/2014 G	/	29/09/2014 5,5 mois	09/12/2014 Coronales 40 µm	153,48 (à 3,5 mois)	7,22	Coupes légèrement plus épaisses
	17MBas 682	M	24/10/2010	Octobre 2015	15/03/2016 D	/	15/11/2016 8 mois	17/09/2018 Coronales 30 µm	98,36	11,71	/
	Haut 685	M	02/04/2011	Octobre 2015	02/03/2016 D	/	16/11/2016 8,5 mois	28/09/2018 Coronales 30 µm	247,13	2,05	/
	18Bas 671	M	31/05/2009	Septembre 2014	13/01/2015 G	/	Janvier 2016 12 mois	04/2016 Coronales 30 µm	59,51 (à 10 mois)	2,33	/

Table 1. Tableau présentant les caractéristiques des différents marmousets utilisés dans cette étude et leur répartition dans les différents groupes et sous-groupes de l'étude. F : Femelle ; M : Mâle ; TR : tissu en reconstruction ; PNN : Polynucléaire Neutrophile ; ChABC : chondroïtinease ABC ; IF : Immunofluorescence ; PFA : Paraformaldéhyde. Groupe « marmousets implants » en orange pâle et groupe « marmousets lésés » en bleu. Marmousets du sous-groupe « sacrifices à court-terme » en vert pâle et marmousets du sous-groupe « sacrifices à long-terme » en jaune pâle.

B. Protocole expérimental

Le protocole débute minimum 2 mois avant la réalisation de la lésion cérébrale par un entraînement aux différents tests comportementaux (décrits dans les paragraphes correspondants) environ 3 à 5 fois par semaine. L'évaluation neurologique est débutée concomitamment par cotation à l'aide d'une échelle neurologique sous forme de grille (présentée par la suite) deux fois par semaine. Une première session d'IRM est réalisée la semaine précédant la réalisation de la lésion cérébrale.

A J0, les dix marmousets reçoivent une injection intracérébrale de 8 μ L de malonate (7 μ L pour un des implantés, TooSpeed) selon le protocole décrit par la suite, de manière à créer une lésion focale ischémique au niveau du cortex moteur primaire. Des sessions d'IRM sont ensuite réalisées 24h et 8 jours après la chirurgie lésionnelle, de manière à avoir un suivi anatomique de la lésion créée à court terme et avant l'implantation. Après la lésion, l'évaluation comportementale est maintenue 3 fois par semaine et l'échelle neurologique 1 fois par semaine le premier mois.

Dix jours après la lésion, cinq implants en silicone de 2 mm x 4 mm x 0,25 mm sont insérés chirurgicalement dans la cavité lésionnelle des cinq marmousets du groupe « implants ». Directement après l'implantation du biomatériau, deux fois 10 μ L de chondroïtinase ABC (ChABC, 12 U/mL) sont administrés en deux sites d'injection dans le tissu péri-lésionnel chez 3 marmousets implantés (12F2, 18M1 et 18M2).

Des sessions d'IRM sont ensuite réalisées à 1 mois et 3 mois après la lésion cérébrale, puis avant les sacrifices. Après le premier mois post-lésion, les tests comportements sont réalisés uniquement 3 fois la première semaine de chaque mois et l'échelle neurologique est évaluée une fois chaque semaine de test, jusqu'aux sacrifices des marmousets.

A la fin de l'étude, les animaux sont euthanasiés à court-terme (4 à 5 mois post-lésion) ou à long-terme (entre 8 et 12 mois post-lésion), dans le but de procéder à des analyses histologiques. Mon implication dans ce projet constituant la thèse présentée dans ce manuscrit concerne principalement cette réalisation *post-mortem* d'analyses histologiques, et en particulier, la réalisation des analyses d'immunofluorescence sur les coupes de cerveau des marmousets de l'étude.

La **Figure 17** présente l'ensemble des étapes de ce protocole sur une frise chronologique.

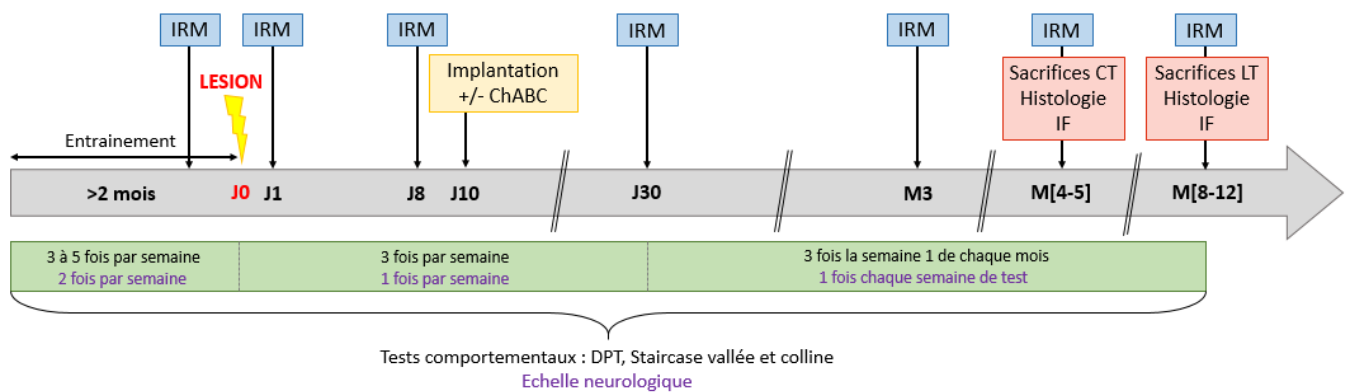


Figure 17. Frise chronologique présentant les différentes étapes du protocole expérimental global. IRM : Imagerie par Résonance Magnétique ; ChABC : chondroïtinase ABC ; Sacrifices CT : sacrifices à court-terme dans l'étude (4 à 5,5 mois post-lésion) ; Sacrifices LT : sacrifices à long terme dans l'étude (8 à 12 mois post-lésion) ; DPT : Dynamometric Pull Test.

Les étapes présentées succinctement constituant l'ensemble de ce projet vont maintenant être abordées de manière plus détaillée.

C. Etude comportementale

1. Evaluations comportementales

Avant la réalisation de la lésion, les marmousets sont entraînés à différents tests comportementaux qui permettront par la suite d'évaluer l'effet déficitaire de la lésion cérébrale ainsi qu'une potentielle récupération. Ces tests permettent également de déterminer la patte dominante de chaque individu et donc de définir l'hémisphère qui sera lésé. Avant lésion, les marmousets sont entraînés 3 à 5 fois par semaine pendant au moins 2 mois jusqu'à atteindre un plateau de maximum de performance, répétable. Avant chaque session de test comportemental, les marmousets sont isolés dans une moitié de leur cage par disposition d'une plaque en plexiglas pour faciliter leur concentration et limiter la distraction occasionnée par leur compagnon d'hébergement. Aucune restriction hydrique n'est réalisée avant les tests. Cependant, les marmousets reçoivent leur ration quotidienne alimentaire seulement après les tests, afin d'augmenter la motivation et la participation aux tests. Les récompenses aux tests comportementaux sont des petites boulettes de pain ou de pain d'épice. A la fin de la durée de l'entraînement (minimum 2 mois), une valeur de référence pour chaque marmouset est déterminée par la moyenne des trois dernières valeurs de performance réalisées dans chacun des tests comportementaux.

Après la réalisation de la lésion cérébrale, les marmousets sont testés 3 fois par semaine pendant le premier mois, puis 3 fois chaque première semaine des mois suivants jusqu'à la fin du protocole, au moment des sacrifices (minimum 3 mois post-

lésion). L'échelle neurologique est quant à elle réalisée deux fois par semaine pendant l'entraînement avant lésion, puis une fois par semaine le premier mois post-lésion et une fois la première semaine de chaque mois par la suite, jusqu'à la fin du protocole.

Pour les tests comportementaux, pendant la phase d'entraînement, le membre thoracique avec les scores significativement plus élevés pour chaque marmouset est considéré comme le membre dominant. Cela conditionne le choix de l'hémisphère cérébral à léser. Le membre dominant représente ainsi le futur membre contrôlé, tandis que le membre non-dominant représente quant à lui le futur membre ipsi-lésionnel.

2. Tests de l'escalier colline et vallée (Hill and Valley staircases)

Ces tests permettent d'évaluer la dextérité des membres thoraciques, et sont inspirés du test de l'escalier de Marshall et al. (Marshall, Ridley 1996), avec quelques modifications. Cela consiste en une cage en plexiglas attachée à la place de la porte de la cage des marmousets comportant deux escaliers de cinq marches sur lesquelles sont placées des récompenses (petits morceaux de pain d'épice) accessibles par des fentes dans la plaque de plexiglas.

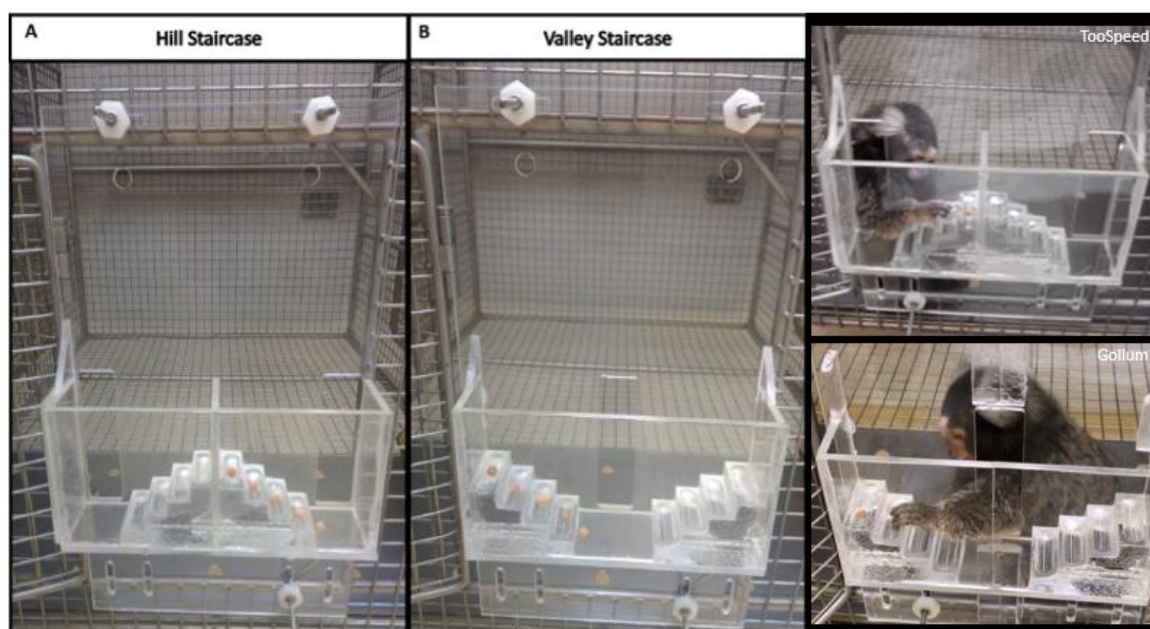


Figure 18. Illustrations des tests comportementaux de l'escalier en version colline (« Hill Staircase », A) et vallée (« Valley Staircase », B). Les images des tests sont extraites d'un article de Boris Demain (Demain et al. 2015), et des photos de deux marmousets implants de l'étude, TooSpeed et Gollum, ont été rajoutées pour illustrer respectivement la réalisation de la version colline et vallée de ce test.

Le test du staircase ou de l'escalier présente deux configurations : l'une colline et l'autre vallée (**Figure 18**). Dans la version colline (« Hill staircase »), l'accès aux

escaliers se fait par deux fentes latérales aux deux extrémités de l'appareil, de manière à ce que le membre utilisé par le marmouset pour récupérer les récompenses soit le même que celui du côté de la colline concerné (le marmouset utilise son membre thoracique droit pour récupérer les récompenses de l'escalier situé à droite de la colline). La version colline permet donc d'évaluer la dextérité du bras ipsi-lésionnel en utilisant l'hémichamp visuel ipsi-lésionnel et inversement. Seul, il ne prend donc pas en compte l'influence d'une héminégligence. La version vallée (« Valley staircase ») est donc complémentaire. Dans cette version, les deux escaliers sont situés de part et d'autre du dispositif et l'accès à chaque volée de marche se fait par une unique fente centrale. Ainsi, le marmouset utilise son membre thoracique droit pour atteindre les récompenses situées sur l'escalier à sa gauche et inversement. Ce test évalue donc la dextérité du bras contro-lésionnel avec l'hémi-champ visuel ipsi-lésionnel et inversement. Cela permet de mieux faire la distinction entre un déficit moteur et un déficit visuo-spatial. En effet, s'il y a une baisse similaire des performances aux deux versions, on pourra alors exclure une héminégligence, alors qu'un déficit plus important en vallée pourrait être attribué à une héminégligence.

Le principe de ces deux versions du test consiste à passer le membre thoracique testé dans l'ouverture correspondante et à récupérer les récompenses placées sur chacune des marches de l'escalier (**Figure 18**), la première étant la plus simple à atteindre et la cinquième étant la plus difficile. Des renforcements de 3 mm de profondeur ont été rajoutés aux marches sur presque toute la longueur (3 cm), pour augmenter encore la difficulté du test par rapport à la version originale de Marshall et al. (Marshall, Ridley 1996). Les marmousets récupèrent les récompenses sur chaque marche, et chaque marche a un score assigné : 1 à 5 points attribués par marche, de la plus basse à la plus haute, donc 15 points maximum attribués par membre. De plus, contrairement à l'étude de Marshall dans laquelle aucun point n'est attribué si la récompense atterrit sur une marche inférieure, il a été décidé ici d'accorder le point de la marche sur laquelle la récompense tombe.

A chaque session comportementale, les deux versions du test sont réalisées pour chaque membre thoracique de chaque marmouset et chronométrées. 5 minutes sont accordées à chaque marmouset par membre pour récupérer les récompenses. De plus, les tests vallées et colline ainsi que le premier membre thoracique testé sont alternés à chaque entraînement, afin de randomiser chaque séance.

3. Test de force de traction du membre thoracique : « Dynamometric Pull Test »

Le test de force de traction du membre thoracique ou « Dynamometric Pull Test » (« DPT ») permet de mesurer de manière quantitative la force de traction du membre thoracique et permet également d'évaluer la capacité du marmouset à agripper et à tirer une poignée. Le dispositif en plexiglas a été créé dans le laboratoire spécialement pour le marmouset (**Figure 19**). Il est fixé à la place de la porte de la cage-habitat des marmousets. Sur ce dispositif, une fente permet au marmouset d'atteindre une poignée (orientation modifiable) reliée à un dynamomètre. A chaque traction sur la poignée, une petite récompense (petit morceau de pain d'épice) est libérée dans une auge et rendue accessible au marmouset, à condition que la force de traction appliquée soit suffisante. Cette force est mesurée par le dynamomètre, et le résultat s'affiche à chaque traction en Newtons. L'évaluation se fait en 5 étapes et commence à 1 Newton. La force nécessaire pour libérer la récompense augmente d'1 Newton à chaque étape, ce qui augmente ainsi le niveau de difficulté de manière séquentielle. Les deux membres thoraciques sont évalués séquentiellement pour chaque marmouset. 5 minutes sont accordées à chaque marmouset par membre pour finir le test.



Figure 19. Illustration du test comportemental de force de traction du membre thoracique (« Dynamometric Pull Test » ou « DPT »). L'image de gauche du test est issue de la thèse d'Alice le Fric (2020), et la photo de droite représente un marmouset implants de l'étude, TooSpeed, en train de réaliser le test de force de traction du membre thoracique gauche.

4. Echelle neurologique

Pour cette étude, une échelle neurologique adaptée au marmouset (Kitamura et al. 2011) a été légèrement modifiée pour permettre un score des fonctions sensorimotrices en incluant les scores aux tests comportementaux utilisés (tests de l'escalier et test de force de traction), la mastication de la nourriture ainsi que l'évaluation de la sensibilité de la patte (**Table 2**). Cela a permis d'obtenir des scores plus adaptés aux déficits moteurs constatés dans l'étude. Les différentes parties du corps sont évaluées individuellement (membres thoraciques, membres pelviens, tronc, face), et les côtés droit et gauche du corps sont pris en compte séparément. 22 points peuvent être attribués au maximum par côté. Cette échelle neurologique permet d'évaluer la motricité, la sensibilité (profonde et superficielle), l'équilibre ainsi que la mastication.

MOTRICITE (maximum 10 points par côté)		
A. Membre thoracique (maximum 7 points par côté)		
Utilisation du DPT	Ne passe pas le membre dans l'ouverture	+0
	Passe le membre dans l'ouverture	+1
	Agrippe la poignée	+2
	Tire sur la poignée	+3
Utilisation volontaire du Staircase	Ne passe pas le membre dans l'ouverture	+0
	Passe le membre parétique sous contrainte	+1
	Utilisation correcte et spontanée	+2
Capacité à atteindre et précision	Anormale	+0
	Normale	+1
Marche au sol/mouvement	Anormal	+0
	Normal	+1
B. Membre pelvien (maximum 3 points par côté)		
Position debout	Non possible	+0
	Possible mais instable	+1
	Normale	+2
Marche au sol/mouvement	Anormal	+0
	Normal	+1
SENSIBILITE (maximum 7 points par côté)		
A. Membre thoracique (maximum 5 points par côté)		

Port du poids sur le sol de la cage	Main ne touchant pas le sol	+0
	Contact anormal entre la main et le sol	+1
	Normal	+2
Fréquence de contact main/sol	Absence de contact	+0
	Contact moins fréquent que la main saine	+1
	Contact équivalent entre les deux mains	+2
Sensibilité à un stimulus léger*	Anormale	+0
	Normale	+1
B. Membre pelvien (maximum 2 points par côté)		
Port du poids sur le sol de la cage	Contact anormal avec le sol	+0
	Normal	+1
Sensibilité à un stimulus léger*	Anormale	+0
	Normale	+1
TETE (maximum 2 points par côté)		
Mastication de nourriture	Ne mange pas	+0
	Anormale	+1
	Normale	+2
TRONC (maximum 1 point par côté)		
Position du tronc assis**	Posture asymétrique	+0
	Normale	+1
SAUTS (maximum 3 points par côté)		
Sauts entre les côtés de la cage	Absence de sauts	+0
	Peu de sauts ou sauts plus courts	+1
	Normal	+2

Table 2. Echelle neurologique adaptée pour les marmousets de l'étude, lésés au niveau du cortex moteur primaire.

*La sensibilité a été testée en piquant la paume de la main du marmouset à l'aide d'un cure-dent après distraction.

**La position du tronc a été évaluée par une observation minutieuse du marmouset quand ce dernier était assis en face des appareils de test.

D. Conception et fabrication des implants en PDMS

La conception précise de ces implants a fait l'objet d'une précédente thèse publiée par Amélie Bédier en 2012, et une partie du processus est présenté dans un de ses articles (Bédier et al. 2012). Elle provient d'une collaboration avec le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS).

Pour présenter les grandes lignes de cette conception, les biomatériaux constituant les implants sont obtenus à partir de polydiméthylsiloxane (PDMS), un élastomère inerte et non-cytotoxique largement utilisé à des fins biomédicales notamment grâce à sa haute biocompatibilité, mais également de par son excellente résistance à la biodégradation et à sa flexibilité (Miranda et al. 2021). Des renforcements linéaires (rainures) ont été façonnés dans ce PDMS de manière à optimiser l'adhésion et la différenciation cellulaire.

Les implants de cette étude sont créés par 5 à partir d'un timbre. Ce dernier s'obtient par dépôt d'environ 10 mL d'un mélange de PDMS liquide et de réticulant (ratio de 10 : 1 selon les recommandations du fournisseur, « PDMS Sylgard™ 184 Silicone Elastomer Kit » pour 3 marmousets et « Silastic™ MDX4-4210 BioMedical Grade Elastomer », grade médical, pour le marmouset TooSpeed, (Dow Corning)) sur un moule de silicium circulaire à l'architecture souhaitée (rainures verticales de dimensions optimales pour l'expansion neuronale), obtenue par photolithographie, pouvant contenir jusqu'à 37 timbres. Le Silastic™ étant de grade biomédical, il a été utilisé sur le marmouset TooSpeed dans le but d'une future transposition à l'Homme. Le mélange est ensuite étalé sur le moule avec un « Spin-coater » à 610 révolutions par minute (rpm) pendant 60 secondes (accélération de 300 rpm/s) pour le Sylgard™, et à 1000 rpm pendant 3 minutes (accélération de 300 rpm/s) pour le Silastic™. Cela permet une répartition égale du PDMS sur l'ensemble du moule à une épaisseur de 100 µm. Le tout est par la suite chauffé à 80°C pendant 3h pour permettre la réticulation du PDMS. Il s'agit également d'une première étape vers la stérilisation du PDMS. Les timbres sont ensuite décollés stérilement du moule et apposés par deux dos-à-dos en utilisant une fine couche de PDMS non réticulé comme collant. Cela permet d'obtenir ainsi une structure de timbres en PDMS micro-structurés double-faces d'une épaisseur d'environ 250 µm (microstructures à l'extérieur). L'ensemble est ensuite mis à réticuler pendant encore 1h à 100°C. Par la suite, les bi-timbres en PDMS sont prédécoupés aux bonnes dimensions à l'aide d'un scalpel. On obtient ainsi 5 tigettes de 2mm x 5mm x 0,25 mm à partir d'un timbre. Ces tigettes sont ensuite placées dans un support en teflon fait sur mesure, qui permet de les maintenir de façon à faciliter les étapes suivantes. Puis, un traitement oxydant des tigettes au plasma à oxygène permet de fonctionnaliser leur surface en les rendant temporairement hydrophiles, facilitant ensuite l'adhérence des protéines de « coating » (polylysine/laminine) et contribuant fortement à leur stérilisation (paramètres du plasma à oxygène : 50W, T = 40°C, Flux O2 = 1000 mL/min, P = 0,5-0,6 mbar, t = 1

min 30 par côté). L'effet de ce traitement oxydant ne durant qu'une trentaine de minutes, l'étape de « coating » des tiges doit être réalisée rapidement. Cette étape consiste à l'incubation des tiges dans un bain de poly-L-lysine hydrobromide (100 µg/mL, Sigma #P1149) pendant 4h à température ambiante, puis dans un bain de laminine (40 µg/mL, Invitrogen #23017-015) pendant une nuit à température ambiante. Pour finir, le millimètre ayant servi à la préhension des tiges sera coupé au moment de l'implantation, menant à l'obtention d'implants de 2mm x 4mm x 0,25mm.

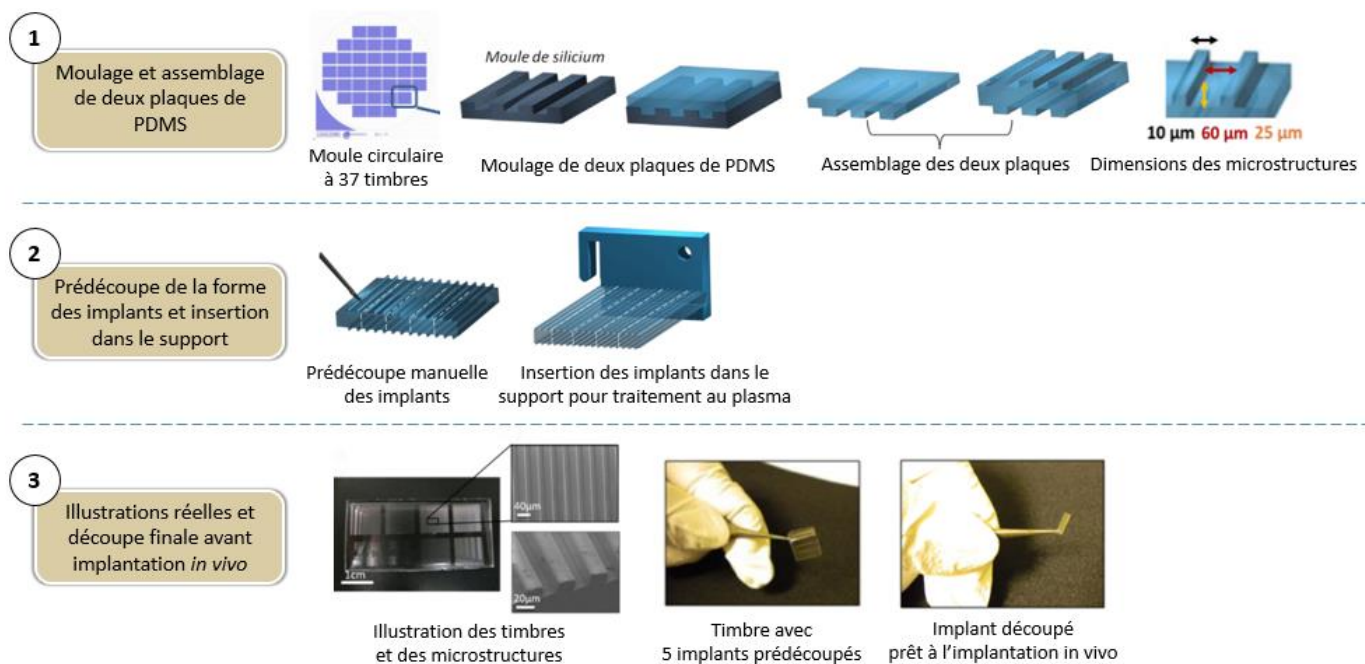


Figure 20. Illustration de la procédure de fabrication des implants en PDMS. Figure adaptée à partir des illustrations et des figures des thèses d'Amélie Bédier et d'Alice LeFric.

La **Figure 20** permet d'illustrer les grandes étapes de la construction de ces implants présentées dans le paragraphe précédent. Le protocole global détaillé est disponible dans les thèses d'Amélie Bédier et d'Alice LeFric ainsi que dans certains articles publiés de l'équipe (Bédier et al. 2012; L. Vaysse et al. 2015).

E. Procédures de lésion et d'implantation

1. Lésion cérébrale aiguë

Le modèle de lésion cérébrale aiguë utilisé dans cette étude est celui de l'injection intracérébrale de malonate au niveau du cortex moteur primaire initialement mis au point dans l'équipe iDREAM de l'unité ToNIC chez le rat (Laurence Vaysse et al. 2015), avant d'être transposé et adapté chez le marmouset (Le Fric et al. 2021). Ce modèle a été présenté dans la partie I de ce manuscrit. Il a la particularité d'être

focal et d'induire une lésion cérébrale mimant les effets d'un AVC ischémique, sans la composante d'occlusion vasculaire néanmoins. Il permet également de cibler la zone à léser. Cette étude chez le marmouset en fait la première à utiliser le malonate chez le primate.

Les marmousets sont mis à jeun 12 heures avant la chirurgie. La veille de l'intervention, ils reçoivent une injection en intramusculaire (IM) d'antibiotique longue-action (oxytetracycline, 20 µg/kg, Terramycine longue action®, Pfizer, Paris, France). En prémédication de l'anesthésie, l'analgésie est mise en place par injection IM de buprénorphine (25 µg/kg, Vétergesic®, Reckitt Benckiser Healthcare, Danson, UK). 15 à 30 minutes avant l'induction de l'anesthésie, les marmousets reçoivent une injection IM de glycopyrrolate (20 µg/kg, Robinul-V®, Vetoquinol, Lure, France) pour limiter toute salivation excessive. L'induction de l'anesthésie est ensuite réalisée par l'injection d'alfaxalone (7 mg/kg, Alfaxan®, Worcestershire, UK), puis la maintenance est réalisée par un agent volatil, l'isoflurane (1-3%) à 100% d'O₂.

Tout le long de l'anesthésie, la saturation en oxygène est maintenue au-dessus de 95% et la température rectale proche de 37,5°C à l'aide d'un tapis chauffant. En cas de détresse respiratoire, 2 gouttes de doxapram (Dopram®, Vetoquinol) sont administrées en intra-nasal.

Après tonte du crâne, les marmousets sont placés sur la table de chirurgie, la tête immobilisée par des barres d'oreilles, et le monitoring mis en place. Avant le début de la procédure, 0,15 mL de lidocaïne (Laocaïne®) sont administrés en deux injections sous-cutanées de part et d'autre de la zone d'incision. Un anti-inflammatoire est également injecté en IM pour éviter tout œdème excessif (dexaméthasone, 2 mg/kg, Dexadreson®).

Sous conditions aseptiques, l'incision cutanée du crâne est ensuite réalisée et le lieu de forage repéré pour cibler le cortex moteur primaire par stéréotaxie (AP +6 mm, ML +/-4.5 mm, DV +5mm par rapport au Bregma, « Stereotaxic Atlas of the Marmoset Brain » (Yuasa et al. 2010)). L'hémisphère ciblé correspond à l'hémisphère controlatéral à la patte dominante, déterminé en fonction des performances aux tests comportementaux. Après repérage, un trou de faibles dimensions est creusé dans la zone ciblée (1x1 mm). La dure-mère est incisée, puis 8 µL de malonate 3M est injecté directement dans la zone ciblée à l'aide d'une seringue de 10 µL (Hamilton 701N Series, Phymep, Paris, France, aiguille de 0.485 mm de diamètre métrique interne, 26 G) connectée à une micro-pompe (injection à 1 µL/min). Après injection, l'aiguille est

maintenue en place pendant encore 5 minutes pour éviter toute résurgence. La peau est ensuite suturée avec du fil Vicryl[®] épaisseur 3-0, et la zone est désinfectée à la bétadine. Après réveil, les animaux sont reconduits en cage et un monitoring journalier est réalisé le temps de la convalescence (1-3 jours). 24h et 48h après l'intervention, les marmousets reçoivent des injections IM de dexaméthasone (0,5 mg/kg BID, Dexadreson[®]). En cas de douleur modérée suite au forage crânien, la douleur est prise en charge par l'administration IM d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) (acide tolfénamique, 2 mg/kg/jour, Tolfédine[®], Vétquinol).

La fiche de suivi des marmousets à remplir tout le long de l'intervention pour monitorer les constantes et suivre les différentes étapes de la chirurgie est disponible en annexe (**Annexe 5**).

2. Greffe des implants en PDMS

Dix jours après l'injection de malonate et donc la création de la lésion cérébrale, la chirurgie d'implantation des biomatériaux est réalisée chez les marmousets du groupe « Implants » (n = 5). Cette chirurgie se réalise globalement comme la précédente en ce qui concerne l'anesthésie et les étapes de manipulation, à quelques éléments près. Ici, une fenêtre de 0,5 cm de diamètre est réalisée dans le crâne des marmousets au niveau du site lésionnel, de manière à permettre la greffe de cinq implants en silicone de 2 mm x 4 mm x 0,25 mm dans la cavité lésionnelle. Ainsi, une fois le volet crânien retiré et la dure-mère incisée, environ 0,5 mL de tissu lésé nécrotique est retiré de manière à compenser le volume ajouté et permettre la bonne insertion des implants dans le site lésionnel. Ces derniers sont donc ensuite disposés dans la lésion de manière verticale, en évitant au mieux les chevauchements. La fin de la procédure est la même que celle décrite pour la chirurgie précédente, de même que le suivi post-opératoire, identique pour tous les animaux.

La fiche de suivi des marmousets à remplir tout le long de l'intervention pour monitorer les constantes et suivre les différentes étapes de la chirurgie d'implantation est disponible en annexe (**Annexe 6**).

3. Traitement à la chondroïtinase

Par la connaissance du développement d'une cicatrice gliale post-AVC et de ses potentiels effets interférant avec la recolonisation de la cavité lésionnelle, il a été décidé d'inclure l'injection de chondroïtinase (ChABC) au protocole de cette étude pour

3 des marmousets « implants » sur 5, de manière à étudier par la suite son influence sur les résultats des récupérations fonctionnelle et cellulaire. Au vu de la littérature, il est attendu de l'injection de ChABC qu'elle permette de réduire l'épaisseur gliale et donc de rendre le site lésionnel plus perméable aux échanges entre les implants du site lésé et le tissu hôte, sain. Elle permettrait ainsi une meilleure repousse axonale (Bradbury, Carter 2011; Zhang et al. 2013; Hettiaratchi et al. 2019).

Ainsi, dans le protocole de cette étude, immédiatement après l'implantation des biomatériaux dans le site lésionnel, deux fois 10 μ L de chondroitinase ABC (ChABC, 12 U/mL, Sigma) sont administrés directement dans le tissu péri-lésionnel de 3 marmousets « implants » (12F2, 18M2 et 18M1, voir **Table 1** p.140). L'administration est effectuée avec une seringue Hamilton (série 701N) de 10 μ L, équipée d'une aiguille 26G (Phymep, Paris, France), à un débit de 1,5 μ L/min grâce à un micro-injecteur, en deux sites d'injection, à raison de 2 x 10 μ L, soit une dose totale de 240 mU. L'aiguille est maintenue en place pendant cinq minutes après les injections afin d'éviter une résurgence du produit.

F. Suivi IRM

1. Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), *in vivo*

Pour cette étude, des sessions d'IRM sont réalisées sur les différents marmousets juste avant la lésion puis 24h, 1 semaine, 1 mois et 3 mois post-lésion. Deux séquences d'IRM sont utilisées : une imagerie pondérée T1 afin d'avoir une caractérisation anatomique et une imagerie pondérée T2 afin d'obtenir une caractérisation tissulaire et d'observer la lésion et l'œdème. Les sessions d'IRM sont réalisées avec un scanner IRM 3 Tesla Achieva (Philips), ou 7 Tesla pour certaines images (marmouset TooSpeed en particulier). Une antenne de genou humain (a), une antenne de poignet humain (b) ainsi qu'une antenne solénoïde (c) ont été utilisées pour les différentes pondérations. Pour chaque examen dans l'antenne de genou ou de poignet, les marmousets sont anesthésiés par une injection IM d'alfaxalone (environ 18 mg/kg administré au total) et placés en décubitus dorsal dans un berceau en plastique moulé. Deux marmousets sont placés tête contre tête dans l'antenne de genou, là où un seul marmouset est disposé dans l'antenne de poignet. Lors de l'utilisation de l'antenne solénoïde, les marmousets, en position ventrale, reçoivent d'abord une injection IM de 7 mg/kg d'alfaxalone avant relais à l'isoflurane (1,5-3%).

La séquence haute résolution spatiale 3D pondérée en T1 est réalisée avec les paramètres suivants en utilisant (a) l'antenne de genous : $TR'/TE = 11/4,9$ ms, $FOV = 135 \times 95 \times 45$ mm³, taille de voxel = $0,4 \times 0,4 \times 0,7$ mm³, angle de refocalisation = 8°, NSA = 4, durée = 23 min. (b) En utilisant l'antenne de poignet humain : $TR'/TE = 10,5/4,70$ ms, $FOV = 135 \times 95 \times 45$ mm³, taille de voxel = $0,34 \times 0,45 \times 0,35$ mm³, NSA = 128, durée = 18,05 min. (c) Et en utilisant l'antenne solénoïde : $TR'/TE = 11/5$ ms, $FOV = 100 \times 71,1 \times 39,9$ mm³, taille de voxel = $0,30 \times 0,46 \times 0,30$ mm³, NSA = 133, durée = 14,11 min. Cette séquence est réalisée pour tous les marmousets au moins une fois, mais à des moments différents du protocole.

La séquence haute résolution spatiale 3D pondérée en T2 est réalisée avec les paramètres suivants en utilisant (a) l'antenne de genou humain : $TR'/TE_{eff} = 4800/467$ ms, $FOV = 90 \times 94 \times 30$ mm³, taille de voxel = $0,50 \times 0,63 \times 1,00$ mm³, NSA = 30, durée = 21 min. (b) En utilisant l'antenne de poignet humain : $TR'/TE_{eff} = 4800/467$ ms, $FOV = 90 \times 94 \times 30$ mm³, taille de voxel = $0,50 \times 0,63 \times 1,00$ mm³, NSA = 30, durée = 8,48 min (n=3 marmousets implants). (c) En utilisant l'antenne solénoïde : $TR'/TE_{eff} = 2500/552$ ms, $FOV = 100 \times 72,2 \times 39,9$ mm³, taille de voxel = $0,30 \times 0,30 \times 0,30$ mm³, NSA = 133, durée = 17,05 min, avec un facteur turbo = 120 et un angle de refocalisation = 35° (n=1 marmouset implants). Cette séquence est réalisée pour tous les marmousets au moins une fois, mais à des moments différents du protocole.

Une séquence d'IRM à densité de proton est également réalisée avec les paramètres suivants : $TR'/TE = 5000/10$ ms, $FOV = 38 \times 38 \times 27$ mm³, taille de voxel = $0,40 \times 0,40 \times 0,40$ mm³, NSA = 15, durée = 7,40 minutes (n=1 marmouset implants).

Les images des cerveaux de chaque marmouset sont ensuite individualisées, reconstruites et alignées dans le plan bi-commissural.

2. Analyses d'images et statistiques

Selon le marmouset, l'hémisphère lésé n'est pas toujours le même, car le choix de l'hémisphère ciblé est dépendant de la patte dominante. Aussi, pour homogénéiser et faciliter l'analyse des images, certaines sont retournées par rapport au plan inter-hémisphérique de sorte que la lésion se trouve dans l'hémisphère dit « gauche ».

Le volume lésionnel est calculé sur les images natives pondérées en T2 en utilisant une segmentation semi-automatique des régions d'intérêt avec le logiciel MRICron (Rorden, Brett 2000). De manière plus précise, les régions d'intérêt, réalisées sur Image J, sont dessinées manuellement pour chaque marmouset. Les régions

d'intérêt permettent également d'obtenir le volume lésionnel en cm³ et donc pour chaque temps, la moyenne et l'écart type de l'ensemble du groupe.

G. Sacrifices

A la fin du protocole, au minimum 4 mois après la chirurgie lésionnelle pour le groupe des sacrifices à court terme et jusqu'à 12 mois après pour le groupe des sacrifices à long terme, les animaux sont sacrifiés de manière à récupérer les cerveaux pour réaliser les études histologiques.

Dans un premier temps, les marmousets sont anesthésiés par une injection IM de 9 mg/kg d'alfaxalone (9 mg/kg). Ils reçoivent ensuite une injection intrapéritonéale de 100 mg/kg de pentobarbital de sodium avant d'être perfusés par voie intracardiaque avec du tampon d'héparine chaud, de manière à vider la circulation sanguine de son sang en évitant la formation de caillots. Ils sont ensuite perfusés en intracardiaque avec du paraformaldéhyde (PFA) 4% froid, de manière à permettre la fixation des tissus. Puis, le cerveau est extrait de la boîte crânienne et placé dans des bains successifs de PFA 4% puis de solutions à 10%, 20% et 30% de sucrose. Les cerveaux sont ensuite stockés à -20°C dans de la solution cryoprotectrice en attendant la coupe. Le protocole détaillé de ces étapes est disponible en annexe (**Annexe 7**).

Une exception est à noter pour le marmouset implanté TooSpeed qui n'a pas eu de perfusion intracardiaque, de par son décès prématuré suite à des crises épileptiformes. Le cerveau a été extrait de la boîte crânienne quelques minutes après le décès et a été fixé par des bains successifs de PFA 4% avant stockage à -20°C dans la solution de cryoprotection.

H. Histologie

1. Coupe des cerveaux

Les cerveaux doivent ensuite être coupés afin de réaliser des analyses histologiques. Dans les précédentes études réalisées dans l'équipe sur le modèle rat (Davoust et al. 2017), il s'est avéré difficile de conserver les implants en PDMS au sein des coupes, de par leur rigidité, et donc de conserver l'intégralité du tissu en reconstruction autour des implants. Afin de palier à ce problème, l'équipe a tout d'abord tenté de réaliser des coupes axiales épaisses de 250 et 500 µm d'épaisseur en utilisant un vibratome. Cette méthode est celle utilisée pour la découpe du cerveau du marmouset implanté 18M1. Cependant, bien que le déchirement tissulaire semble

atténué avec cette technique, les implants ne restent pas en place et se désolidarisent à la coupe. De plus, les analyses immunohistochimiques se sont révélées difficiles à réaliser et à interpréter du fait de l'épaisseur des coupes avec cette technique. Les données relatives à ce marmouset dans cette étude se restreignent donc aux données comportementales et au suivi IRM, les données histologiques étant inexploitable.

Pour les 4 autres marmousets implantés (Gollum, 12F2, 18M2 et TooSpeed), il a donc été décidé de retirer les biomatériaux avant la coupe. Sous une loupe binoculaire, le tissu méningé qui s'est reformé au-dessus de la lésion est délicatement disséqué à l'aide d'une aiguille et d'une pince stériles et les implants sont retirés à l'aide de la pince stérile. Cette résection se fait sans grande résistance et sans endommager macroscopiquement le tissu cérébral. Les implants sont ensuite conservés dans une solution cryoprotectrice à -20°C en attendant la réalisation des analyses d'immunofluorescence.

Avant la découpe des cerveaux, ces derniers sont incubés dans 2 bains successifs de 24 à 48h de Phosphate-Buffered Saline 1X (PBS 1X), afin d'éliminer la solution cryoprotectrice, puis dans 3 bains successifs de sucrose à 30%. Les cerveaux sont alors coupés avec un cryomicrotome (Microm HM 450, Microm France) en sections coronales de 30 µm d'épaisseur. Le protocole précis de découpe des cerveaux à 30 µm au cryomicrotome est disponible en annexe (**Annexe 8**). Toutes les 14 sections, une coupe est stockée à part dans du PBS 1X et sera utilisée pour la coloration au crésyl violet (voir partie suivante). Les autres coupes sont quant à elles conservées dans de la solution cryoprotectrice à -20°C en attendant les analyses d'immunofluorescence.

A partir de cette étape, les manipulations qui vont suivre sont des parties du protocole auxquelles j'ai activement pris part pendant la réalisation de ma thèse, à des degrés plus ou moins importants, qui seront précisés.

2. Coloration de Nissl – Crésyl violet

Principe et mise en place.

La coloration au crésyl violet est également appelée coloration de Nissl car elle colore les neurones qui contiennent la substance de Nissl. Cette substance est une organisation en amas du réticulum endoplasmique granuleux (REG). Sa quantité, sa forme et sa distribution varient en fonction du type de neurone. En raison de la grande

quantité d'ARN présente, la substance de Nissl est fortement basophile et sera donc colorée par des colorants basiques tels que le crésyl violet, lui donnant ainsi une coloration bleu/violette. La sensibilité du crésyl violet lui permet de différencier les éléments cellulaires des neurones (nucléoles des noyaux) en fonction de leur acidité. De manière plus précise, on attend une coloration bleutée des noyaux cellulaires, et une coloration plutôt violette des corps de Nissl. Les noyaux volumineux des neurones ayant une affinité tinctoriale similaire à celle du REG seront également colorés en bleu/violet. Outre les neurones, cette coloration permet de mettre en évidence les cellules gliales.

Pour chaque marmouset, une coupe toutes les 14 sections est colorée au crésyl violet dans les jours suivants la découpe. Cela permet globalement d'avoir des coupes colorées sur l'ensemble du cerveau, de manière à bien localiser la lésion et les structures endommagées avoisinantes. L'ensemble des colorations au crésyl violet ont été réalisées antérieurement à la réalisation de ma thèse, mais une exception est faite pour les coupes du marmouset implanté TooSpeed qui n'a pas eu de perfusion intracardiaque. Les coupes étant alors très friables et fragiles, la première coloration n'a pas donné de résultats exploitables. Pendant la réalisation de cette thèse, de nouvelles coupes représentatives de l'ensemble de la lésion sont donc sélectionnées, puis incubées dans du PBS 1X pour rincer la solution cryoprotectrice, puis dans un bain de PFA 4% afin de renforcer la fixation. Ces coupes sont ensuite colorées au crésyl violet.

Description du protocole.

Les coupes sélectionnées, si nécessaire, sont préalablement lavées de toute solution cryoprotectrice par la réalisation de 3 bains successifs de PBS 1X. Les coupes sont ensuite montées sur lame gélatinée (permettant une meilleure adhésion des coupes à la lame) par une ou deux en fonction de leur taille, puis mises à sécher à l'air libre. Les étapes suivantes sont réalisées sous sorbonne.

La première étape de ce protocole correspond au tannage de la gélatine et au dégraissage des coupes. Cela permet de rendre neutre la gélatine et évite ainsi la coloration intégrale de la lame. Les lames sont mises dans un portoir en verre et sont passées de manière successive dans différents bains dans l'ordre suivant : bain de formol (50ml) + éthanol 95% (200ml) (5 minutes), bain d'éthanol 95% (2 minutes), bain de chloroforme (200ml) + éther (25ml) + éthanol 95% (25ml) (10 minutes), bain d'éthanol 95% (2 minutes), bain d'éthanol 100% (2 minutes), bain de toluène (5

minutes), bain d'éthanol 100% (2 minutes) et bain d'éthanol 95% (2 minutes). Quelques allers-retours sont réalisés avec les lames dans chaque bain de manière à bien permettre la diffusion des solutions et à avoir un résultat final optimal de coloration. Les coupes sont ensuite réhydratées par un bain d'eau désionisée (10 à 20 minutes).

L'étape suivante est celle de la coloration à proprement dite. Pour cela, les coupes sont incubées dans un bain de crésyl violet à 0.5% (Sigma #C5042) contenant 0.3% d'acide acétique. La solution est préparée préalablement et filtrée avant utilisation. Elle peut être réutilisée. Le temps d'incubation est à adapter selon l'âge de la préparation et se situe entre 20 et 40 minutes. Les lames sont rincées avec un bain d'eau désionisée (5 minutes), puis incubées dans un bain d'éthanol 50% additionné à 4 gouttes d'acide acétique (1 à 5 minutes) permettant de décolorer suffisamment les coupes pour distinguer la substance blanche. Enfin, les coupes sont incubées dans un bain d'éthanol 95% (2 minutes), 2 bains successifs d'éthanol 100% (2 minutes chacun) et 3 bains successifs de toluène (5 minutes chacun).

Les coupes sont ensuite directement montées entre lame et lamelle avec un milieu résineux, avant d'être mises à sécher pendant 24 heures sous la sorbonne, puis nettoyées à l'éthanol 70%. Les lames colorées sont stockées à température ambiante. Le protocole entier est également disponible en annexe (**Annexe 9**).

3. Colorations Hématoxyline-Eosine et de Gram

La coloration de Gram (violet de gentiane/safranine ou fuchsine) permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi des bactéries, et d'utiliser ces propriétés pour distinguer et classer les bactéries, s'il y en a. La distinction se fait entre les bactéries Gram positives dotées d'une simple paroi avec une grande quantité de peptidoglycanes (coloration violette), et les bactéries Gram négatives composées de moins de peptidoglycanes mais pourvues d'une membrane externe lipidique supplémentaire (coloration rosée).

L'Hématoxyline-Eosine ou Hémalum-Eosine (H & E) est une coloration histologique topographique bichromatique, qui associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris (ou hémalum) et une coloration des cytoplasmes et du collagène par l'éosine Y. L'hématoxyline est un colorant cationique, dit également basique, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés négativement dits basophiles. Il colore notamment les noyaux en bleu/violet, en se fixant sur les acides

nucléiques. A contrario, l'éosine est un colorant anionique, dit également acide, qui a une affinité pour les éléments cellulaires chargés positivement dits éosinophiles. Il colore le cytoplasme en rose et les autres éléments cellulaires basiques en rose/rouge plus ou moins vifs selon leur acidophilie. Cette coloration est très couramment utilisée en histologie. Elle est dite topographique car elle permet une vue d'ensemble très détaillée de la morphologie et de la structure cellulaire d'un tissu.

Des colorations H & E et de Gram sont réalisées pour deux des marmousets implants de cette étude, pour lesquels l'aspect macroscopique des coupes ainsi que les résultats de la coloration de Nissl nécessitaient des investigations plus poussées quant à la potentielle présence d'une infection au site d'implantation (12F2 et TooSpeed). Pour chacun des deux marmousets, chaque coloration est effectuée sur deux coupes de cerveaux contenant de la lésion. Pour TooSpeed, les colorations sont réalisées dans le laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, avec leurs propres protocoles (protocole ENVT coloration de Gram disponible en **Annexe 10**). Pour 12F2, la coloration H & E est d'abord réalisée au laboratoire de ToNIC, par un membre de l'équipe iDREAM (protocole disponible en **Annexe 11**), puis une coloration H & E ainsi qu'une coloration de Gram sont de nouveau réalisées par la suite au laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Les résultats et conclusions de ces colorations seront présentés succinctement dans la partie correspondante.

4. Immunofluorescence

Principe de l'immunofluorescence sur coupes semi-épaisses flottantes.

Des analyses d'immunofluorescence sont réalisées sur les coupes de cerveaux des marmousets des deux groupes de l'étude, de manière à mettre en évidence la présence de différents types cellulaires dans la zone péri-lésionnelle ainsi que dans le tissu en reconstruction visible sur les coupes. Cela permet aussi de réaliser des quantifications des différents types cellulaires et de comparer les compositions du tissu en reconstruction et de la zone péri-lésionnelle entre les marmousets implantés et les marmousets lésés, sacrifiés à plus ou moins long terme.

L'immunofluorescence est une méthode qui consiste à détecter et localiser une protéine d'intérêt à l'aide d'un anticorps primaire spécifique révélé par un anticorps secondaire couplé à un fluorochrome. L'immunomarquage des protéines d'intérêt est généralement associé à un marquage des noyaux. Couplée à un logiciel d'acquisition

et de traitement de l'image, cette technique permet également de générer des données d'intensité de fluorescence pouvant faire l'objet d'une analyse quantitative. Il est également possible de réaliser des co-marquages.

Marqueurs utilisés.

Les marquages réalisés pendant cette étude ont permis de mettre en évidence et de quantifier la présence des types cellulaires suivants :

- Neurones matures : marqueur nucléaire NeuN (« Neuron specific Nuclear protein »). La protéine NeuN est localisée dans les noyaux et le cytoplasme périnucléaire des neurones matures du SNC des mammifères (Gusel'nikova, Korzhevskiy 2015).
- Neurones immatures : marqueur cytoplasmique β 3tubuline, protéine structurale des microtubules du cytosquelette des neurones immatures.
- Cellules souches neurales : marqueur nucléaire Sox2 (« Sex determining region Y-box 2 »), protéine constituant un facteur de transcription essentiel dans le maintien de l'auto-renouvellement des cellules souches du SNC.
- Astrocytes matures : marqueur cytoplasmique GFAP (« Glial Fibrillary Acidic Protein »), protéine majeure des astrocytes du SNC.
- Microglie : marqueur cytoplasmique Iba1 (« Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 »), protéine membranaire et cytoplasmique se liant au calcium qui est exprimée de façon constitutive dans les monocytes, les macrophages et les lymphocytes CD3+. Dans le cerveau, cette protéine est localisée spécifiquement dans la microglie.
- Cellules endothéliales/vaisseaux : marqueur PECAM-1 (« Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule - 1 ») / CD31 (simplifié en PECAM pour la suite), glycoprotéine transmembranaire exprimée principalement par les cellules endothéliales.

Des marquages uniquement qualitatifs ont également été réalisés, pour lesquels aucune quantification n'a été effectuée. Il s'agit des marquages suivants :

- MAP2 (« Microtubule Associated Protein 2 », protéine cytoplasmique associée aux microtubules impliquée dans l'acquisition et le maintien du phénotype neural, exprimée dans les neurones matures.
- Synaptophysine : glycoprotéine majeure des vésicules synaptiques, marqueur de synapses fonctionnelles.

Les mêmes marquages d'immunofluorescence sont réalisés pour tous les marmousets de cette étude, sauf un marmouset implant (18M1), pour lequel les coupes de cerveau, réalisées au vibratome (comme expliqué dans le paragraphe correspondant), sont trop épaisses, empêchant la réalisation de bons marquages et donc leur exploitation (épaisseur générant trop de bruit de fond au microscope pour une bonne interprétation des résultats d'immunofluorescence). Ce marmouset a donc été exclu de la suite du protocole (immunofluorescence, microscope, quantifications et analyses statistiques).

La liste présentant les anticorps primaires et secondaires utilisés dans cette étude ainsi que leurs molécules cibles est donnée dans la **Table 3**.

Anticorps primaire (catalogue #)	Espèce hôte	Dilution	Cible	Anticorps secondaire (1/1000) (catalogue #)
GFAP (DAKO/Agilent #Z0334)	Rabbit polyclonal	1/1000	Astrocytes matures	Donkey anti-rabbit 488 Alexa Fluor Invitrogen #A21206
Iba1 (Abcam #ab5076)	Goat polyclonal	1/500 (avec Tween-20)	Microglie	Donkey anti-goat 594 Alexa Fluor Molecular Probes #A-11058
CD31 / PECAM (DAKO #M082329-2)	Mouse monoclonal	1/250	Cellules endothéliales/vaisseaux	Donkey anti-mouse 594 Alexa Fluor Abcam #ab150108
NeuN (Abcam #ab177487)	Rabbit monoclonal	1/300	Neurones matures	Donkey anti-rabbit 594 Alexa Fluor Invitrogen #A21207
Béta 3 tubuline (Covance #PRB435P)	Rabbit polyclonal	1/5000	Neurones immatures	Donkey anti-rabbit 594 Alexa Fluor Invitrogen #A21207
Sox2 (Abcam #ab97959)	Rabbit polyclonal	1/500	Cellules souches neurales	Donkey anti-rabbit 488 Alexa Fluor Invitrogen #A21206
MAP2 (Sigma #M4403)	Mouse monoclonal	1/400	Neurones matures	Donkey anti-mouse 594 Alexa Fluor Abcam #ab150108
Synaptophysine (Proteintech #67864-1-Ig)	Mouse monoclonal	1/500	Vésicules synaptiques	Donkey anti-mouse 594 Alexa Fluor Abcam #ab150108

Table 3. Liste des anticorps primaires et secondaires utilisés dans cette étude. GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein ; Iba1 : Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein ; MAP2 : Microtubule Associated Protein 2 ; Sox2 : Sex determining region Y-box 2.

Protocole.

Différentes techniques d'immunofluorescences existent en pratique, mais c'est la réalisation de cette technique en « flottant » qui est choisi dans cette étude, du fait du choix de la méthode de coupe menant à l'obtention de coupes de cerveaux dites « flottantes », car non rattachées à des lames (comme c'est le cas lors de la coupe en blocs de paraffine). Cette technique consiste dans les grandes lignes à passer les coupes de puits en puits (à l'aide d'un pinceau fin) de manière à les immerger dans les différentes solutions nécessaires au marquage des molécules d'intérêt. Ce sont

donc les coupes qui sont déplacées, ce qui peut mener à la fragilisation de ces dernières, à la perte de tissu ou à des déchirures.

Chaque marquage est réalisé sur minimum deux coupes de cerveau pour chaque marmouset, sélectionnées la veille (une plutôt crâniale, l'autre plutôt caudale). Les coupes sélectionnées doivent se trouver dans la lésion et contenir du tissu en reconstruction, visible à la loupe binoculaire. Des photos de toutes les coupes sélectionnées sont réalisées à la loupe binoculaire avant marquage. Une coupe hors lésion est sélectionnée lors de chaque marquage, constituant un contrôle interne à la manipulation (même protocole mais sans anticorps primaire). L'hémisphère sain des coupes de cerveau sert de contrôle positif.

Les immunofluorescences se déroulent sur 2 jours consécutifs. Les étapes de rinçage/lavage et de perméabilisation/saturation sont réalisées dans des plaques de 12 puits (2 mL par puits), et les autres étapes, dans des plaques de 24 puits (500 µL par puits). Les différentes étapes sont réalisées à température ambiante (sauf précision contraire), et les plaques contenant les coupes sont placées sur agitateur pendant chaque bain.

Après sélection, les coupes stockées en solution de cryoprotection sont rincées dans minimum 3 bains de 10 minutes de solution tampon phosphate (Phosphate Buffer, PB) 0,1M (Sigma #P7994-1EA). Elles sont ensuite immergées dans du Blocking Buffer (BB) pendant 2h. Le BB est constitué de 0,1% de Triton X-100 (Sigma #T8787) ou Tween-20 (Sigma #P1379), de 4% de sérum d'âne ou « Donkey serum » (sérum devant appartenir à l'espèce dans laquelle l'anticorps secondaire a été fabriqué) et complété par du PBS 1X (Gibco #18912-014). Cette étape permet de perméabiliser les membranes cellulaires et de révéler les épitopes nucléaires (Triton X-100) ou cytoplasmiques (Tween-20). Elle permet également de saturer les sites de fixation non spécifiques. Le Triton X-100 a été utilisé pour la majorité des marquages, sauf celui d'Iba1, où il a été remplacé par du Tween-20, les épitopes d'Iba1 étant transmembranaires. La dernière étape du premier jour de manipulation est l'étape d'incubation dans l'anticorps primaire, dilué dans du BB (dilutions présentées dans la **Table 3**). Les coupes sont maintenues sous agitation la fin de journée, puis placées à 4°C sur la nuit, pour une durée totale d'incubation d'environ 18-20h.

Le jour suivant, 3 lavages successifs de 10 minutes chacun dans des bains de PB 0,1M sont réalisés. Les coupes sont ensuite incubées dans l'anticorps secondaire, dilué dans du BB à 1/1000, pendant 2h. Tous les anticorps secondaires sont couplés

à des fluorochromes sensibles à la lumière. A partir de cette étape, un maximum d'obscurité est donc nécessaire. Les plaques sont donc emballées dans du papier aluminium pour chaque bain. Par la suite, 3 lavages successifs de 10 minutes chacun dans des bains de PB 0,1M sont réalisés, puis les coupes sont plongées pendant 8 minutes dans des bains contenant le fluorochrome DAPI (4',6-diamidino-2-phénylindole) (Sigma #D9542) dilué à 1/4000 dans du PB 0,1M. Le DAPI est un colorant d'ADN fluorescent bleu, permettant ainsi le marquage des noyaux de tout type cellulaire. Enfin, 3 derniers lavages de 10 minutes chacun de PB 0,1M sont réalisés, toujours dans un maximum d'obscurité.

Pour terminer, les coupes sont montées sur lames Superfrost à l'aide d'un pinceau fin. Après séchage, du milieu de montage est délicatement versé sur les coupes (Mounting Fluo DAKO #S3023), puis une lamelle est déposée par-dessus. Les lames sont ensuite annotées et mises à sécher à température ambiante, à l'obscurité. Un à deux jours après, les lames sont nettoyées à l'éthanol 70% puis stockées à 4°C dans des boîtes opaques. Le protocole complet est également disponible en annexe (**Annexe 12**).

Immunofluorescence sur implants en PDMS.

Les analyses immunohistochimiques réalisées sur les implants retirés avant la coupe n'ont pas été effectuées dans le cadre de ma thèse mais bien avant et font partie de la thèse d'Alice LeFric, publiée en 2020. Elles ont eu pour but de chercher à mettre en évidence la présence de neurones matures (marqueur MAP2) et immatures (marqueur β 3tubuline), de cellules souches neurales (marqueurs Sox2 et Nestine), d'astrocytes matures (marqueurs GFAP et S100 β = protéine S100 de liaison du calcium intracytosolique) et de microglie (marqueur Iba1). Les résultats obtenus seront présentés brièvement dans la partie concernée, mais ne seront pas développés, ce travail ayant été réalisé dans une autre thèse.

I. Microscope

Les lames des différents marquages sont observées au microscope à fluorescence Nikon Eclipse Ti2 series. L'hémisphère sain est d'abord observé en guise de contrôle positif, puis les bords ainsi que le centre de la lésion sont minutieusement observés à différents grossissements successifs (x5, x10 et x20). Des images sont ensuite capturées au niveau des zones d'intérêt principalement au grossissement x20, notamment pour les quantifications. Ces images sont ensuite travaillées sur les

logiciels ImarisViewer et Fiji ImageJ, de manière à réduire le bruit de fond et à faire ressortir les zones d'intérêt marquées.

J. Analyses

1. Calcul du pourcentage de tissu en reconstruction

Les lames colorées au crésyl violet sont scannées avec un scanner de lame Panoramic 250 (3D-HISTECH), de manière à obtenir des images agrandissables, modifiables et exploitables de très bonne qualité.

Les images sont par la suite observées et exploitées à l'aide du logiciel CaseViewer, qui permet de zoomer et d'annoter les images tout en gardant une très bonne qualité de visualisation. Les tailles des lésions ainsi que les typologies cellulaires sont directement visualisables et comparables entre les différentes coupes de cerveaux des marmousets de l'étude. Par ailleurs, le tissu en reconstruction est visualisable de par sa localisation (bord de lésion ou intérieur), sa structure (plutôt fine) et sa coloration (plutôt foncée).

Pour chaque coupe, le tissu en reconstruction est délimité et une fonction de CaseViewer permet de calculer l'aire du territoire sélectionné. Pour calculer le pourcentage de tissu en reconstruction (TR) pour chaque marmouset, les aires de TR de chaque coupe de cerveau sélectionnée de ce marmouset sont sommées, puis divisées par le nombre total de coupes, de manière à obtenir une moyenne d'aire de TR, donnée en μm^2 puis convertie en mm^2 (en multipliant par 10^{-6}). L'épaisseur coronale (en mm) comprenant du tissu en reconstruction chez ce marmouset est ensuite calculée en soustrayant la localisation de la première coupe par rapport au bregma à celle de la dernière coupe. Ensuite, le volume total des implants ($2 \times 4 \times 0,25 = 2 \text{ mm}^3$ par implant donc $2 \times 5 = 10 \text{ mm}^3$ pour les 5 implants par marmouset) est soustrait au volume lésionnel total pré-sacrifice (calculé sur les images IRM pré-sacrifices comme indiqué dans le paragraphe correspondant) pour obtenir le volume total lésionnel tissulaire réel (mm^3). Enfin, le pourcentage de tissu en reconstruction pour chaque marmouset normalisé sur la taille de la lésion est obtenu avec la formule suivante :

$$\text{TR (\%)} = \frac{\text{Moyenne aire TR (mm}^2\text{)} \times \text{épaisseur coronale (mm)}}{\text{Volume total lésionnel tissulaire réel (mm}^3\text{)}} \times 100$$

Il faut tout de même préciser que la normalisation par le volume lésionnel calculé sur l'IRM anatomique et non pas sur les images histologiques entraîne une sous-estimation du pourcentage de tissu en reconstruction. En effet, la perfusion des cerveaux au PFA ainsi que les analyses histologiques engendrent un rétrécissement des coupes histologiques des cerveaux.

2. Quantifications

Principe global.

Dans le cadre de ma thèse, des analyses quantitatives sont réalisées sur les marquages des coupes de cerveaux des marmousets des deux groupes. Ces quantifications sont réalisées par type cellulaire sur deux zones d'intérêt : le tissu péri-lésionnel et le tissu en reconstruction. Des quantifications de surface (GFAP, Iba1, PECAM, β 3tubuline), des quantifications de noyaux (NeuN et Sox2) ainsi que le calcul de l'épaisseur gliale sont effectués pour chaque marmouset.

Pour cela, 3 images par zone d'intérêt sont sélectionnées parmi celles prises au microscope à fluorescence au grossissement x20 (6 images par marmouset par marquage). Sur le logiciel Fiji ImageJ, les images sont traitées une à une (soustraction des superpositions dans les différents canaux, regroupement de la profondeur des champs, retrait du bruit de fond), puis la zone cible est délimitée manuellement sur chaque image par formation d'une aire fermée à l'aide d'un outil du logiciel. Les éléments hors de cette aire sont retirés, et la quantification de surface ou de noyaux peut alors être effectuée uniquement sur la zone sélectionnée.

Quantification de surface.

Pour la quantification de surface, une fois la zone à quantifier sélectionnée sur une image, l'aire totale de la zone ainsi délimitée est calculée par le logiciel (μm^2), ainsi que l'aire présentant un marquage positif (μm^2), après ajustement manuel d'un seuil de sélection. La surface du marquage sur l'image traitée correspond ainsi à l'aire du marquage sélectionné divisée par l'aire totale de la zone d'intérêt sélectionnée (tissu péri-lésionnel ou tissu en reconstruction). Pour chaque zone d'intérêt et pour chaque marmouset, ce processus est répété sur 3 images différentes, et la moyenne de ces 3 valeurs de surface obtenues est calculée, donnant ainsi la surface moyenne du marquage dans le tissu en reconstruction ou dans le tissu péri-lésionnel, en pourcentage.

Quantification de noyaux.

Pour la quantification de noyaux, utilisée sur les marquages nucléaires, le principe est presque identique à celui des calculs de surface. Une fois la zone à quantifier sélectionnée sur une image, le nombre total de noyaux (marqués au DAPI) présents dans cette aire est calculé par le logiciel. Ce dernier calcule également le nombre de noyaux positifs au marquage à quantifier, après ajustement manuel d'un seuil de sélection. Ceci permet d'obtenir ensuite par division le pourcentage de noyaux positifs au marquage à quantifier dans la zone d'intérêt sélectionnée (tissu péri-lésionnel ou tissu en reconstruction). Pour chaque zone d'intérêt et pour chaque marmouset, ce processus est répété sur 3 images différentes, et la moyenne de ces 3 valeurs obtenues est ensuite calculée, donnant ainsi le pourcentage moyen du marquage dans le tissu en reconstruction ou dans le tissu péri-lésionnel du marmouset en question.

Calcul de l'épaisseur gliale.

Pour le calcul de l'épaisseur gliale autour de la lésion pour chaque marmouset, le processus est légèrement différent. 3 images par marmouset sont sélectionnées parmi celles prises au microscope à fluorescence au grossissement x20. Ensuite, à l'aide du logiciel Fiji ImageJ et d'une macro (codée par Alice LeFric pendant sa thèse, publiée en 2020), les calculs d'épaisseur gliale se font automatiquement sur les images sélectionnées, après ajustement manuel d'un seuil de sélection. La moyenne des 3 valeurs ainsi obtenues par marmouset est alors calculée, permettant ainsi d'obtenir l'épaisseur moyenne de la cicatrice gliale pour chaque marmouset (μm).

3. Analyses statistiques

Le logiciel GraphPad Prism 9.41 est utilisé pour l'ensemble des analyses statistiques et pour la confection des graphiques. Pour chaque ensemble de données, des tests analytiques de normalité sont effectués (test de Kolmogorov-Smirnov, test de Shapiro-Wilk, test d'Anderson-Darling, test d'Agostino & Pearson) ainsi que des tests graphiques (QQ plot). Or, dans cette étude, la distribution normale des données n'est pas validée, notamment du fait des effectifs réduits ($n=2$ ou 3 par sous-groupe de données). Ainsi, l'ensemble des tests statistiques réalisés par la suite sont des tests non paramétriques. En effet, pour comparer la composition de chaque zone d'intérêt pour les marmousets des différents sous-groupes (implants court ou long terme et lésés court ou long terme), des modèles mixtes sont utilisés (ANOVA modèle mixte),

et le test de Tukey est utilisé pour les comparaisons multiples. Par ailleurs, un test t non apparié est utilisé pour la comparaison du pourcentage de tissu en reconstruction sur effectif plus large. Les données sont présentées avec la médiane et l'écart interquartile (ou l'étendue ici). Enfin, pour la caractérisation globale de la composition des tissus en reconstruction et péri-lésionnel de chaque sous-groupe ou de chaque marmouset implanté, les tables « Parts of whole » sont utilisées sur le même logiciel.

III. Résultats

A. Résultats antérieurs à la thèse

Comme énoncé dans le paragraphe d'introduction de la partie II, les thèses précédemment réalisées de Boris Demain et Alice LeFric sur le projet ont permis d'analyser l'aspect comportemental et fonctionnel de l'étude.

Il a été conclu que l'implantation seule des biomatériaux en PDMS n'avait pas d'effet significatif sur la récupération motrice, positif ou négatif (les courbes de comportement sont disponibles en **Annexe 2**). Il a également été montré que cette implantation n'entraînait aucun effet délétère sur la taille de la lésion et l'intégrité tissulaire (vérifiée par les images IRM). En effet, la taille de la lésion et sa cinétique de diminution restaient similaires entre les marmousets implantés et ceux uniquement lésés (les courbes des volumes lésionnels sont disponibles en **Annexe 3**). L'implantation de biomatériaux n'a en outre causé aucun œdème ou blessure secondaire significatifs.

De plus, aucune aggravation de l'inflammation n'a été objectivée dans le tissu péri-lésionnel (analyse visuelle de la taille de la cicatrice gliale chez les marmousets des deux groupes avec le marqueur GFAP) ni dans les voies motrices descendantes. Une infiltration cellulaire a en effet été visualisée à la coloration de Nissl pour les deux groupes de marmousets, traçable le long de la substance blanche sous-corticale, de la capsule interne, du faisceau lenticulaire et du pédoncule cérébral. Cette infiltration était marquée par la présence de zones plus foncées sur les coupes histologiques, contenant des corps cellulaires marqués, à la place de zones normalement composées de fibres et donc non marquées et blanchâtres. Ces zones étaient donc le signe d'une perte axonale et d'envahissement par des cellules de type inflammatoire, confirmés par la réalisation de marquages Iba1 et GFAP positifs à ces niveaux par immunofluorescence. Une atrophie hémisphérique, corticale, et du noyau caudé a

également été visualisée sur les coupes histologiques pour les deux groupes. Il a donc été conclu que l'implantation seule des biomatériaux ne permettait pas la prévention de lésions secondaires de la matière blanche, consécutives à la lésion ischémique induite par l'injection de malonate.

Des analyses d'immunofluorescence ont également été réalisées dans les thèses précédentes (Sox2, Nestine, β 3tubuline), de manière à étudier l'effet de l'implantation des biomatériaux seuls sur la neurogenèse. Or, les anticorps utilisés à ce moment-là anti-Nestine et anti- β 3tubuline ont été suspectés être non spécifiques, et les résultats obtenus pour le marquage de Sox2 ne semblaient pas cohérents. Rien n'a donc pu véritablement être conclu sur ces précédentes analyses immunohistochimiques.

Enfin, des analyses d'immunofluorescence ont été réalisées sur les implants retirés avant la coupe. Elles ont révélé la présence de cellules hôtes sur les biomatériaux. Une des premières hypothèses a été celle de la conséquence de méninges refermant le site lésionnel, pouvant potentiellement aller coloniser les implants. Aux analyses immunohistochimiques, un faible nombre de cellules positives au marquage β 3tubuline (marqueur des neurones immatures) a été retrouvé sur les implants en PDMS, ainsi que des astrocytes matures positifs au marquage S100 β (**Annexes 13 et 14**). Néanmoins, les résultats pour les marquages MAP2 (neurones matures) et Iba1 (microglie) ainsi que pour les marquages Nestine et DCX (cellules souches neurales) étaient négatifs.

La quantité limitée d'implants restants a rendu impossible la réalisation de nouvelles analyses d'immunofluorescence sur les biomatériaux. Les analyses réalisées pendant ma thèse ont donc pu être effectuées uniquement sur les coupes de cerveaux des marmousets de l'étude.

B. Colorations histologiques

1. Coloration de Nissl et pourcentage de tissu en reconstruction

L'analyse purement descriptive des coupes après coloration de Nissl ayant déjà été réalisée dans les thèses de Boris Demain (2015) et de Carole Davoust (2017) et les résultats obtenus ayant été présentés succinctement dans le paragraphe précédent, il s'agira ici de décrire les résultats de la comparaison des pourcentages de tissus en reconstruction entre les marmousets implants et les marmousets lésés.

La **Figure 21** présente une coupe de cerveau colorée au crésyl violet pour un marmouset de chaque sous-groupe, ainsi que l'image IRM correspondante (illustrative). On peut voir des formes et des tailles de lésion plutôt variées. Sur la coupe de crésyl violet de TooSpeed (**F**), marmouset implanté sacrifié à long terme, une infiltration cellulaire plus marquée était visualisable. Cette coloration violette plus intense, signe d'une infiltration cellulaire très marquée, était visible au bord de la lésion, au niveau du corps calleux et même autour du ventricule latéral ipsi-lésionnel. Cette observation nous a conduit à la réalisation d'autres colorations pour TooSpeed et 12F2, qui présentait un aspect similaire à la coloration de Nissl. Le marmouset 12F2 montrait également une coloration orangée en amas en fond de lame, d'aspect similaire à une croûte de sang. L'hypothèse avancée alors était celle du développement d'un processus infectieux local chez ces deux marmousets.

Cette **Figure 21** nous montre également que les marmousets des 4 sous-groupes présentaient un tissu fin en bord de lésion, organisé en filaments et peu coloré, compatible avec du tissu en reconstruction (marqué avec les têtes de flèches rouges sur les coupes). La présence de ce tissu au sein de la lésion peut être retrouvée sur les images IRM illustratives (**A-D**). En effet, la visualisation d'un cœur de lésion plein (couleur grisâtre en T2 et noir en T1) suggérait un comblement de cette lésion par du matériel, plutôt tissulaire (grisâtre) à tendance liquidienne par moment (blanc plus prononcé, similaire au contenu des ventricules cérébraux). Un suivi longitudinal des analyses IRM réalisées sur un marmouset implants, TooSpeed, est disponible en annexe (**Annexe 15**) pour illustrer ce comblement permanent de la lésion de manière plus linéaire.

Cette **Figure 21** comprend aussi un tableau présentant les volumes lésionnels pré-sacrifices ainsi que les résultats des pourcentages de tissu en reconstruction calculés pour chaque marmouset de l'étude. De plus, un graphique met en évidence la répartition entre les groupes et présente les résultats de l'analyse statistique représentés sous forme de médianes et d'espaces interquartiles (étendues ici) pour chaque sous-groupe.

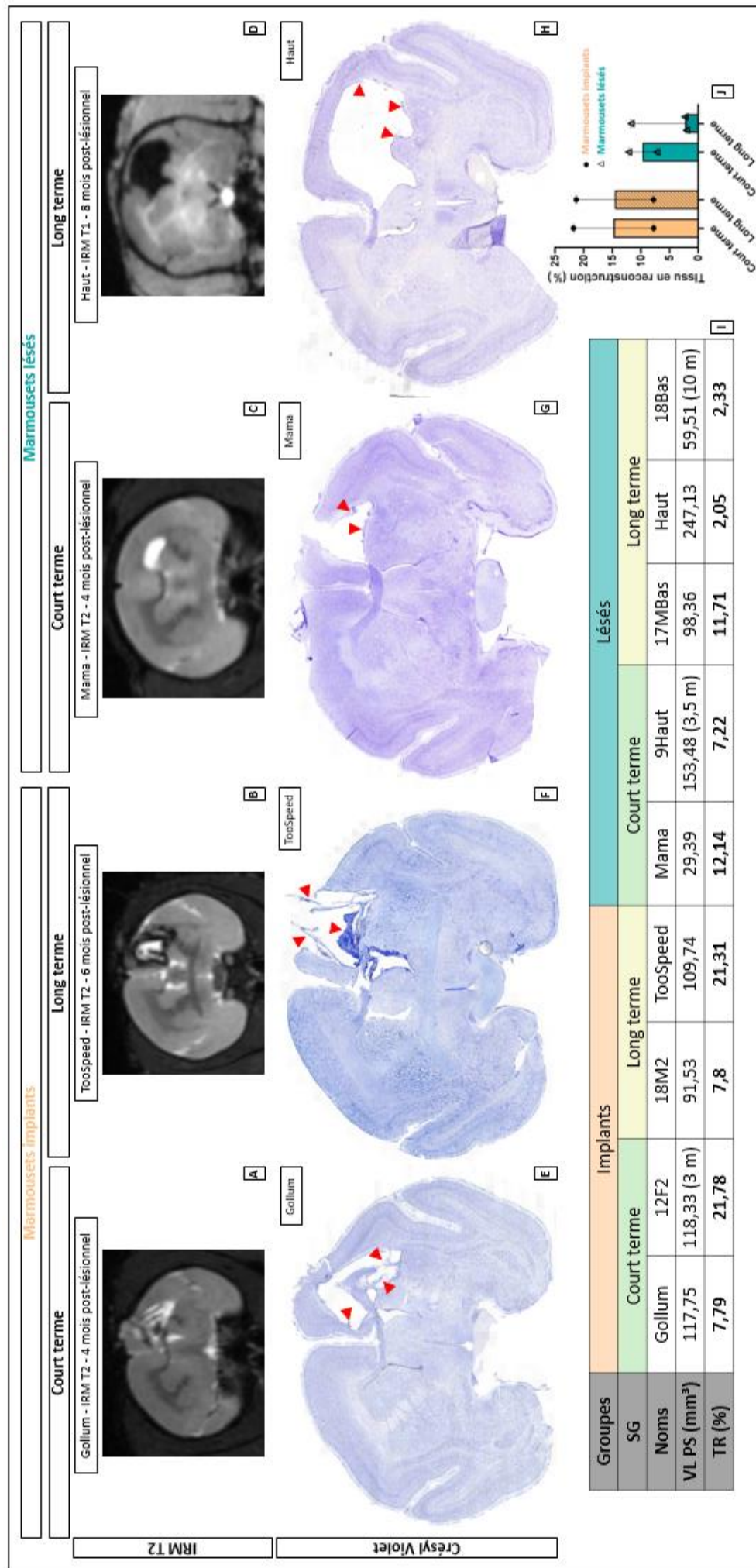


Figure 21. Figure présentant les différentes tailles et formes de lésions ainsi que la répartition et le pourcentage de tissu en reconstruction chez les marmousets des différents groupes. Ces derniers comportent les marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) et à long terme (*Implants long terme*), ainsi que les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (*Lésés court terme*) et à long terme (*Lésés long terme*) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Images d'IRM T2 acquises sur un aimant Bruker 3T et une antenne solénoïde avant sacrifice chez les marmousets des 4 groupes illustrant la forme et la taille de la lésion, ainsi que l'intérieur de cette dernière et la localisation des implants pour les marmousets du groupe « implants » (**A-C**).

Pour le marmouset **D**, image d'IRM T1 acquise sur un aimant Philips 3T et une antenne poignet homme. Coupes histologiques des cerveaux des marmousets des différents groupes, colorées au crésyl violet (**E-H**). Ces coupes et cette coloration permettent de bien mettre en évidence les différentes formes et tailles de lésion, ainsi que la présence, la quantité et la répartition du tissu en reconstruction au sein des lésions. Tableau présentant individuellement les tailles de lésion ainsi que le pourcentage de tissu en reconstruction pour chaque marmouset de chaque groupe (**I**). Graphique présentant la médiane du pourcentage de tissu en reconstruction chez les différents groupes de marmousets étudiés (**J**). Ce graphique montre la distribution des valeurs individuelles au sein de chaque groupe, ainsi que la médiane et l'étendue. Aucune différence statistique significative n'a été relevée entre les différents groupes (ANOVA modèle mixte). Groupe "Implants court terme": n = 2 ; groupe "Implants long terme": n = 2 ; groupe "Lésés court terme": n = 2 ; groupe "Lésés long terme": n = 3. SG : sous-groupe ; VL PS : volume lésionnel pré-sacrifice (volume d'implants retiré : 10 mm³) ; TR : tissu en reconstruction ; Têtes de flèches rouges : tissu fin en reconstruction.

Aucune différence statistique significative n'est ressortie de la comparaison du pourcentage de tissu en reconstruction chez les marmousets implants ou lésés ($p = 0.20$) et entre les sacrifices à court ou long terme ($p = 0.66$) sur les effectifs de cette étude. Pour les comparaisons multiples au test de Tukey, les « p-values » variaient de 0.54 à > 0.99 . Aucune différence statistique n'a donc été relevée entre les différents sous-groupes (p global d'interaction entre les facteurs = 0.69). Or, en regardant les valeurs individuelles ainsi que la répartition des médianes des différents sous-groupes sur le graphique (**I, J**), on pouvait voir que le pourcentage de tissu en reconstruction avait tendance à être plus élevé chez les marmousets implantés, avec deux marmousets à $> 20\%$, et deux proches de 8%, contrairement aux marmousets lésés où deux marmousets étaient autour de 2%, un vers 7% et les deux autres autour de 12%. Néanmoins, les effectifs réduits ainsi que la variété individuelle dans chaque sous-groupe tendaient à homogénéiser les résultats et n'ont donc pas permis dans un premier temps l'obtention d'un résultat significativement différent entre les différents sous-groupes, bien qu'une tendance positive ait été observée.

2. Pourcentage de tissu en reconstruction sur effectif augmenté

Pour vérifier cette tendance à l'augmentation du pourcentage de tissu en reconstruction et pour appréhender la réelle significativité des résultats, un test t non apparié a été réalisé avec un effectif plus conséquent de marmousets lésés. Ces marmousets lésés appartenaient également à l'équipe et avaient suivi le même protocole expérimental. Au total, le pourcentage de tissu en reconstruction a été comparé entre un nombre plus élevé de marmousets lésés ($n = 10$) et les marmousets implantés ($n = 4$). Cette comparaison a été effectuée à court terme ($n = 5$ lésés ; $n = 2$ implants) et à long terme ($n = 5$ lésés ; $n = 2$ implants). La **Figure 22** présente les résultats obtenus pour cette analyse.

Aucune différence significative n'a été relevée à court terme ($p = 0.1149$), cependant, une significativité a été observée entre les marmousets implants et lésés sur le long terme ($p = 0.026$). Le pourcentage de tissu en reconstruction était donc significativement plus important chez les marmousets implantés sur le long terme, ce qui confirmait la tendance observée précédemment sur les effectifs plus réduits de l'étude. Ainsi, au vu des résultats obtenus, l'implantation chronique de biomatériaux en PDMS permettrait effectivement de favoriser la formation de tissu en reconstruction et donc d'améliorer la reconstruction tissulaire post-lésionnelle chez les marmousets cérébrésés.

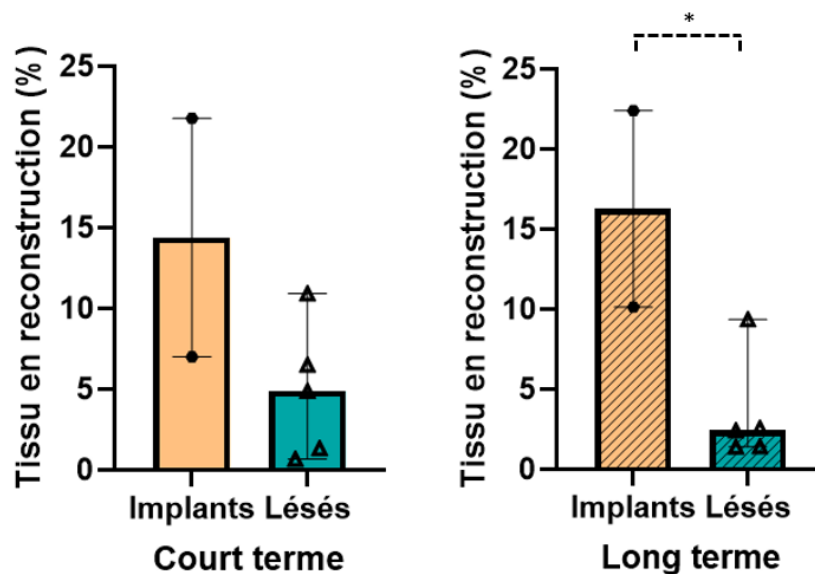


Figure 22. Graphiques présentant les résultats de la comparaison du pourcentage de tissu en reconstruction entre les marmousets implants et lésés sacrifiés à court et à long terme. Le graphique montre la distribution des valeurs individuelles au sein de chaque groupe, ainsi que la médiane et l'écart interquartile. Aucune différence significative n'a été relevée pour la comparaison sur le court terme ($p = 0.1149$), mais le pourcentage de tissu en reconstruction s'est avéré être significativement plus élevé chez les marmousets implants par rapport aux marmousets lésés à long terme ($p = 0.026$).
Groupes "Implants" : $n = 2$; groupes "Lésés" : $n = 5$.

3. Colorations H & E et de Gram

L'observation de zones plus foncées à la coloration de Nissl suggérant une infiltration tissulaire plus prononcée chez deux marmousets implantés (TooSpeed et 12F2) ont conduit à la réalisation de colorations H & E et de Gram sur deux coupes de leurs cerveaux pour chaque coloration, de manière à permettre une caractérisation plus précise de cette infiltration cellulaire. L'interprétation des résultats de ces colorations a été effectuée par l'équipe d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Pour le marmouset implanté sacrifié à long terme, TooSpeed, la coloration H & E a tout d'abord révélé la présence d'une dilatation importante du ventricule latéral ipsi-lésionnel (hémisphère lésé gauche), avec la présence de nombreux piquetés noirâtres en zone sous-ventriculaire, suggérant la présence d'une hémorragie dans cette zone. De plus, les résultats de cette coloration ont suggéré la présence d'un liquide purulent dans ce ventricule latéral ipsi-lésionnel, avec de nombreuses cellules en dégénérescence, de nombreux neutrophiles (cellules de taille diminuée avec une pigmentation nucléaire importante), quelques macrophages ainsi que la présence de bactéries et de signes de nécrose. L'épithélium péri-ventriculaire ipsi-latéral présentait quant à lui des cellules plus arrondies qu'en conditions physiologiques, ce qui suggérait une activation de cet épithélium avec libération probable de cytokines.

Aucune illustration n'est disponible concernant les observations réalisées pour cette coloration.

De plus, concernant la coloration de Gram effectuée sur le marmouset TooSpeed, la présence de bactéries Gram positives colorées en bleu/violet en forme de coques a été objectivée dans les cellules du liquide purulent présentes au centre du ventricule. Ces coques ont également été retrouvées en position intracytoplasmique dans la cavité lésionnelle, confirmant bien la présence d'une infection au sein de la cavité lésionnelle chez ce marmouset. Cette infection s'est probablement développée entre 3 et 6 mois post-lésionnel comme le suggéraient les images IRM présentées en annexe (**Annexe 15**). Elle semblait en effet chronique car les coques, présentes en quantité modérée, étaient disséminées. Aucune bactérie n'a été retrouvée en position extracellulaire, celles observées étaient toutes intracellulaires, phagocytées par des cellules inflammatoires (**Figure 23**). Tous ces éléments confirmaient bien la présence d'une infection au niveau de la cavité lésionnelle mais aussi au niveau du ventricule latéral ipsi-lésionnel. Cette infection semblait en revanche maîtrisée, avec des signes de chronicité.

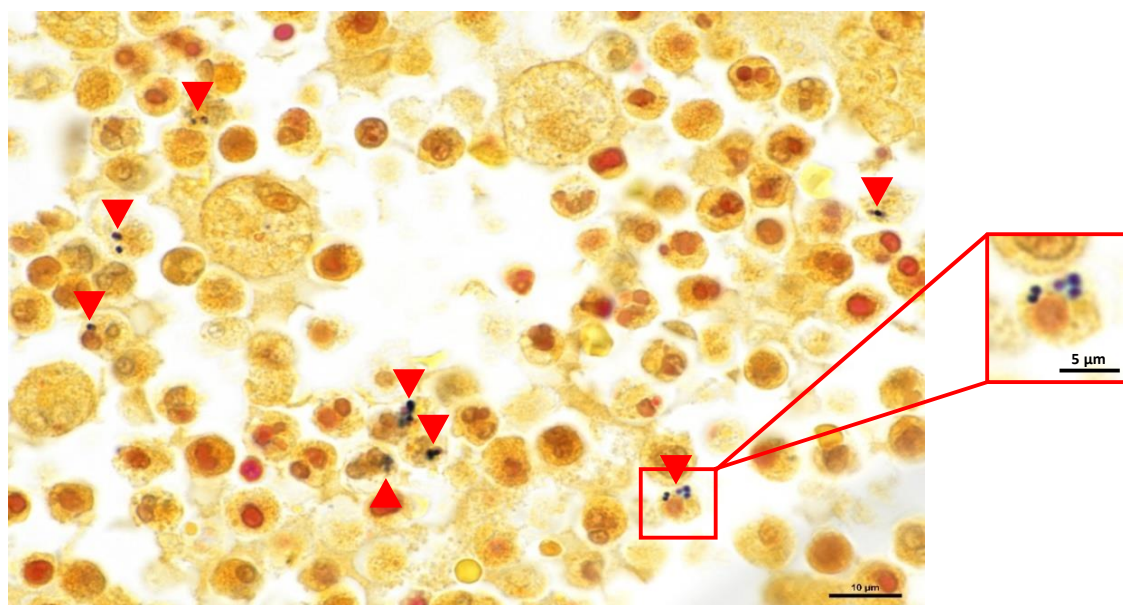


Figure 23. Illustration des résultats obtenus à la coloration de Gram du marmouset implants TooSpeed. Image illustrant l'observation de bactéries gram positives en forme de coques présentes en position intracellulaire (probablement phagocytées par des macrophages) dans la cavité lésionnelle du marmouset implants sacrifié à long terme TooSpeed. Les coques sont mises en évidence par des têtes de flèche rouge et sont présentes en quantité modérée. Un grossissement a été effectué sur une cellule macrophagique ayant phagocyté des coques. L'échelle de l'image principale est de 10 µm, l'échelle du grossissement est de 5 µm.

Concernant les colorations H & E et Gram du marmouset implanté 12F2, les résultats n'ont pas encore été communiqués par le laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse au moment de l'écriture de

cette thèse. Cependant, une analyse H & E préliminaire réalisée au laboratoire de l'équipe semblait montrer des similarités avec celle du marmouset TooSpeed, avec notamment la présence d'une coloration très sombre et piquetée en région péri-lésionnelle et sous-ventriculaire, ainsi que des morphologies de cellules compatibles avec un type inflammatoire en quantité importante. Ces résultats préliminaires de la coloration H & E ainsi que les résultats similaires des colorations de Nissl entre les deux marmousets nous ont conforté dans la suspicion d'une infection pour le marmouset 12F2. Cela devra néanmoins être explicité ultérieurement à la lumière des résultats communiqués par le laboratoire de l'ENVT.

C. Résultats individuels des quantifications

Les résultats des quantifications effectuées selon les modalités décrites dans le paragraphe correspondant de la partie « Matériels et méthodes » pour tous les marqueurs testés pour les 9 marmousets concernés de l'étude (18M1 exclu, pour les raisons énoncées précédemment) sont présentés dans les deux tableaux suivants. Ils présentent les résultats obtenus pour le tissu en reconstruction (**Table 4**) et pour le tissu péri-lésionnel (**Table 5**).

Ces résultats sont ceux qui ont permis de réaliser les analyses statistiques présentées dans l'ensemble des parties suivantes. Ils seront donc abordés au fur et à mesure.

	Groupes	Sous-groupes	Noms	GFAP (%)	Iba1 (%)	PECAM (%)	NeuN (%)	β3tub (%)	Sox2 (%)
Tissu en reconstruction	Implants	Court terme	Gollum	27,60	12,00	14,41	0,34	33,62	32,92
			12F2	19,27	14,31	13,41	5,00	26,77	6,37
		Long terme	18M2	18,19	6,28	12,86	7,57	23,68	39,40
			TooSpeed	15,56	18,02	14,87	2,68	31,75	25,08
	Lésés	Court terme	Mama	23,17	10,60	18,80	0,20	26,75	31,39
			9Haut	21,96	18,56	20,74	0,48	24,16	30,49
		Long terme	17MBas	15,45	11,15	26,29	3,18	34,54	24,71
			Haut	14,44	18,11	22,11	0,55	34,00	37,90
			18Bas	13,54	16,35	15,05	2,37	30,85	37,83

Table 4. Tableau présentant les résultats individuels moyens de quantification obtenus pour chaque marmouset de chaque groupe pour chaque marquage d'immunofluorescence testé, dans le tissu en reconstruction. La quantification a été réalisée avec le logiciel ImageJ 1.54f. Chaque résultat présenté dans le tableau est une moyenne de 3 quantifications effectuées sur 3 champs de 2 ou 3 coupes différentes pour chaque marqueur et pour chaque marmouset. GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein ; Iba1 : Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein ; β3tub : β3-tubuline ; Sox2 : Sex determining region Y-box 2.

	Groupes	Sous-groupes	Noms	Ep. Gliale (μm)	GFAP (%)	Iba1 (%)	PECAM (%)	NeuN (%)	β3tub (%)	Sox2 (%)
Tissu péri-lésionnel	Implants	Court terme	Gollum	300,27	17,16	10,26	17,91	18,19	32,71	24,90
			12F2	267,69	17,50	3,28	6,79	22,50	30,62	34,28
		Long terme	18M2	304,42	18,68	1,54	14,37	18,13	24,66	22,67
			TooSpeed	187,68	15,55	9,06	12,36	9,90	24,88	5,51
	Lésés	Court terme	Mama	269,45	17,67	11,86	13,19	17,32	31,86	10,36
			9Haut	279,01	21,40	6,74	8,88	32,01	29,32	28,67
		Long terme	17MBas	213,51	18,23	6,17	13,10	45,58	25,52	19,54
			Haut	215,99	15,39	4,51	10,92	36,15	25,16	24,02
			18Bas	168,09	14,58	5,07	7,24	49,07	26,70	25,04

Table 5. Tableau présentant les résultats individuels moyens de quantification obtenus pour chaque marmouset de chaque groupe pour chaque marquage d'immunofluorescence testé, dans le tissu péri-lésionnel. La quantification a été réalisée avec le logiciel ImageJ 1.54f. Chaque résultat présenté dans le tableau est une moyenne de 3 quantifications effectuées sur 3 champs de 2 ou 3 coupes différentes pour chaque marqueur et pour chaque marmouset. Ep. Gliale : épaisseur de la cicatrice gliale ; GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein ; Iba1 : Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein ; β3tub : $\beta\text{3-tubuline}$; Sox2 : Sex determining region Y-box 2.

D. Immunofluorescence

1. Cellules souches neurales - Quantifications

En ce qui concerne l'étude des stades les plus précoces de la différenciation cellulaire, le pourcentage de cellules souches neurales a été quantifié dans le tissu en reconstruction ainsi que dans le tissu péri-lésionnel des marmousets implants et lésés. Ces cellules sont multipotentes et capables de s'auto-renouveler. Leur potentiel de différenciation est restreint aux types cellulaires neuraux (neurones, astrocytes, oligodendrocytes), ce qui en fait une population primaire intéressante à étudier pour appréhender le potentiel de différenciation et de renouvellement futur des zones d'intérêt.

Les résultats sont présentés sur la page suivante (**Figure 24**). Ils montrent que la densité de cellules souches neurales (marqueur Sox2) était identique entre les marmousets implantés et lésés, pour les deux zones d'intérêt. En effet, aucune différence significative n'a été relevée entre le pourcentage de cellules Sox2 positives à l'immunofluorescence dans le tissu péri-lésionnel chez les marmousets implants ou lésés ($p = 0.92$) ou sacrifiés à court terme ou à long terme ($p = 0.35$). Il n'y avait également pas d'interaction entre ces deux variables ($p = 0.17$). De plus, il n'y avait aucune différence significative entre le pourcentage de cellules Sox2 positives à l'immunofluorescence dans le tissu en reconstruction chez les marmousets implants ou lésés ($p = 0.43$) ou sacrifiés à court terme ou à long terme ($p = 0.34$). Il n'y avait également pas d'interaction entre ces deux variables ($p = 0.52$). L'impact des implants

sur les stades précoces de la neurogenèse et de la gliogenèse ne s'appréciait donc pas sur le plan de la densité de cellules souches. Cependant, si l'on prend en compte l'augmentation du pourcentage de tissu en reconstruction inhérent à la présence des implants, cela pourra se traduire en quantité par une augmentation de la population de cellules souches neurales.

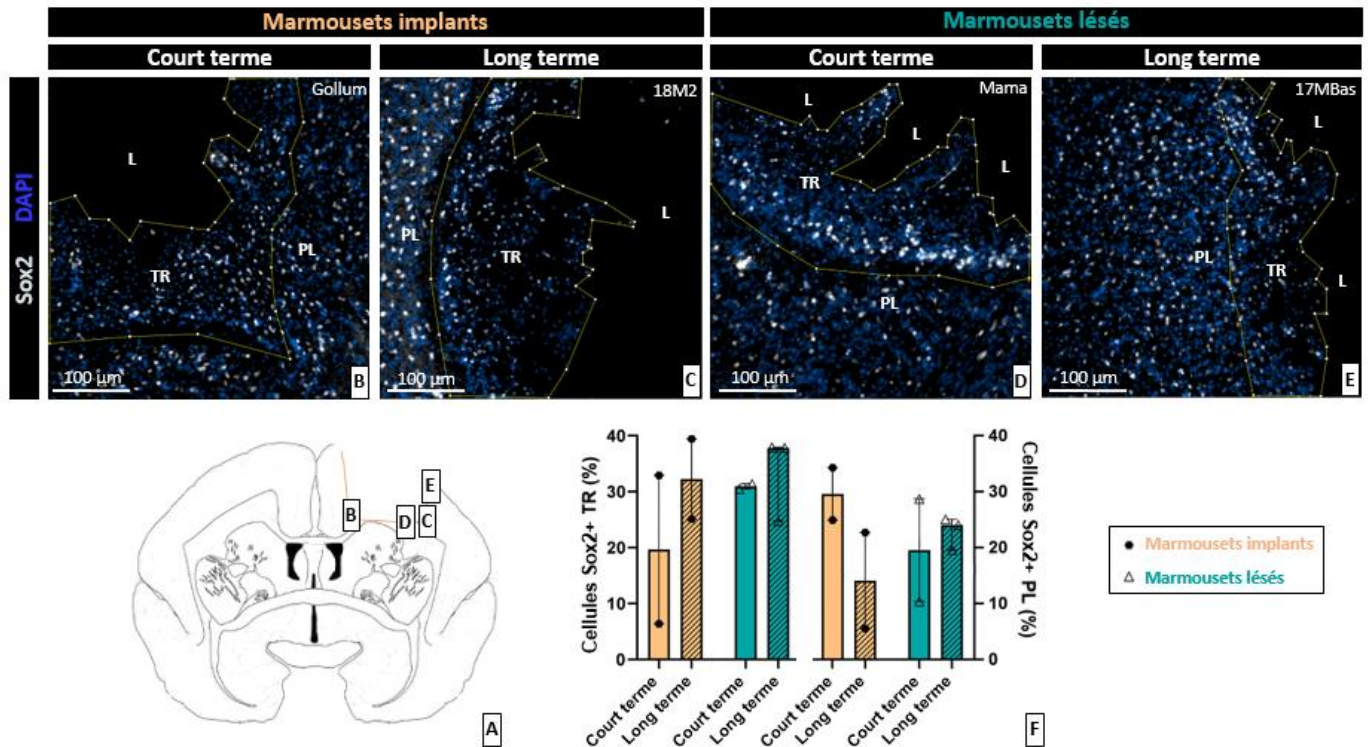


Figure 24. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : cellules souches neurales et stades précoces de la reconstruction tissulaire. Images illustratives de la densité médiane de cellules souches neurales avec le marquage Sox2 (marqueur nucléaire) (B-E) dans le tissu en reconstruction et l'espace péri-lésionnel des marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) et à long terme (*Implants long terme*), ainsi que chez les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (*Lésés court terme*) et à long terme (*Lésés long terme*) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Schéma de coupe histologique de marmouset permettant la localisation des illustrations dans la lésion (A). Graphique quantifiant le pourcentage médian de cellules souches neurales (marquage Sox2) chez les différents groupes de marmousets étudiés (F). Le graphique montre la distribution des valeurs individuelles au sein de chaque groupe, ainsi que la médiane et l'étendue. Aucune différence statistique significative n'a été relevée entre les différents groupes pour le marquage Sox2 (ANOVA modèle mixte). Groupe "Implants court terme" : n = 2 ; groupe "Implants long terme" : n = 2 ; groupe "Lésés court terme" : n = 2 ; groupe "Lésés long terme" : n = 3. Echelle des illustrations : 100 µm. DAPI : 4',6-diamidino-2-phénylindole (marqueur ADN – nucléaire) ; Sox2 : Sex determining region Y-box 2 ; L : lésion ; TR : tissu en reconstruction ; PL : péri-lésionnel. Légende des illustrations : pointillés jaunes délimitant la surface de tissu en reconstruction quantifié (B-E).

La densité de cellules souches neurales restait importante dans les deux groupes de marmousets, qu'ils soient sacrifiés tardivement ou précocement (médianes autour de 25% dans le tissu reconstruit et 20% dans le tissu péri-lésionnel). Cela suggérait un bon fonctionnement des processus de neurogenèse globale et un bon renouvellement des cellules neurales, dans les deux groupes, à court ou moyen terme. Le pourcentage de cellules souches disponibles pour une future différenciation en neurone potentiel (ou en astrocyte ou oligodendrocyte) représentait donc environ $\frac{1}{4}$

du tissu en reconstruction chez les différents groupes, ce qui constitue un élément important dans la reconstruction tissulaire future. Aussi, en considérant l'impact des implants sur le pourcentage de tissu en reconstruction, il est probable qu'ils n'aient pas eu d'impact direct sur les stades précoces de la reconstruction tissulaire mais qu'ils favorisent la survie de ces néo-cellules et qu'ils ne diminuent pas le potentiel de différenciation du tissu en reconstruction.

2. Neurogenèse – Quantifications et stades

En ce qui concerne l'étude de la neurogenèse chez les marmousets implants et lésés, 2 stades différents ont été comparés. Les résultats sont présentés sur la **Figure 25**.

Quelques différences ont été observées entre les groupes pour les deux stades de la neurogenèse quantifiés dans le tissu péri-lésionnel. Concernant d'abord la population de neurones immatures, une significativité du facteur temps a été relevée ($p = 0.0007$). En effet, le pourcentage de cellules positives au marquage β 3tbuline s'est avéré plus important pour les sacrifices à court terme qu'à long terme, autant chez les marmousets implants (p ajustée = 0.0073) que chez les marmousets lésés (p ajustée = 0.0228). Cela suggérerait que la neurogenèse péri-lésionnelle serait plus importante dans les stades post-lésionnels proches, et diminuerait avec le temps et à mesure que la chronicité s'installe. Les valeurs restant similaires à court et à long terme entre les marmousets implants et lésés, l'implantation n'a pas eu de répercussion sur ce processus de diminution de la neurogenèse avec le temps, en post-lésionnel. Concernant ensuite la population de neurones matures dans ce même tissu péri-lésionnel, une significativité du facteur implants/lésés a été relevée ($p = 0.0154$). En effet, la densité de cellules positives au marquage NeuN s'est avéré plus important chez les marmousets lésés que chez les marmousets implantés, uniquement à long terme (p ajustée = 0.02). Cela suggérerait donc que l'implantation entraînerait une diminution notable de la quantité de neurones matures présents dans le tissu péri-lésionnel, probablement par migration facilitée de ces cellules.

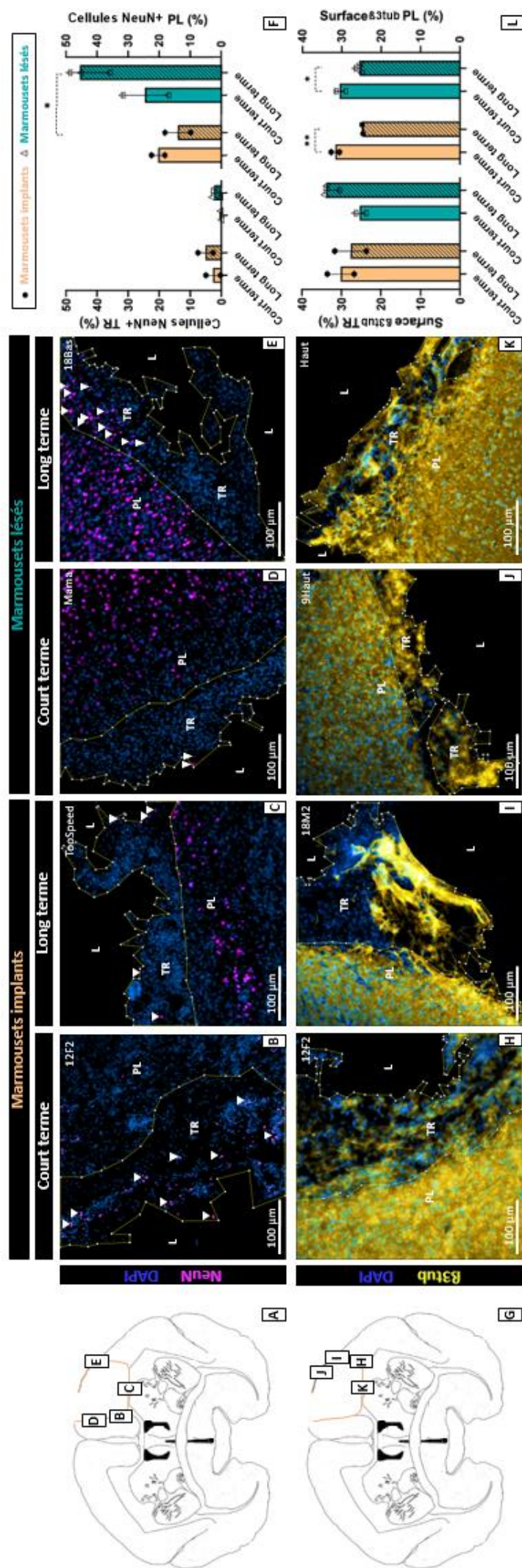


Figure 25. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : neurogène. Images illustratives de la densité médiane de neurones matures avec le marquage NeuN (marqueur majoritairement nucléaire) (B-E), ainsi que de la surface médiane de neurones immatures avec le marquage β 3-tubuline (marqueur cytoplasmique) (H-K) dans le tissu en reconstruction et l'espace péri-lésionnel des marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) et à long terme (*Implants long terme*), ainsi que chez les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (*Lésés court terme*) et à long terme (*Lésés long terme*) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Schémas de coupes histologiques de marmousets permettant la localisation des illustrations dans la lésion (A, G). Graphiques quantifiant respectivement la densité médiane de neurones matures (marquage NeuN) et la surface médiane de neurones immatures (marquage β 3tub) chez les différents groupes de marmousets étudiés (F, L). Les graphiques montrent la distribution des valeurs individuelles au sein de chaque groupe, ainsi que la médiane et l'étendue. En ce qui concerne le marquage NeuN, une significativité du facteur implants/lésés a été relevée (ANOVA modèle mixte) pour la quantification des neurones matures dans l'espace péri-lésionnel ($p = 0.0154$), en particulier entre les marmousets implantés ou lésés sacrifiés à long terme (p ajustée = 0.02). De plus, concernant le marquage β 3tubuline, une significativité du facteur temps a été relevée pour la quantification des neurones immatures dans l'espace péri-lésionnel ($p = 0.0007$), notamment entre les marmousets implantés sacrifiés à court ou à long terme (p ajustée = 0.0073) et entre les marmousets lésés sacrifiés à court ou à long terme (p ajustée = 0.0228). Groupe "Implants court terme" : $n = 2$; groupe "Implants long terme" : $n = 2$; groupe "Lésés court terme" : $n = 2$; groupe "Lésés long terme" : $n = 3$. Echelle des illustrations : 100 μ m. DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole (marqueur ADN – nucléaire) ; β 3tub : β 3-tubuline ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein ; TR : tissu en reconstruction ; PL : péri-lésionnel. Légende des illustrations : pointillés jaunes délimitant la surface de tissu en reconstruction quantifié (B-E, H-K) ; Têtes de flèches blanches pointant les cellules positives au marqueur d'intérêt (B-E).

En ce qui concerne le tissu en reconstruction, aucune différence n'a été observée concernant la densité de neurones immatures présents entre les marmousets implantés ou lésés ($p = 0.90$), sacrifiés à court ou long terme ($p = 0.34$), et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été identifiée ($p = 0.1$). Il en va de même pour le pourcentage de neurones matures présents (p facteur implants = 0.14 , p facteur temps = 0.24 , p interaction entre facteurs = 0.82). L'implantation n'aurait donc pas d'impact positif ou négatif sur les stades avancés de la neurogenèse dans ce néo-tissu. La chronicité n'aurait également pas entraîné de modifications majeures dans le tissu en reconstruction, selon les stades étudiés.

Globalement, les différences observées en matière de neurogenèse entre les marmousets implants ou lésés sacrifiés à court ou long terme se retrouvaient plutôt dans le tissu péri-lésionnel (non en contact direct avec les implants), et non dans le tissu en reconstruction. Ces différences concernaient plutôt les stades intermédiaires à tardifs de la neurogenèse, notamment sur le plan de la chronicité. De plus, les résultats les plus notables obtenus tendaient à montrer que la présence d'implants dans la cavité lésionnelle ne perturberait pas les processus de neurogenèse dans le tissu en reconstruction se formant autour de ces implants.

4. Neurogenèse – Descriptif et fonctionnalité neuronale

Un autre marqueur immunofluorescent, le marqueur MAP2, a été utilisé dans cette étude pour révéler la présence de neurones matures dans les deux zones d'intérêt des marmousets de l'étude. Ce marqueur a été utilisé en première intention uniquement chez les marmousets implantés pour réaliser une étude purement descriptive de la présence de neurones matures dans ce groupe, mais n'a pas été quantifié, le marqueur NeuN ayant donné de bons résultats quantifiables dans les deux groupes. Deux images obtenues chez les marmousets implantés pour le marqueur MAP2 (**B**, **C**) sont néanmoins présentées dans la **Figure 26**, sur lesquelles des neurones matures bien délimités et bien différenciés sont observables et mis en évidence (têtes de flèches blanches).

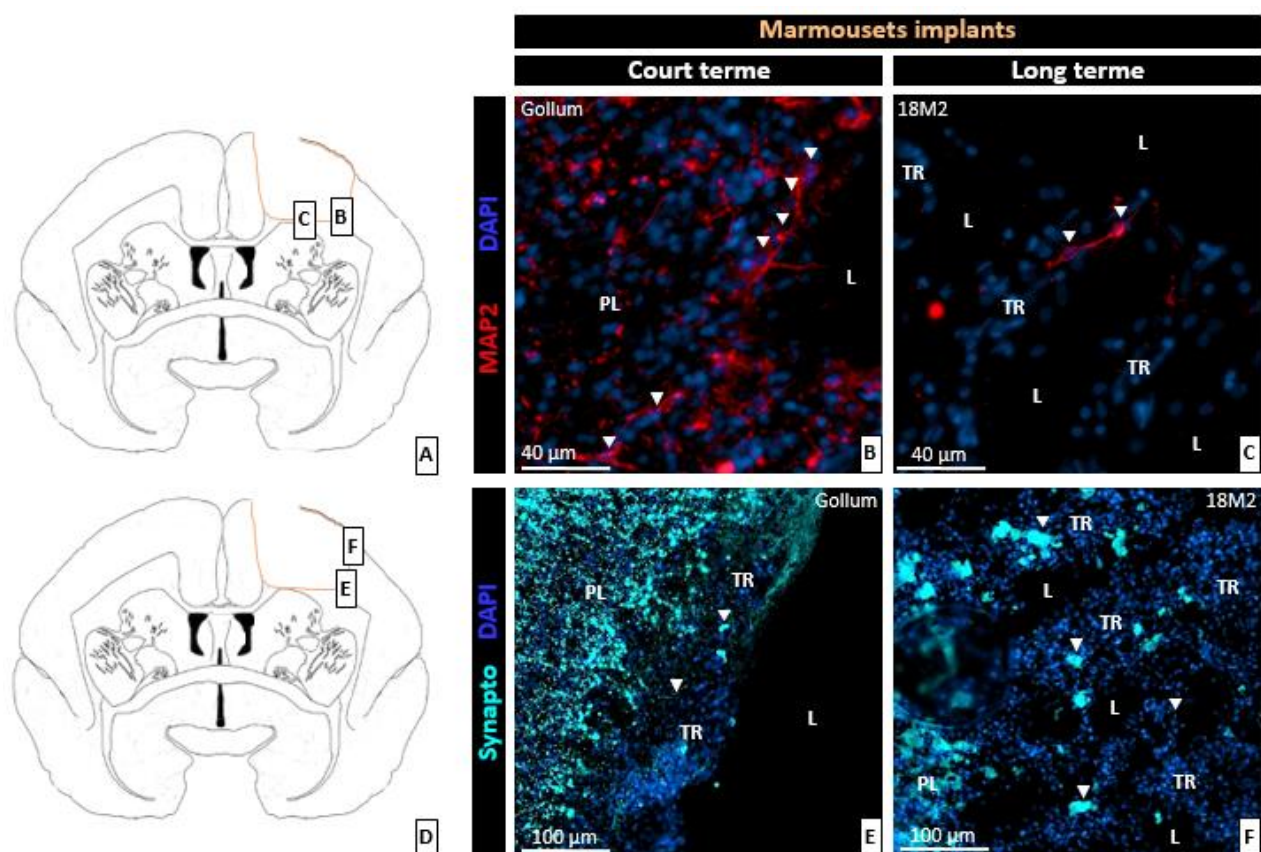


Figure 26. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : neurogenèse descriptive. Images illustratives de neurones matures avec le marquage MAP2 (marqueur cytoplasmique de l'arbre dendritique des neurones matures) (B-C) ainsi que des neurones fonctionnels avec le marquage Synapto (marqueur de la synaptophysine, protéine majeure des vésicules synaptiques) (E-F) dans le tissu en reconstruction et l'espace péri-lésionnel des marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) et à long terme (*Implants long terme*) après lésion cérébrale (sacrifices de 4,5 à 10 mois post-lésion). Schémas de coupes histologiques de marmousets permettant la localisation des illustrations dans la lésion (A, D). Groupe "Implants court terme" : n = 2 ; groupe "Implants long terme" : n = 2. Echelle des illustrations : 40 μm (B, C), 100 μm (E, F). DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole (marqueur ADN – nucléaire) ; MAP2 : Microtubule Associated Protein 2 ; Synapto : Synaptophysine ; L : lésion ; TR : tissu en reconstruction ; PL : péri-lésionnel. Têtes de flèches blanches pointant le marquage d'intérêt (B-C, E-F).

De plus, une fois la présence de neurones matures confirmée dans les deux zones d'intérêt, la question s'est posée de la fonctionnalité de ces neurones. Plusieurs recherches et manipulations ont donc été réalisées pour trouver un marqueur pouvant refléter cette fonctionnalité, et localisé presque uniquement dans les neurones. Après plusieurs essais, notre choix s'est porté sur la synaptophysine (ou protéine p38), une glycoprotéine membranaire intégrale de 38 kDa des vésicules présynaptiques de neurones, impliquée dans la régulation de l'endocytose de ces vésicules (Wiedenmann et al. 1986 ; Korematsu et al. 1993). La synaptophysine est présente dans les cellules neuroendocrines et dans les neurones qui participent à la transmission synaptique, autrement dit, dans les neurones matures bien différenciés et fonctionnels.

Plusieurs tests ont été réalisés pour trouver un anticorps efficace et spécifique chez le marmouset permettant de marquer cette synaptophysine (l'anticorps retenu est celui présenté dans la **Table 3** p.160), et donc de mettre en évidence la fonctionnalité neuronale. Cet anticorps n'a été utilisé que sur les coupes des marmousets implantés pour le moment, et n'a pas encore été quantifié. Deux images des résultats d'immunofluorescence obtenus sont présentées sur la **Figure 26 (E, F)**, de manière à illustrer ces résultats préliminaires. On voit bien sur ces images un signal fort (bleu clair), représenté par plusieurs points coalescents sous différents agencements (pointés par les têtes de flèches blanches), disséminés dans plusieurs zones des tissus d'intérêt. Cela tendrait à montrer la présence de plusieurs neurones présynaptiques fonctionnels, mais pourrait se vérifier par la réalisation d'un co-marquage MAP2/synaptophysine, pour étudier la superposition des signaux et observer les neurones matures dans leur globalité (pas uniquement leurs noyaux, comme ce serait le cas avec le marqueur NeuN).

5. Neurogenèse – Gyrus supracalleux

Au cours de l'observation microscopique des images du marquage NeuN (marqueur nucléaire des neurones matures), la présence d'une structure péri-lésionnelle particulière représentée par un alignement de neurones matures a été observée sur toutes les coupes des marmousets de l'étude, aussi bien implantés que non implantés, sacrifiés à court comme à long terme. Il s'agit d'une structure anatomique constitutive appelée « Gyrus supracalleux » ou « *Indusium Griseum* ». Cette structure est représentée sur les images de la **Figure 27**, prises au microscope à fluorescence. Nous avons étudié spécifiquement cette zone afin de s'assurer qu'elle se situait bien dans le tissu péri-lésionnel et non dans le tissu en reconstruction et ne créait donc pas de biais dans l'étude de la reconstruction. En effet, sa localisation étant très proche de la lésion et de la zone sous-ventriculaire, la distinction a demandé une étude approfondie.

Le gyrus supracalleux ou « *Indusium Griseum* » est un fin alignement neuronal localisé dorsalement au corps calleux et constitué de 2 couches de matière grise (Lorenzi et al. 2022 ; Di Ieva et al. 2015). Il s'étend rostralement vers la portion ventrale du genou du corps calleux et dorsalement jusqu'au *taenia tecta*. La large extension antéro-postérieure de cette étroite structure implique une certaine proximité avec différentes aires cérébrales (Sanders et al. 2021).

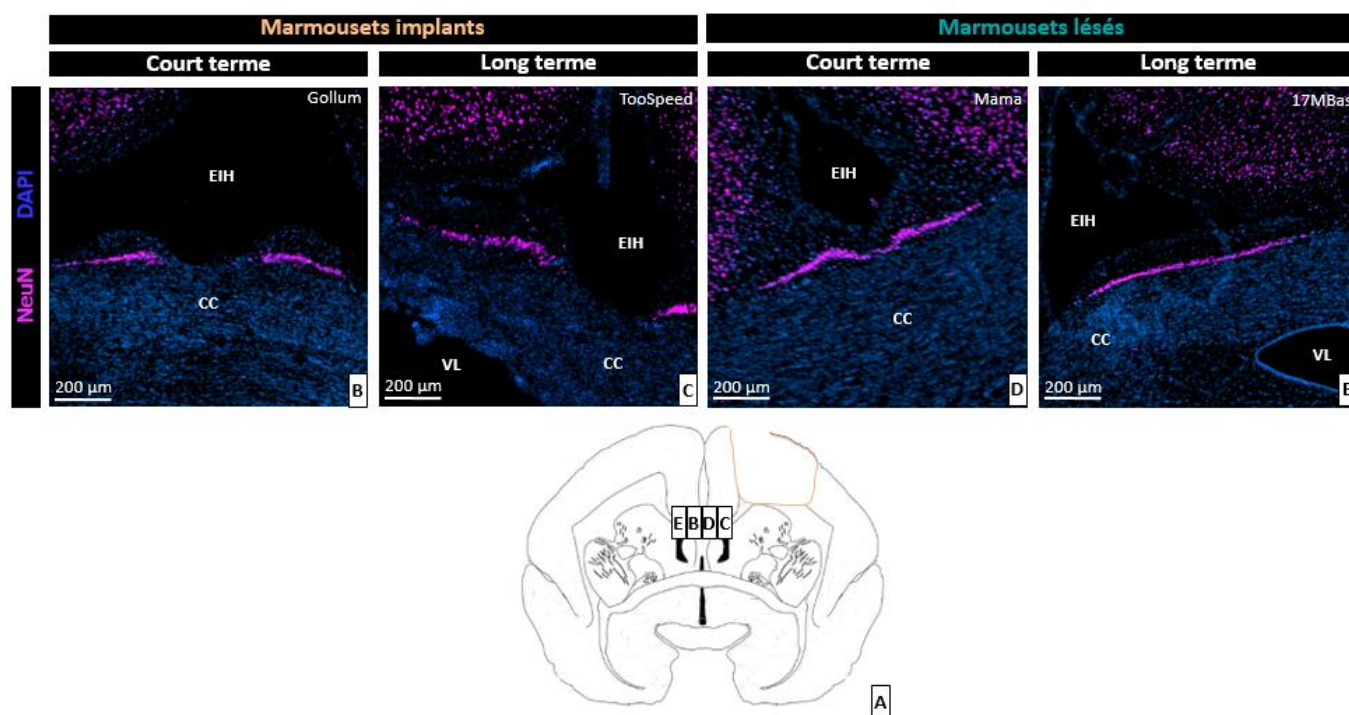


Figure 27. Histologie de coupes de cerveaux et illustration par immunofluorescence de la présence du gyrus supracalleux péri-lésionnel. Images illustratives de travées de neurones matures retrouvées dans le gyrus supracalleux chez les marmousets de l'étude au niveau de l'espace inter-hémisphères, disposées au-dessus du corps calleux (B-E). Le marquage immunofluorescent utilisé est le marquage NeuN (marqueur majoritairement nucléaire des neurones matures) sur des coupes de cerveau des marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) (B) et à long terme (*Implants long terme*) (C), ainsi que chez les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (*Lésés court terme*) (D) et à long terme (*Lésés long terme*) (E) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Schéma d'une coupe histologique de marmouset permettant la localisation des illustrations (A). Ce gyrus supracalleux avec alignement de NeuN est retrouvé à l'identique chez tous les marmousets de l'étude, sans exception. Groupe "Implants court terme" : n = 2 ; groupe "Implants long terme" : n = 2. Echelle des illustrations : 200 μm. DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole (marqueur ADN – nucléaire) ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein (marqueur neurones matures) ; EIH : Espace Inter-Hémisphères ; CC : Corps Calleux.

Le gyrus supracalleux est considéré comme étant un composant du système limbique (Di Ieva et al. 2015). Son développement embryonnaire ainsi que son développement post-natal ont fait l'objet de plusieurs études et sont relativement connus. Son rôle ainsi que ses fonctions précises dans l'activité cérébrale adulte restent quant à eux encore imprécis et font encore l'objet de plusieurs études. Néanmoins, certains articles soulignent son importance fonctionnelle majeure avec la présence de neurones à plusieurs récepteurs majeurs (acétylcholine, dopamine, noradrénaline, 5-hydroxytryptamine, GABA) l'innervant (Di Ieva et al. 2015 ; Lorenzi et al. 2022). Il semblerait même que ce gyrus supracalleux comprenne une quantité importante de neurones positifs à l'oxyde nitrique synthase (enzyme fabriquant du monoxyde d'azote présent dans la circulation sanguine), suggérant un rôle fonctionnel actif de ce gyrus dans la régulation neurovasculaire locale et au sein du corps calleux (Lorenzi et al. 2022). De nombreuses cellules gliales présentes dans son environnement direct participent également à cette régulation. Etant une structure

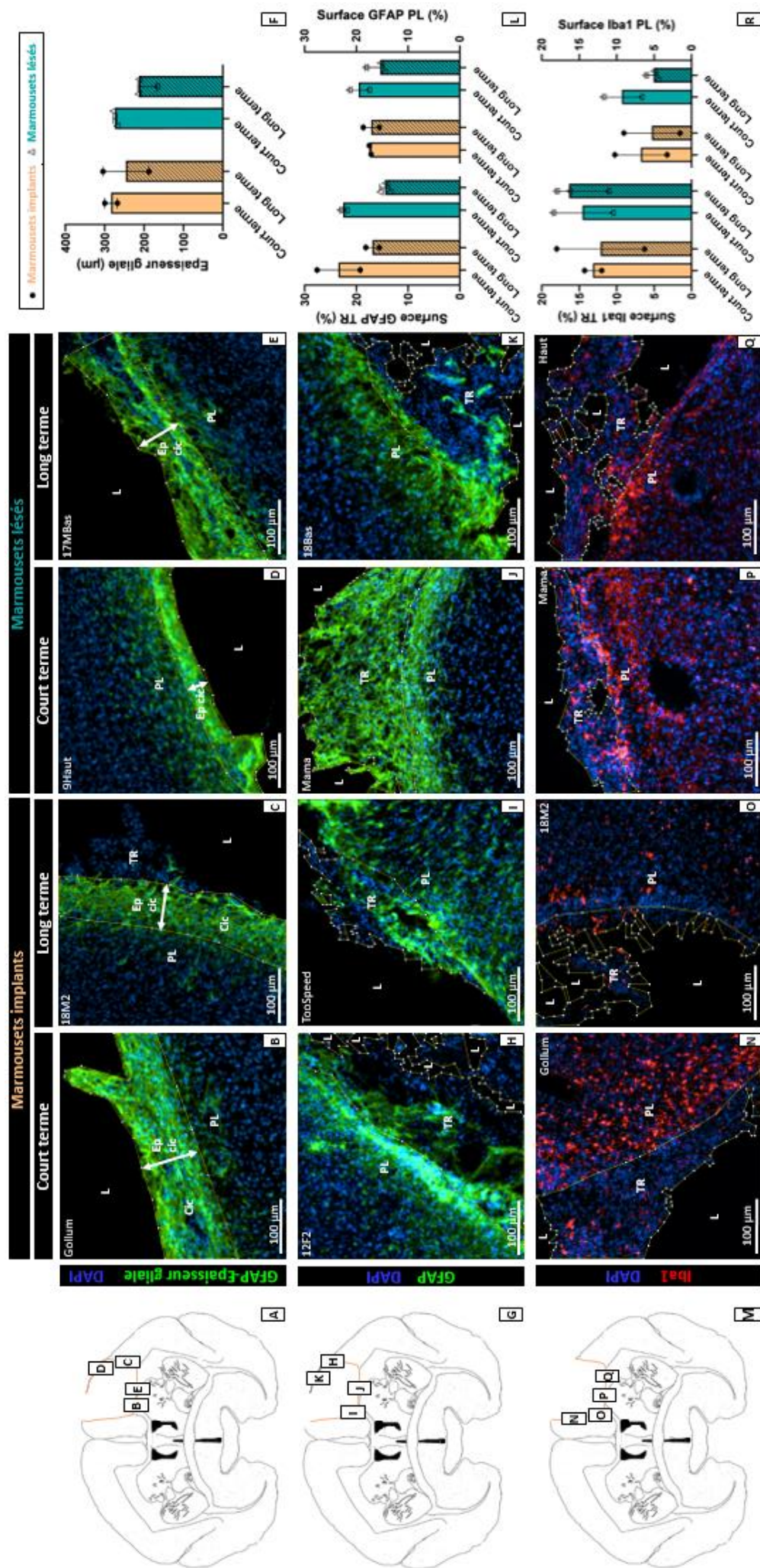
supposément impliquée dans les phénomènes vasculaires cérébraux, on aurait pu observer une quelconque modification localement sur les marmousets de cette étude, car le flux sanguin cérébral est très dépendant de l'activité des différentes aires cérébrales et la neurogenèse locale exacerbée en post-lésionnel ainsi que la lésion elle-même auraient pu avoir un impact indirect sur cette structure.

Néanmoins, les images présentées dans la **Figure 27** sont uniquement illustratives et aucune quantification ou analyse véritablement fonctionnelle n'ont été réalisées dans cette étude. De manière uniquement descriptive, les observations microscopiques ont révélé la présence de cette structure chez tous les marmousets de l'étude, visible par le marquage NeuN positif dorsalement au corps calleux illustrant bien cet alignement de neurones matures constitutifs du gyrus supracalleux, et aucune différence n'a pu visuellement être relevée entre les différents groupes. De plus, les marquages réalisés avec Iba1 et GFAP ont révélé la présence de cellules gliales à proximité et longeant cette structure, ce qui est compatible avec les données de la littérature. Ainsi, ce tissu présentait toutes les caractéristiques d'un tissu péri-lésionnel avec un niveau d'inflammation attendu.

6. Gliogenèse/Inflammation

En ce qui concerne l'étude des cellules gliales et en particulier de celles impliquées dans les processus d'inflammation, deux populations ont été quantifiées chez les marmousets de l'étude : celle des astrocytes matures (marquage GFAP) et celle de la microglie (marquage Iba1). L'épaisseur de la cicatrice gliale péri-lésionnelle a également été calculée et comparée entre les différents groupes. Les résultats sont présentés sur la **Figure 28**. Globalement, peu de différences significatives ont été constatées pour l'étude des populations inflammatoires ainsi que pour la largeur de l'épaisseur gliale dans les deux zones d'intérêt.

En effet, en ce qui concerne la densité de microglie présente, aucune différence significative n'a été observée dans le tissu en reconstruction entre les marmousets implantés ou lésés ($p = 0.54$), sacrifiés à court ou long terme ($p = 0.96$), et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été identifiée ($p = 0.82$). Il en va de même pour le tissu péri-lésionnel (p facteur implants = 0.64, p facteur temps = 0.32, p interaction entre facteurs = 0.63). Cela suggérerait donc que l'implantation n'aurait pas d'impact sur la gliogenèse locale, et n'entraînerait donc pas d'exacerbation de l'inflammation chez les marmousets.



Au microscope à fluorescence, il a été observé morphologiquement que la microglie visible aux abords lésionnels directs présentait plutôt un phénotype activé (ramifications courtes et centre cellulaire plus large). Il a également été observé que plus la microglie était éloignée du bord lésionnel, plus la proportion présentant un phénotype non activé (longues ramifications et centre cellulaire moins volumineux), augmentait. Cela était cohérent avec le rôle de ces cellules, notamment en ce qui a trait à la défense immunitaire, exacerbée en cas de lésion.

Concernant l'épaisseur gliale, aucune différence significative n'a été observée entre les marmousets implantés et lésés ($p = 0.37$), sacrifiés à court ou long terme ($p = 0.10$), et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été identifiée ($p = 0.54$). Ces résultats suggèreraient aussi que l'implantation de biomatériaux en PDMS n'engendrerait pas d'inflammation excessive autour de la lésion.

Concernant les résultats individuels de ces calculs d'épaisseur gliale, ils peuvent nous permettre de statuer sur l'effet ou non de l'injection de chondroïtinase ABC. En effet, comme énoncé pendant la présentation du protocole de l'étude, immédiatement après l'implantation des biomatériaux dans le site lésionnel, 10 μL de chondroïtinase ABC (ChABC) ont été administrés dans le tissu péri-lésionnel de 3 marmousets « implants » (12F2 (sacrifice à court terme), 18M2 (sacrifice à long terme) et 18M1). Au vu de la littérature, il était attendu de l'injection de ChABC qu'elle permette de réduire l'épaisseur gliale en dégradant les protéoglycanes de chondroïtine sulfate, et donc permette de rendre le site lésionnel plus perméable aux échanges entre les implants du site lésé et le tissu hôte, sain. 18M1 ayant été exclu de la suite du protocole, les effets de cette enzyme sur la cicatrice gliale peuvent être étudiés sur les 4 marmousets implants restant. Si on compare d'abord les deux marmousets implantés sacrifiés à court terme, les résultats individuels présentés dans la **Table 5** (p.174) étaient assez similaires, même si celui ayant reçu la ChABC avait une épaisseur gliale légèrement plus fine (12F2, épaisseur gliale = 267,69 μm) que celui n'ayant pas reçu l'enzyme (Gollum, épaisseur gliale = 300,27 μm). Néanmoins, pour les marmousets sacrifiés à long terme, l'épaisseur gliale de celui ayant reçu la ChABC (18M2, épaisseur gliale = 304,42 μm) était environ 1,6 fois plus importante que celui ne l'ayant pas reçu (TooSpeed, épaisseur gliale = 187,68 μm). De plus, les résultats obtenus sur l'effet de la ChABC étaient revenus non significatifs à l'analyse statistique ($p = 0.67$). Ainsi, l'injection de chondroïtinase ABC après implantation n'a pas permis d'obtenir la réduction attendue de l'épaisseur gliale dans cette étude, et les

épaisseurs gliales étaient globalement identiques entre tous les sous-groupes de marmousets. Cela suggère que ni l'implantation, ni l'injection de ChABC n'auraient eu un réel impact sur l'épaisseur gliale des marmousets de cette étude.

Enfin, pour la densité d'astrocytes matures présents, aucune différence significative n'a été observée dans le tissu péri-lésionnel entre les marmousets implantés et lésés ($p = 0,68$, $n = 9$), sacrifiés à court ou long terme ($p = 0,22$, $n = 9$), et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été identifiée ($p = 0,28$). L'implantation et la chronicité n'entraîneraient donc pas de modification de cette population cellulaire dans le tissu péri-lésionnel. Pour le tissu en reconstruction, aucune différence n'a été relevée entre les marmousets implantés ou lésés ($p = 0,44$), mais les résultats ont montré une significativité du facteur temps ($p = 0,01$). Celle-ci est visible sur le graphique correspondant de la **Figure 28** précédente (**L**), sur lequel on observe bien la tendance à la diminution de la densité de GFAP entre les sacrifices à court et à long terme chez les deux groupes de marmousets, dans le tissu en reconstruction. Néanmoins, au test post-hoc des comparaisons multiples de Tukey, cette significativité n'a pas été retrouvée (p allant de 0.06 à 0.99).

Dans cette étude, les résultats indiquaient donc que l'implantation n'engendrait pas d'inflammation locale excessive. Les biomatériaux semblaient donc plutôt bien tolérés. Concernant la chronicité, elle n'était pas associée à une diminution significative des processus d'inflammation locale liés à la microglie. Néanmoins, la réaction astrocytaire présente dans le tissu en reconstruction aurait tendance à diminuer avec le temps.

7. Angiogenèse

Enfin, l'angiogenèse a été étudiée dans les deux zones d'intérêt des marmousets de l'étude par la quantification du marquage PECAM, révélant les cellules endothéliales en structures tubulaires, et donc, les vaisseaux. Les résultats sont présentés sur la **Figure 29**.

Concernant la densité de vaisseaux présents, aucune différence significative n'a été relevée dans le tissu péri-lésionnel entre les marmousets implantés ou lésés ($p = 0,49$), sacrifiés à court ou long terme ($p = 0,95$), et aucune interaction entre ces deux facteurs n'a été identifiée ($p = 0,79$). L'implantation et la chronicité n'ont donc aucun impact direct sur l'angiogenèse dans le tissu péri-lésionnel.

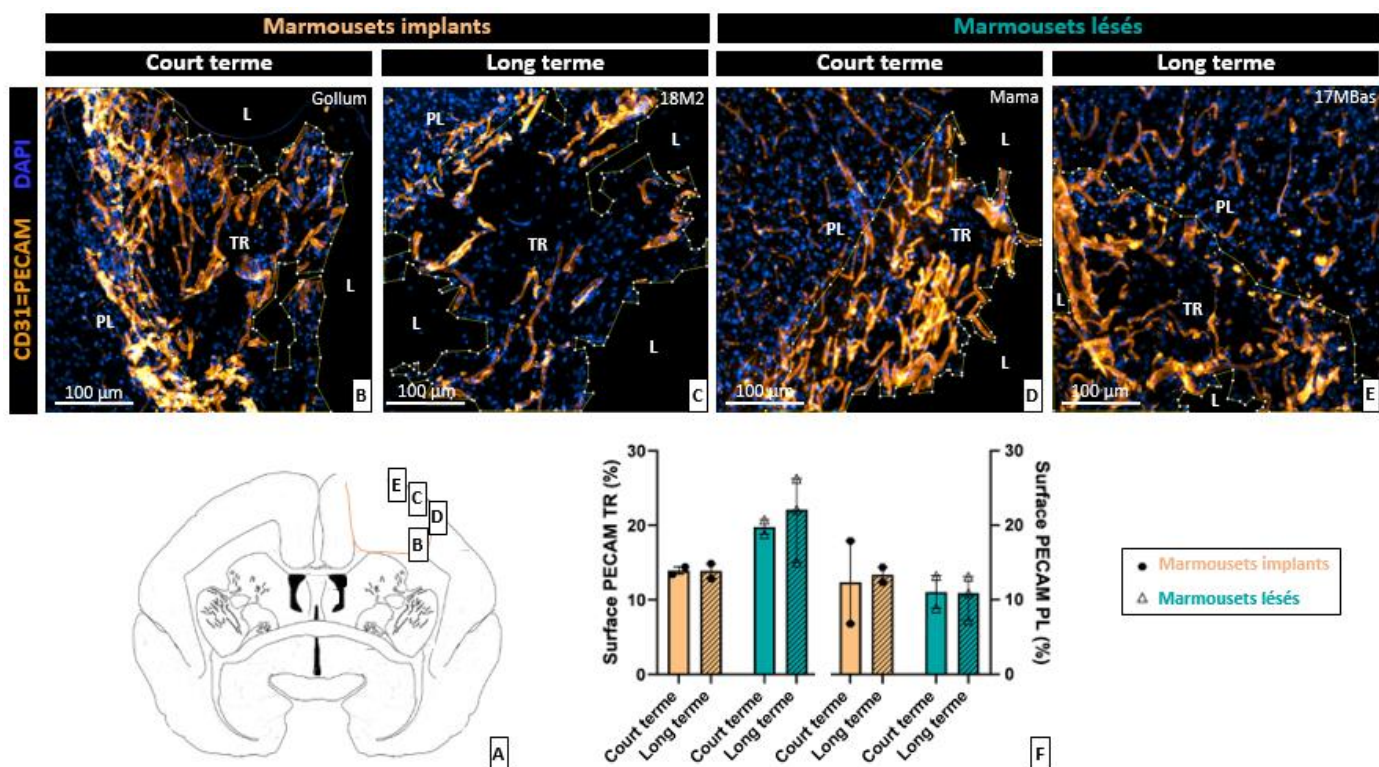


Figure 29. Histologie de coupes de cerveaux et caractérisation du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel par immunofluorescence : angiogenèse. Images illustratives de la surface médiane vasculaire avec le marquage CD31 (= PECAM) (marqueur protéique transmembranaire des cellules endothéliales) (B-E) dans le tissu en reconstruction et l'espace péri-lésionnel des marmousets implantés sacrifiés à court terme (*Implants court terme*) et à long terme (*Implants long terme*), ainsi que chez les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (*Lésés court terme*) et à long terme (*Lésés long terme*) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Schéma de coupe histologique de marmouset permettant la localisation des illustrations dans la lésion (A). Graphique quantifiant la surface vasculaire médiane chez les différents groupes de marmousets étudiés (F). Le graphique montre la distribution des valeurs individuelles au sein de chaque groupe, ainsi que la médiane et l'étendue. Aucune différence statistique significative n'a été relevée entre les différents groupes. On remarque néanmoins que les résultats obtenus pour la quantification dans le tissu en reconstruction tendent vers une significativité du facteur implants/lésés, difficile à interpréter avec ces effectifs. Cette tendance n'est pas retrouvée pour l'espace péri-lésionnel. Groupe "Implants court terme" : n = 2 ; groupe "Implants long terme" : n = 2 ; groupe "Lésés court terme" : n = 2 ; groupe "Lésés long terme" : n = 3. Echelle des illustrations : 100 µm. DAPI : 4',6-diamidino-2-phenylindole (marqueur ADN – nucléaire) ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule ; L : lésion ; TR : tissu en reconstruction ; PL : péri-lésionnel. Légende des illustrations : pointillés jaunes délimitant la surface de tissu en reconstruction quantifié (B-E).

Pour le tissu en reconstruction, aucune différence significative n'a été relevée entre les sacrifices à court ou long terme ($p = 0.80$), mais une significativité du facteur implants a été observée ($p = 0.047$). Celle-ci peut se visualiser sur le graphique de la **Figure 29 (F)**, sur lequel la médiane du pourcentage de vaisseaux dans le tissu en reconstruction paraît plus basse chez les marmousets implants (environ 15%) que chez les marmousets lésés (environ 20%). Néanmoins, au test des comparaisons multiples de Tukey, cette significativité n'a pas été retrouvée (p allant de 0.26 à >0.99). La significativité ne semblant pas vérifiée ici, cela nous mène à conclure que l'implantation ainsi que la chronicité n'ont pas affecté significativement le développement vasculaire au niveau du site lésionnel.

E. Caractérisation globale des zones d'intérêt

1. Caractérisation globale de l'ensemble des marmousets de l'étude

Les résultats individuels présentés précédemment (**Tables 4 et 5** p.173-174) ont également permis de réaliser des diagrammes présentant et comparant la proportion de chaque type cellulaire étudié dans les deux zones d'intérêt (tissu en reconstruction et tissu péri-lésionnel) des 4 sous-groupes de l'étude. Ces diagrammes sont présentés sur la figure **Figure 30**.

En ce qui concerne le tissu en reconstruction, les résultats des analyses statistiques réalisées ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les marmousets implants ou lésés sacrifiés à court ou long terme concernant le pourcentage moyen de chaque type cellulaire ($p > 0.99$). Il en va de même pour le tissu péri-lésionnel ($p > 0.99$). Ce manque de significativité statistique peut s'expliquer par les effectifs réduits composant chaque sous-groupe ($n = 2$ ou 3).

Néanmoins, en observant de plus près les différentes familles de cellules représentées (cellules souches neurales (Sox2), neurogenèse stricte (β 3tubuline, NeuN), gliogenèse/inflammation (Iba1, GFAP) et angiogenèse (PECAM)), quelques nuances ont pu être relevées. Concernant le tissu en reconstruction, les proportions présentaient quelques différences entre les différents groupes, même si les écarts restaient faibles. En effet, en regardant le type de cellules majoritaires, les marmousets sacrifiés à court terme, implantés ou non, semblaient avoir un tissu en reconstruction avec un pourcentage de cellules gliales légèrement supérieur aux autres populations cellulaires (35,52% chez le groupe implants et 32,69% chez le groupe lésés). Cela pourrait s'expliquer par la temporalité rapprochée avec la création de la lésion ainsi que l'implantation. Cependant, les valeurs chiffrées étant très proches entre les marmousets implants et lésés, l'implantation n'aurait pas exacerbé outre mesure l'inflammation. Quant aux marmousets sacrifiés à long terme, les marmousets implantés montraient une population majoritairement composée de cellules souches neurales dans le tissu en reconstruction (30,71%). Ce résultat illustre un bon potentiel de renouvellement et de différenciation, là où les marmousets lésés montraient plutôt une population neuronale majoritaire (29,43%). Or, les autres proportions restant très proches de celles présentées (28,02% de cellules souches neurales chez les marmousets lésés sacrifiés à long terme, 28,43% de population neuronale chez les marmousets implants sacrifiés à long terme), ces résultats ne sauraient être considérés comme significatifs.

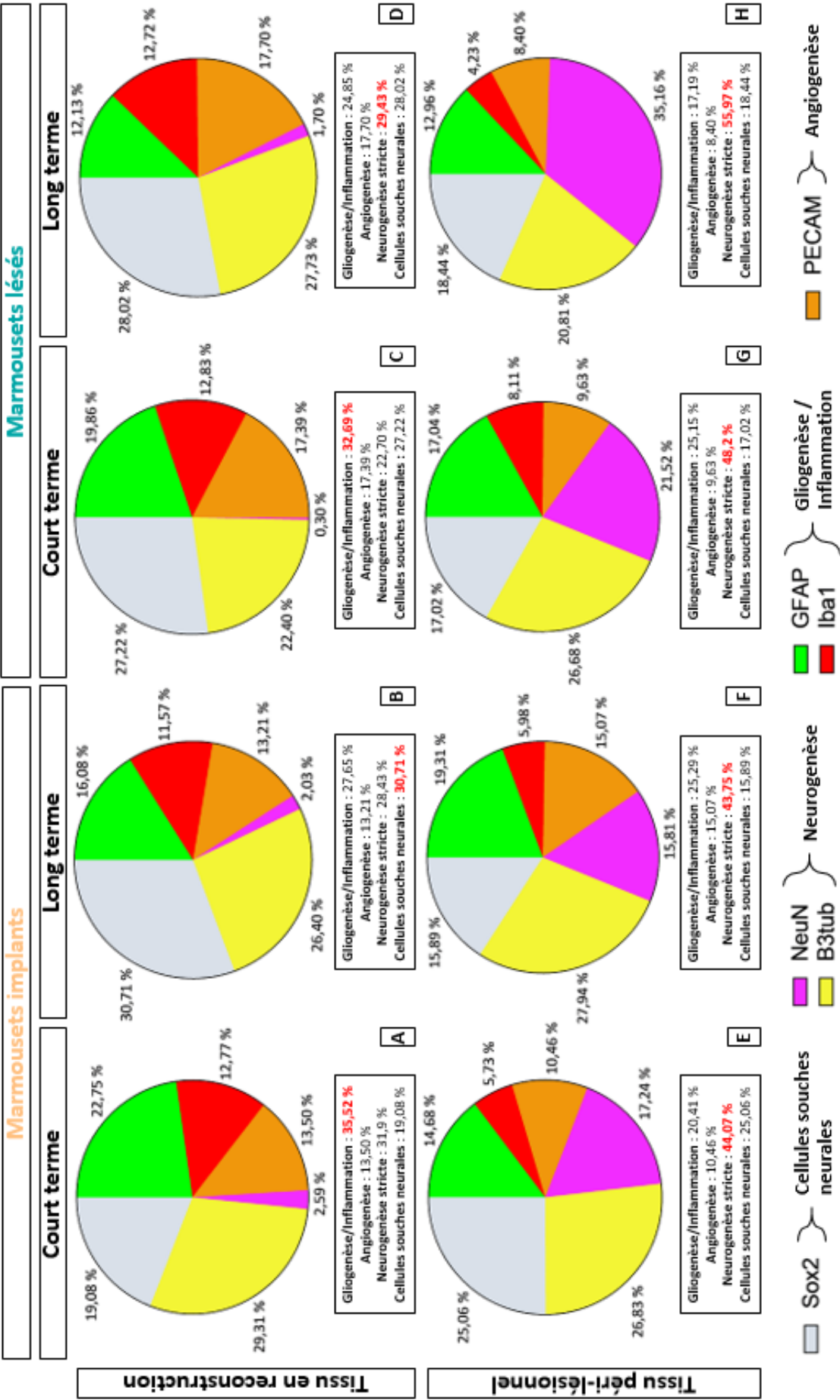


Figure 30. Graphiques en secteurs illustrant le pourcentage de chaque type cellulaire dans le tissu en reconstruction et le tissu péri-lésionnel de chaque sous-groupe chez les marmousets implants et lésés. Ce pourcentage a été quantifié dans le tissu en reconstruction (A-D) et le tissu péri-lésionnel (E-H) des coupes de cerveaux de marmousets implantés sacrifiés à court terme (implants court terme, A, E) et à long terme (implants long terme, B, F), ainsi que chez les marmousets seulement lésés sacrifiés à court terme (lésés court terme, C, G) et à long terme (lésés long terme, D, H) après lésion cérébrale (sacrifices de 4-5 mois à 8-12 mois post-lésion). Les pourcentages ont été ramenés à 100% en conservant les proportions (format de tableau « parts of whole » sur GraphPad Prism 8.2.1). Aucune différence significative n'a été relevée à l'analyse statistique pour la composition du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel entre les différents groupes. Groupe "Implants court terme" : n = 2 ; groupe "Implants long terme" : n = 2 ; groupe "Lésés court terme" : n = 2 ; groupe "Lésés long terme" : n = 3. GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein (marqueur astrocytes matures) ; Iba1 : Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 (marqueur microglie) ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (marqueur cellules endothéliales/vaisseaux) ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein (marqueur neurones matures) ; Sox2 : β 3-tubuline (marqueur neurones immatures) ; Sox2 : Sex determining region Y-box 2 (marqueur cellules souches neurales).

Il en va de même *in fine* pour les marmousets sacrifiés à court terme, pour lesquels les autres populations cellulaires restaient assez proches. Ce qui est néanmoins ressorti de ces diagrammes pour le tissu en reconstruction, c'est la proportion en neurones matures, qui restait très minoritaire (inférieure à 3% tous groupes confondus), bien qu'elle était légèrement plus importante chez les marmousets implants (2,59% et 2,03% contre 0,30% et 1,70% chez les lésés). L'essentiel des neurones observés dans le tissu en reconstruction étaient donc des neurones immatures. L'angiogenèse semblait quant à elle plus prononcée chez les marmousets lésés (autour de 17% pour environ 13% pour les marmousets implants).

Concernant le tissu péri-lésionnel, la neurogenèse stricte constituait la proportion la plus importante chez tous les marmousets de l'étude, avec un pourcentage légèrement plus élevé chez les marmousets lésés (48,2% à 55,97%) que chez les marmousets implants (autour de 44% chez les deux temps de sacrifice). Ces différences minimales s'expliquaient notamment par la proportion plus importante de neurones matures dans le tissu péri-lésionnel des marmousets lésés, la proportion de neurones immatures restant assez similaire entre les groupes.

Ainsi, sur ces diagrammes, on peut voir que la quantité de neurones matures observés dans le tissu en reconstruction était très faible pour tous les marmousets de l'étude (en valeur absolue et par rapport à la quantité de neurones matures observée dans le tissu péri-lésionnel). Les stades intermédiaires de la neurogenèse étaient quant à eux représentés de manière assez similaire entre les deux zones d'intérêt. La quantité de cellules souches neurales ainsi que de vaisseaux étaient quant à elles plus importantes dans le tissu en reconstruction. Ce dernier était donc en cours d'évolution et de différenciation, ce qui laisserait présager une réparation active des tissus lésés.

2. Marmousets implants – Infection et proportions cellulaires

Suite à la mise en évidence d'une infection chez un marmouset implanté (TooSpeed, sacrifié à long terme) et à la forte suspicion d'une infection également chez un autre (12F2, marmouset implanté sacrifié à court terme), la question s'est posée de l'influence de cette infection sur le développement du tissu en reconstruction. Les résultats individuels présentés dans les deux tableaux précédemment cités (**Tables 4 et 5** p.173-174) ont donc été également utilisés pour réaliser des diagrammes présentant et comparant la proportion de chaque type cellulaire étudié dans les deux zones d'intérêt (tissu en reconstruction et tissu péri-lésionnel) des 4

marmousets implants de cette étude en différenciant ceux présentant une infection des autres. Cela a été réalisé de manière à vérifier si le développement d'une infection au niveau de la cavité lésionnelle n'avait pas eu de répercussion trop importante sur la reconstruction tissulaire, et donc entraîné un potentiel biais dans l'interprétation des résultats globaux de l'étude. Ces diagrammes sont présentés sur la **Figure 31**.

Au vu des effectifs de chaque sous-groupe ici en considérant la chronicité (n=1), aucune analyse statistique n'a été réalisée, mais quelques tendances ont néanmoins pu être observées. On peut en effet voir sur les diagrammes de la **Figure 31** que les marmousets ayant présenté une infection auraient tendance à avoir une proportion de microglie plus importante dans leur tissu en reconstruction que ceux n'ayant pas développé d'infection. Ils présentaient également une quantité de cellules souches moins importante. Cela était valable pour les sacrifices à court comme à long terme. L'augmentation de la population de microglie ainsi que la diminution du nombre de cellules souches neurales chez les marmousets présentant une infection étaient également retrouvées dans le tissu péri-lésionnel, mais uniquement chez les sacrifices à long terme, la tendance étant plutôt inversée au court terme. L'infection aurait donc entraîné une mobilisation importante de cellules inflammatoires et semblerait avoir impacté les stades précoces de la réparation tissulaire. Néanmoins, cette infection n'aurait à priori pas eu d'effet sur les autres populations cellulaires du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel.

Malgré le développement d'une infection, la neurogenèse restait toujours prédominante dans le tissu péri-lésionnel et les proportions des autres types cellulaires n'ont pas été modifiées de manière conséquente. Les stades tardifs de la neurogenèse dans le tissu en reconstruction ainsi que dans l'espace péri-lésionnel n'ont donc été que peu modifiés par le développement d'une infection chez les deux marmousets implantés concernés.

Ainsi, les seules modifications observées suite au développement de cette infection chez les marmousets concernés étaient une augmentation modérée de la quantité de microglie ainsi qu'une légère baisse de la quantité de cellules souches neurales, notamment dans le tissu en reconstruction, mais également dans le tissu péri-lésionnel du marmouset TooSpeed, sacrifié à long terme. Toutefois, ces modifications restaient minimales et n'ont donc probablement pas interférées dans les résultats présentés précédemment.

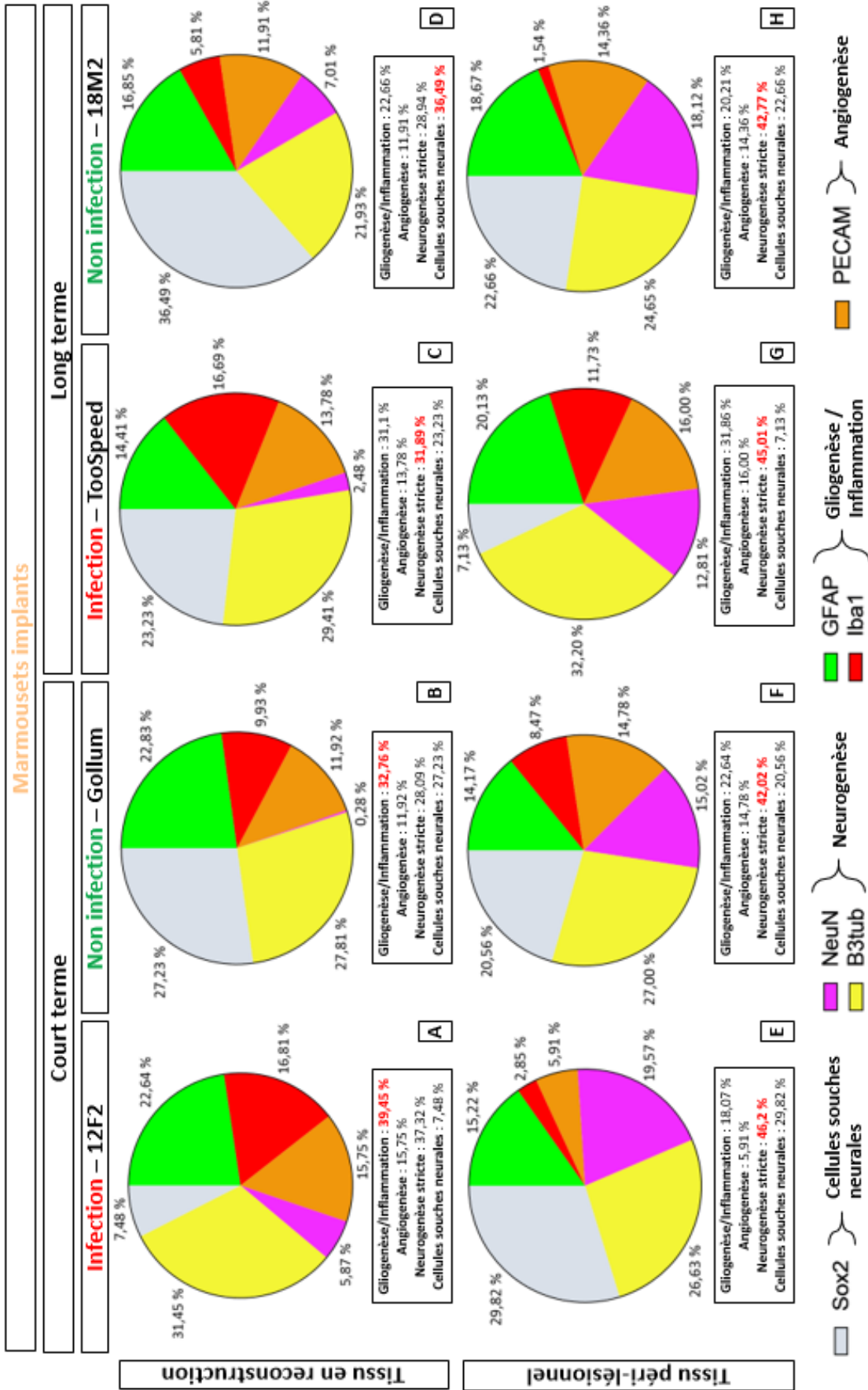


Figure 31. Graphiques en secteurs illustrant le pourcentage de chaque type cellulaire dans le tissu en reconstruction et le tissu péri-lésionnel de chaque marmouset implanté, ayant ou non présenté une infection locale au cours du protocole expérimental. Ce pourcentage a été quantifié dans le tissu en reconstruction (A-D) et le tissu péri-lésionnel (E-H) des coupes de cerveaux des marmousets implantés sacrifiés à court terme ayant présenté une infection (A, E) ou non (B, F) ; ainsi que des marmousets implantés sacrifiés à long terme ayant présenté une infection (C, G) ou non (D, H) après lésion cérébrale (sacrifices de 4.5 à 10 mois post-lésion). Les pourcentages ont été ramenés à 100% en conservant les proportions (format de tableau « parts of whole » sur GraphPad Prism 8.2.1). Aucune différence majeure n'a été relevée pour la composition du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel entre les marmousets ayant développé ou non une infection, à court ou long terme. Groupe "Implants court terme infection" : n = 1 ; groupe "Implants court terme non infection" : n = 1 ; groupe "Implants long terme infection" : n = 1 ; groupe "Implants long terme non infection" : n = 1. GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein (marqueur astrocytes matures) ; Iba1 : Ionized calcium-Binding Adapter molecule 1 (marqueur microglie) ; PECAM : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule (marqueur cellules endothéliales/vaisseaux) ; NeuN : Neuron specific Nuclear protein (marqueur neurones matures) ; B3tub : β 3-tubuline (marqueur neurones immatures) ; Sox2 : Sex determining region Y-box 2 (marqueur cellules souches neurales).

On peut donc retenir que le développement d'une infection chez deux marmousets implantés de cette étude n'aurait eu que des répercussions mineures sur la composition globale du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel, ce qui n'a pas perturbé les processus de reconstruction tissulaire ni entraîné de biais majeur dans l'interprétation des résultats.

IV. Discussion

Le projet global dans lequel cette étude prend part visait à étudier l'impact de l'implantation de biomatériaux en silicone (PDMS) sur la récupération fonctionnelle et la reconstruction tissulaire après une lésion cérébrale aiguë induite par l'injection intracorticale de malonate. Dans cette étude, les différentes populations cellulaires impliquées dans la reconstruction tissulaire ont été étudiées, et l'effet de l'implantation sur chacune d'elle a été vérifié. Nous rappelons que nous avons travaillé dans cette étude sur des effectifs certes restreints, mais permettant des comparaisons fiables entre marmousets sacrifiés à court terme et à long terme.

A. Effet de l'implant en silicone sur la reconstruction tissulaire

1. Pourcentage de tissu en reconstruction

Les résultats obtenus par la coloration de Nissl et la quantification du tissu en reconstruction chez les différents marmousets de l'étude ont suggéré, bien qu'aucune différence significative n'ait véritablement été relevée avec les effectifs faibles de l'étude, que l'implantation de biomatériaux en PDMS aurait tendance à améliorer la reconstruction tissulaire post-lésionnelle. Le pourcentage de tissu en reconstruction avait en effet tendance à être plus important chez les marmousets implantés que lésés, bien que les analyses statistiques soient ressorties non significatives. La principale hypothèse avancée pour expliquer la non significativité de ces résultats est la taille réduite des effectifs de l'étude. En effet, chaque sous-groupe comportait entre 2 et 3 marmousets, ce qui est relativement réduit pour faire ressortir une significativité si cette dernière n'est pas très conséquente. Ainsi, pour appréhender la réelle significativité des résultats et vérifier cette tendance, un test t non apparié a été réalisé avec l'effectif plus conséquent de marmousets lésés prévu initialement par l'équipe et ayant suivi le même protocole expérimental. Cette fois-ci, bien que les résultats à court terme soient restés non significatifs, une différence significative a été obtenue entre les marmousets

implantés et lésés sacrifiés à long terme. Cela corrobore l'hypothèse faite selon laquelle la non significativité des résultats concernant les différences de pourcentage de tissu en reconstruction entre les deux groupes de marmousets serait en grande partie liée aux effectifs réduits de cette étude. Une explication possible pour la non significativité à court terme serait liée à la cinétique de reconstruction tissulaire post-AVC, et à la mise en place des différents processus de réparation. Ces résultats ont donc permis de confirmer que l'implantation chronique de biomatériaux en PDMS favoriserait effectivement la formation de tissu en reconstruction et donc l'amélioration de la reconstruction tissulaire post-lésionnelle sur le long terme, avec une quantité supérieure de cellules mobilisées. Par ailleurs, la meilleure reconstruction observée à long terme est un autre argument pour la bonne tolérance et la bonne biocompatibilité de ces implants.

En outre, un autre élément important à considérer est que le pourcentage de tissu en reconstruction calculé et présenté ici pour les différents marmousets de cette étude n'est pas le strict reflet de la reconstruction tissulaire réelle. En effet, l'ensemble des manipulations effectuées *post-mortem* sur les cerveaux et les coupes de cerveaux ont menées à une perte conséquente de tissu en reconstruction chez les marmousets de l'étude, d'autant plus importante chez les marmousets implantés. Tout d'abord, les nombreuses manipulations des coupes de cerveaux lors de leur sélection, de leur passage de bains en bains au pinceau fin pendant les manipulations d'immunofluorescence en coupes flottantes ainsi que leur montage sur lame ont mené à des pertes modérées de tissu en reconstruction. En effet, ce tissu était très fin, dentelé et facilement friable. Malgré des manipulations très délicates, du tissu en reconstruction se retrouvait donc souvent endommagé lors de ces étapes. Néanmoins, ce fut le cas pour l'ensemble des marmousets de l'étude, donc ces pertes n'ont modifié que les valeurs absolues des pourcentages de tissu en reconstruction de chaque groupe, et non les valeurs relatives et les différences intergroupes. Ce n'est cependant pas le cas des manipulations inhérentes au retrait des implants avant coupe, qui concernaient uniquement les marmousets implantés. En effet, comme expliqué dans le paragraphe correspondant de la partie « Matériels et méthodes », les implants ont été retirés manuellement avant la découpe des cerveaux au microtome. Or, ce retrait manuel a engendré une perte importante de tissu en reconstruction, par arrachement, sur les coupes des marmousets implants. Cette perte est objectivable en comparant l'aspect de la lésion avant retrait et l'aspect des coupes de cerveaux post-retrait des implants (**Figure 32**).



Figure 32. Illustration de l'étude du comblement tissulaire de la lésion avant et après retrait manuel des implants en PDMS chez le marmouset implanté 18M2. **A.** Image IRM pondérée en T2 montrant une coupe axiale du cerveau de 18M2 au niveau de la lésion (suivi IRM 9 mois). Le tour de la lésion est délimité avec les pointillés oranges, et l'intérieur et le bord caudal sont constitués d'un matériel d'aspect tissulaire, pointé avec les têtes de flèches rouges. Les implants ressortent en noir sur l'image (têtes de flèches blanches). La partie rostrale est constituée d'un tissu de coloration plutôt blanchâtre, qui correspond à la lésion. Echelle : 5 mm. **B.** Vue lésionnelle dorsale avant retrait manuel des implants. La lésion et les implants sont recouverts par un tissu (têtes de flèches rouges) visualisable entre les implants (têtes de flèches blanches). Echelle : 1 mm. **C.** Coupe coronale de 30 µm d'épaisseur du cerveau de 18M2 avant analyse d'immunofluorescence prise sous la lampe binoculaire, avec une cavité lésionnelle visible. Echelle : 3 mm. **D.** Agrandissement de l'image C et délimitation du fin tissu en reconstruction par les pointillés rouges. Echelle : 1 mm.

La **Figure 32** illustre en effet les différences de comblement lésionnel et de reconstruction objectivables avant et après retrait manuel des implants. Ces images concernent le marmouset implanté 18M2 mais des images similaires ont été obtenues pour tous les marmousets implantés. On observe qu'avant retrait des implants, la lésion était partiellement comblée par un matériel d'aspect tissulaire, visualisable à l'IRM entre les implants (**A**). Cette image témoigne en effet de la présence d'un élément de couleur grisâtre compatible avec du tissu en reconstruction qui comble la lésion en partie caudale et entre les implants. On remarque en effet que la coloration de ce tissu est similaire à celle du tissu cérébral environnant, et qu'elle est bien moins blanchâtre que celle des zones rostrales, qui correspondent aux zones encore lésées (**A**). La visualisation d'un tissu recouvrant la lésion, compatible avec des méninges reconstruites, et le comblement tissulaire de l'espace entre les implants est aussi visible sur la vue dorsale de la lésion avant retrait manuel des implants (**B**). Or, les photos des coupes de cerveau obtenues après retrait des implants et avant immunofluorescence (**C, D**) montraient plutôt une cavité lésionnelle non comblée, avec un tissu en reconstruction uniquement visualisable sur les bords lésionnels (pointillés

rouges, **D**). Cela permet de visualiser l'ampleur de la perte de tissu en reconstruction inhérente au retrait manuel des implants. Par ailleurs, cela ne concerne que les marmousets implantés, et non les lésés qui n'ont pas d'implants à retirer. Cette perte engendre donc des différences relatives entre les deux groupes, contrairement à celle inhérente aux manipulations. Elle est donc à l'origine d'un biais dans la comparaison du pourcentage de tissu en reconstruction entre les marmousets implants et lésés.

Néanmoins, même avec cette perte de tissu en reconstruction suite au retrait des implants, une tendance a pu être visualisée et suggérait que les marmousets implantés auraient un pourcentage de tissu en reconstruction supérieur à celui des marmousets lésés, bien qu'aucune significativité ne soit ressortie à l'analyse statistique sur les faibles effectifs. Ainsi, on peut supposer que sans cette perte conséquente de tissu en reconstruction, une significativité aurait pu être objectivable à l'analyse même sur effectifs réduits, bien qu'on ne puisse en être certains.

On peut tout de même se demander où est passé ce tissu en reconstruction. Il serait logique de supposer qu'il s'est retrouvé sur les implants une fois retirés, mais au retrait des implants, peu de tissu était visualisable à l'œil nu et les rainures des implants étaient bien discernables. Par ailleurs, les analyses d'immunofluorescence effectuées sur les implants par Alice LeFric (thèse publiée en 2020), présentées précédemment, n'ont révélé la présence que d'un très faible nombre de cellules sur ces implants, et notamment des astrocytes matures et des neurones immatures (**Annexes 13 et 14**). Les résultats pour la recherche de neurones matures, de microglie et de cellules souches neurales sur ces implants étaient quant à eux négatifs. Cela ne correspond donc pas du tout à la composition du tissu en reconstruction mise en évidence dans cette thèse, et serait plutôt le fruit d'une migration cellulaire. Le tissu en reconstruction comblant la lésion s'est donc potentiellement retrouvé partiellement arraché dans la lésion au retrait des implants, et il a été définitivement perdu par la suite, probablement suite à leur manipulation pendant les analyses d'immunofluorescence dans les différents bains.

Pour limiter cette perte, on pourrait envisager une autre méthode de coupe pour les cerveaux des marmousets implantés. La technique utilisée pour couper les cerveaux de rats dans l'équipe est celle de la coupe au microtome après inclusion des cerveaux dans des blocs de paraffine. Cela permet d'obtenir des coupes plus fines (8 μ m chez le rat) et également une meilleure conservation des implants. Néanmoins, les cerveaux des marmousets sont de dimensions trop importantes pour être inclus dans

les blocs de paraffine du laboratoire. En effet, ils devraient être coupés en deux, mais la coupe se situerait au milieu de la lésion, donc une quantité trop importante de lésion serait perdue à la coupe (perte systématique des premières et dernières coupes au microtome, pour obtenir des coupes à niveau). Cette méthode n'est donc pas réalisable pour les marmousets. Par ailleurs, la coupe au vibratome, comme abordé dans la partie « Matériels et méthodes », n'a pas permis la conservation des implants et les coupes obtenues étaient trop épaisses, ce qui limitait les analyses histologiques par la suite. La technique de coupe au cryomicrotome (ou microtome à congélation) reste donc à ce jour la meilleure technique utilisable par le laboratoire pour couper les cerveaux des marmousets, bien qu'elle ne soit pas idéale pour la conservation de l'architecture des différents éléments de la cavité lésionnelle (implants et tissu en reconstruction notamment). La réalisation de coupes de tissu congelé peut aussi être réalisée sur un cryostat, après enrobage des tissus dans un liquide sous forme de gel à température ambiante qui se solidifie en dessous de -10°C (Bernhard, Viron 1971). La dureté du tissu congelé permet alors de réaliser des coupes plus minces qu'avec un cryomicrotome (10 à 100 µm) et les coupes sont, la plupart du temps, directement collectées sur lames. Par ailleurs, la dureté du tissu congelé pourrait permettre une meilleure conservation des implants à la coupe, bien que cela ne saurait être certain sans test préalable. Néanmoins, cette technique n'est pas réalisable dans le laboratoire de l'unité ToNIC.

2. Cellules souches et potentiel de renouvellement tissulaire

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré qu'il n'y avait aucune différence significative concernant la densité de cellules Sox2+ chez les marmousets implantés ou lésés dans les deux zones d'intérêt. De plus, dans le tissu en reconstruction, le pourcentage de cellules Sox2+ était d'environ 25% chez tous les marmousets. Or, les deux sites majoritaires de neurogenèse adulte abritant la grande majorité des cellules souches neurales sont la zone sous-granulaire de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire, comme expliqué dans la partie I (Abrous, Koehl, Le Moal 2005). Le marqueur Sox2 a en effet montré un nombre de cellules positives conséquent dans ces zones ici. On sait aussi que d'autres zones cérébrales sont suspectées capables de produire des cellules souches neurales (Rusznák et al. 2016). Néanmoins, la densité de cellules Sox2+ en péri-lésionnel et dans le tissu en reconstruction ne saurait être commentée avec certitude dans cette étude. En effet, nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'évaluation du pourcentage de cellules

Sox2 positives dans des modèles de lésion cérébrale, quelque que soit l'espèce animale considérée. On peut néanmoins inférer que si la neurogenèse est capable de reconstruire un tissu comportant plus de 50% de neurones matures en 16 semaines comme c'est le cas chez la souris avec d'autres types de biomatériaux à base d'acide hyaluronique (Nih et al. 2018), elle est capable de mobiliser un nombre conséquent de cellules souches neurales.

Quelques éléments doivent tout de même être relevés sur cette quantification de cellules Sox2. Tout d'abord, la question s'est posée de la spécificité chez le marmouset des anticorps anti-Sox2 utilisés. Or, des utilisations antérieures et l'aspect du signal obtenu par immunofluorescence nous ont éloignés de cette suspicion première. En effet, le marquage était fortement positif au niveau des zones primaires de neurogenèse, mais il ne concernait pas l'ensemble des autres cellules de la coupe et de la zone lésionnelle. Des noyaux non marqués étaient facilement identifiables, et les cellules auto-fluorescentes péri-lésionnelles ne prenaient que très peu le marquage.

Aussi, pour bien appréhender ce nombre conséquent de cellules Sox2+ au niveau du site lésionnel, il a fallu considérer la complexité du facteur de transcription Sox2, et ses rôles fonctionnels dans différentes populations cellulaires, non encore tous connus. En effet, ce facteur de transcription interviendrait également dans d'autres populations cellulaires, et ne serait pas uniquement impliqué dans le maintien de l'auto-renouvellement et la multipotence des cellules souches neurales. Tout d'abord, les cellules progénitrices exprimeraient également le gène Sox2 (Ellis et al. 2004). Parmi le nombre de cellules Sox2+ au niveau du site lésionnel, on peut donc supposer qu'un certain nombre seraient des cellules progénitrices (de neurones ou de glie) ayant migré des zones primaires de neurogenèse ou provenant du parenchyme adjacent, capable également de produire de nouvelles cellules (Bonfanti, Peretto 2011). Ces cellules progénitrices seraient également le reflet du potentiel de renouvellement et de différenciation des tissus lésés en reconstruction. Par ailleurs, le facteur de transcription Sox2 jouerait un rôle fonctionnel important dans d'autres cellules du SNC, et notamment dans les neurones et les cellules gliales différenciés (Mercurio, Serra, Nicolis 2019). Son implication dans ces types cellulaires différenciés a fait l'objet de plusieurs études car cela allait à l'encontre du fait établi selon lequel la différenciation en neurones et en cellules gliales ne pouvait se faire qu'après une baisse de l'expression de Sox2. Différentes études ont en effet montré que Sox2 serait

impliqué, quand nécessaire, dans la maturation et la morphologie des astrocytes, dans la prolifération, la différenciation et la remyélinisation des oligodendrocytes, ainsi que dans la morphologie, la maturation et la différenciation de plusieurs types de neurones et dans la restauration de la connectivité neuronale (Mercurio, Serra, Nicolis 2019; Ferri et al. 2004; Vidal et al. 2015; Zhang et al. 2018). Par ailleurs, il a également été affirmé par une étude sur cerveaux de souris adultes que le facteur de transcription Sox2 serait suffisant pour reprogrammer les astrocytes résidents en zone péri-lésionnelle en neuroblastes proliférateurs sous l'influence de facteurs spécifiques (Niu et al. 2013), bien que cela reste controversé (Modo 2019). Ces astrocytes retrouvaient alors une multipotence équivalente à celle des cellules souches neurales. Les neuroblastes induits pouvaient persister plusieurs mois et se développer en neurones matures fonctionnels s'intégrant dans les réseaux neuronaux du cerveau. Certaines études ont quant à elles montré que les astrocytes Sox2 positifs constituaient la population de cellules neurogéniques majoritaires dans le cortex cérébral adulte (Yang et al. 2023). Par ailleurs, cette étude a également montré une concordance entre la hausse de la population de cellules Sox2 positives et l'apparition de neuroblastes dans un modèle d'ischémie corticale focale chez le macaque.

Or, l'ensemble des phénomènes induits suite à la lésion cérébrale aiguë créée par l'injection intracérébrale de malonate chez les marmousets de l'étude ont mené à la stimulation de ces différentes voies impliquées dans la réparation cellulaire et le renouvellement des zones lésées et de leur fonctionnalité (Cirillo et al. 2020). Ainsi, bien que le rôle complexe du facteur Sox2 ainsi que son implication réelle dans les différents types cellulaires évoqués soit encore sujet à de nombreuses études et controverses, il semblerait qu'un ensemble de types cellulaires différents du SNC seraient capable d'exprimer Sox2 en dehors des cellules souches neurales. Néanmoins, l'ensemble des cellules qui exprimeraient ce facteur de transcription présenteraient des caractéristiques communes à celles des cellules souches dans leur multipotence, leur potentiel de multiplication, de différenciation et de maturation. Elles seraient donc intimement liées à la capacité de reconstruction et de renouvellement des tissus lésés au même titre que les cellules souches neurales. Ainsi, au vu du pourcentage de cellules Sox2 positives retrouvées dans cette étude et de l'absence de différence entre les groupes implants et lésés, cela nous permet donc de maintenir l'idée selon laquelle l'implantation des biomatériaux en PDMS n'aurait aucun impact sur les potentiels de différenciation et de renouvellement des zones d'intérêt en matière de densité. Il faut cependant considérer l'augmentation de tissu en

reconstruction total chez les marmousets implantés, qui mène, en quantité, à une plus forte représentation de cellules Sox2 chez ces derniers. Il pourrait se révéler intéressant de faire des comparaisons de quantité et non de densité de cellules pour s'en assurer, même si l'augmentation du pourcentage de tissu en reconstruction constitue déjà en elle-même un argument solide à ce fait, et ce pour l'ensemble des différentes populations cellulaires étudiées ici.

Par la suite, au vu du nombre de cellules différentes exprimant le facteur de transcription Sox2, il pourrait être intéressant de réaliser de nouveaux marquages ou d'envisager des co-marquages de manière à identifier de manière plus certaine les différents types de cellules Sox2+ retrouvés dans le tissu en reconstruction et dans la zone péri-lésionnelle. Par exemple, on pourrait réaliser des comarquages Sox2-GFAP pour identifier les astrocytes matures exprimant Sox2 et Sox2-MAP2 pour les neurones matures. D'autres marquages avaient été réalisés dans cette étude notamment les marquage nestine et doublecortine (DCX), mais ils se sont avérés non spécifiques. La nestine est une protéine associée aux cellules souches neurales et aux cellules progénitrices. Elle joue un rôle dans le maintien de la structure des cellules souches et dans la régulation de la division cellulaire et aurait donc permis d'identifier de manière plus certaine les cellules souches neurales parmi l'ensemble des cellules Sox2+. DCX est une protéine associée à la migration neuronale et à la différenciation des neurones en cours de développement. Elle peut être utilisée comme marqueur de la différenciation des cellules souches en neurones et pour l'identification des cellules progénitrices migrantes. Néanmoins, les résultats obtenus pour ces marquages se sont avérés décevants, les anticorps utilisés étant finalement non spécifiques chez le marmouset, bien que différents anticorps aient été tentés, notamment pour DCX. La recherche d'anticorps spécifiques chez le marmouset marquant les mêmes protéines est donc à poursuivre.

3. Neurogenèse locale

Comme l'ont suggéré les résultats obtenus par immunofluorescence, la greffe d'implants en PDMS n'a entraîné aucune modification significative de la densité de neurones matures et immatures présents dans le tissu en reconstruction.

Néanmoins, des différences ont pu être relevées dans le tissu péri-lésionnel. Tout d'abord, pour les marmousets implantés et lésés, un nombre significativement plus grand de neurones immatures ont été retrouvés à court terme qu'à long terme

(significativité du facteur temps). Or, cela est cohérent avec la cinétique de mise en place des différents mécanismes post-lésionnels de plasticité adaptative, dont la neurogenèse fait partie. En effet, la neurogenèse péri-lésionnelle est la plus importante dans les stades post-lésionnels proches, notamment dans les premières semaines, et diminuerait progressivement avec le temps et à mesure que la chronicité s'installe, indépendamment de l'implantation, par épuisement des mécanismes de neurogenèse endogène et par une baisse de facteurs stimulants (Cirillo et al. 2020). Ce résultat était donc attendu. Par ailleurs, les valeurs restant similaires à court et à long terme entre les marmousets implantés et lésés, l'implantation n'a pas eu de répercussion sur ce processus de diminution de la neurogenèse post-lésionnelle avec le temps. Elle n'aurait donc ni perturbé cette cinétique, ni favorisé un maintien sur le long terme des processus de neurogenèse, comme ça aurait pu être le cas si l'implant avait été construit pour libérer des facteurs de croissance en continu dans le site lésionnel. Or, l'implant conçu ici est un implant guidant, donc ce résultat n'est pas surprenant. Néanmoins, le fait qu'il n'ait pas perturbé la cinétique de diminution de la neurogenèse avec le temps peut tout de même constituer un argument à sa bonne intégration dans le milieu lésionnel.

Par ailleurs, la densité de neurones matures présents en péri-lésionnel était plus importante chez les marmousets lésés, à court comme à long terme. L'hypothèse avancée pour expliquer ce résultat serait que les implants se révéleraient être des facilitateurs de la migration neuronale au sein de la cavité lésionnelle. Ils permettraient donc un passage plus aisé des neurones à travers la cicatrice gliale péri-lésionnelle, et faciliteraient la migration des neurones jusqu'au site lésionnel. Cela a déjà été décrit chez un ensemble d'implants guidants (Modo 2019) et serait donc validé également avec cet implant 2D en PDMS. Cela pourrait permettre d'expliquer pourquoi les marmousets implantés présentaient moins de neurones matures en bord de lésion que les marmousets lésés. On peut par ailleurs supposer que c'est la microarchitecture de ces implants qui serait responsable de leur faculté à faciliter la migration neuronale (rainures). Cependant, si cette hypothèse était vérifiée et que la survie des cellules une fois sur place était assurée, on devrait retrouver une proportion plus importante de neurones matures dans le tissu en reconstruction chez les marmousets implantés, suite à leur migration facilitée. Cela n'est pas le cas au vu des résultats obtenus dans cette étude, comme présenté en début de paragraphe. Néanmoins, on peut supposer que ces neurones migrants, à défaut de se retrouver dans le tissu en reconstruction, pourraient éventuellement se retrouver sur les implants retirés avant la coupe. Cette

hypothèse est appuyée par l'observation de neurones immatures sur les immunofluorescences menées sur les implants dans la thèse d'Alice LeFric, comme présenté précédemment (**Annexes 13 et 14**), prouvant que des cellules neuronales peuvent effectivement migrer sur ces implants. On rappelle cependant qu'une quantité importante de tissu en reconstruction a été perdue après le retrait manuel des implants avant la coupe, et également lors des manipulations des implants dans les bains pour l'immunofluorescence. Il est donc également possible que ces neurones migrants aient été perdus à ce moment-là, ce qui expliquerait la faible quantité de cellules neuronales mise en évidence sur les implants malgré une migration facilitée. Pour s'en assurer, il faudrait trouver une manière de conserver l'intégralité du tissu en reconstruction à la coupe, ce qui ne semble pas encore possible pour les marmousets dans le laboratoire de l'équipe, pour les raisons citées dans le paragraphe IV.A.1.

Concernant l'étude de la fonctionnalité des neurones, le marquage synaptophysine avait été réalisé sur l'ensemble des coupes des marmousets implantés. La présence de plusieurs neurones présynaptiques fonctionnels a ainsi été mise en évidence par ce marquage. Ce dernier n'ayant jamais été réalisé chez les marmousets de l'équipe, différents anticorps et dilutions ont été tentés sur les coupes, et celui qui semblait le plus spécifique et montrait les meilleurs résultats a été présenté ici. Ces résultats n'ont toutefois pas pu être quantifiés dans le cadre de cette thèse. Par la suite, maintenant que l'anticorps et la dilution adéquats ont été trouvés pour le marmouset, il serait intéressant d'envisager la réalisation de co-marquages synaptophysine-MAP2 pour vérifier la superposition des signaux des neurones matures et des vésicules synaptiques. Cela permettrait d'avoir un reflet plus juste de la fonctionnalité des neurones dans le tissu en reconstruction et dans l'espace péri-lésionnel. Le marquage des coupes des marmousets lésés ainsi que la quantification de tous les résultats pourraient également être réalisés dans un second temps, de manière à étudier les éventuelles différences de fonctionnalité, indépendamment de la reconstruction cellulaire stricte.

Les résultats obtenus lors de cette étude ont tout de même permis de mettre en évidence que les implants ne perturbaient pas les processus de neurogenèse dans le tissu en reconstruction et qu'ils auraient plutôt tendance à favoriser la migration neuronale dans le site lésionnel si l'hypothèse émise s'avérait vérifiée. D'autres études doivent néanmoins être réalisées en limitant les pertes de tissu en reconstruction et

en envisageant la réalisation de co-marquages pour étudier la fonctionnalité des neurones au sein et autour de la zone lésée.

4. Gliogenèse et inflammation locales

Les résultats obtenus par immunofluorescence ont montré que la greffe d'implants en PDMS n'a entraîné aucune modification significative sur la densité de cellules gliales (astrocytes et microglie) dans le tissu péri-lésionnel et le tissu en reconstruction. L'implantation de biomatériaux en PDMS n'entraînerait donc pas d'exacerbation de l'inflammation au niveau du site d'implantation, ce qui suggère une bonne tolérance locale au vu de ces seuls résultats. Par ailleurs, ces implants n'auraient pas d'impact sur les phénomènes locaux de gliogenèse.

Or, bien que les résultats finaux soient revenus non significatifs, une tendance à la significativité du facteur temps a été relevée avec une diminution subtile du pourcentage d'astrocytes entre les sacrifices à court et à long terme chez les marmousets implantés et lésés, dans le tissu en reconstruction. Cette tendance reste cohérente avec la diminution des processus locaux d'inflammation à mesure que la chronicité s'installe au sein du site lésionnel, et pourrait se révéler significative sur des sacrifices à plus long terme ou sur de plus grands effectifs. En effet, la réalisation de sacrifices à des périodes excédant 12 mois pourrait éventuellement nous permettre d'étudier cette cinétique de diminution de l'inflammation sur des périodes plus longues et de mettre ainsi en évidence une quelconque significativité, l'inflammation locale semblant perdurer pendant une longue période en post-lésionnel.

Cette légère diminution au cours du temps concerne uniquement les astrocytes et non la microglie, et ne concerne que le tissu en reconstruction. On peut supposer que cela est inhérent à leurs différents rôles, en particulier en phase aiguë. En effet, on rappelle que les astrocytes jouent un rôle essentiel de soutien dans le SNC de par leur configuration. Ils établissent aussi des liens entre les neurones et les vaisseaux sanguins pour l'acheminement des nutriments et remplissent également des fonctions homéostatiques essentielles dans le milieu extracellulaire direct. Leur contrôle des concentrations extracellulaires des ions K^+ ainsi que du glutamate va être un élément clé dans la phase aiguë, notamment en limitant les phénomènes inhérents à l'excitotoxicité. Les astrocytes sécrètent aussi des facteurs neuroprotecteurs et sont à l'origine de la formation de la cicatrice gliale isolant la zone endommagée. Ils participent aussi au rétablissement de la BHE (Kolb, Whishaw, Teskey 2019; Brodal

2010). Tous ces phénomènes sont surtout des phénomènes de la phase aiguë à subaiguë. En phase chronique, ils vont notamment participer à la réparation tissulaire en s'engageant dans les voies de la neurogenèse (Niu et al. 2013), et ils vont également constituer la cicatrice gliale. On peut donc supposer que la légère diminution observée dans le tissu en reconstruction à long terme est liée à leurs rôles moins prononcés dans cette phase, et potentiellement à la différenciation d'un certain nombre d'entre eux en cellules progénitrices neurales, puis en neurones immatures et matures, de manière à favoriser la reconstruction du tissu lésé. La microglie va quant à elle jouer le rôle de macrophage et nettoyer la zone lésée, mais elle va aussi envahir la zone lésionnelle pour y sécréter des facteurs de croissance, jouant un rôle clé dans la reconstruction tissulaire à court terme et à long terme (Kolb, Whishaw, Teskey 2019).

Par ailleurs, l'épaisseur de la cicatrice gliale est restée similaire à court terme comme à long terme, et aucune différence significative n'a été relevée entre les marmousets implantés et lésés. Néanmoins, bien que son rôle soit bénéfique au début (limite l'extension des lésions), sur le long terme, elle va plutôt isoler la cavité lésionnelle et limiter les phénomènes de croissance axonale et de régénération tissulaire en bloquant la migration d'un certain nombre de cellules (Orr, Gensel 2018; Bradbury, Carter 2011). L'injection de chondroïtinase ABC réalisée après implantation n'a cependant pas permis la réduction attendue de l'épaisseur gliale dans cette étude. Par contre, la question s'est posée sur son implication potentielle dans la migration facilitée des neurones matures du tissu péri-lésionnel à la cavité lésionnelle chez les marmousets implantés. En effet, l'hypothèse a été faite que cette migration facilitée serait due aux implants guidants en PDMS, appuyée par des données de la littérature. Cependant, les 3 marmousets ayant reçu de la ChABC sont des marmousets implantés (dont un, 18M1, a été exclu de la fin de l'étude). Or, on rappelle que la ChABC est une enzyme capable de dégrader directement les CSPGs en clivant les chaînes latérales des glycosaminoglycanes (Nakamae et al. 2010). Cela peut donc entraîner une dégradation de la cicatrice gliale visible par la diminution de son épaisseur, mais peut aussi diminuer la densité de cette dernière et augmenter sa perméabilité (Hettiaratchi et al. 2019). Elle pourrait donc finalement être la cause de la migration facilitée et non les implants. Cependant, en regardant les résultats individuels de la **Table 5** (p.174), on se rend compte que les deux marmousets implantés ayant reçu la ChABC faisaient partie de ceux qui avaient les pourcentages de neurones matures les plus élevés en zone péri-lésionnelle. Cette migration facilitée

est donc bien imputable aux implants guidants, et non à la ChABC. Cette dernière n'a donc réellement eu aucun effet sur la cicatrice gliale des marmousets dans cette étude.

Néanmoins, les effets de cette enzyme restent assez controversés, et bien que son efficacité ait été démontrée dans de nombreuses études lors de lésions spinales chez les rats et chez les PNH (Stepankova, Jendelova, Machova Urdzikova 2021; Bradbury et al. 2002), son utilisation en cas de lésions cérébrales reste moins répandue. Dans ce cadre, elle a surtout été testée chez le rat et son efficacité reste controversée. Elle possède en effet certains inconvénients qui limitent son utilisation et pourrait expliquer son éventuelle inefficacité. En effet, ses principales limites sont sa forte instabilité à température ambiante (agrégation protéique et perte d'activité conséquente dans les heures suivant l'injection à 37°C) et la nécessité d'une injection à dose élevée, d'injections répétées (plus invasif) ou d'une libération prolongée pour pallier à la production continue des CSPGs sur les semaines post-lésion (Hettiaratchi et al. 2019). En effet, l'injection de cette enzyme seule a montré une amélioration fonctionnelle chez le rat avec occlusion de l'ACM (Hill et al. 2012), cependant son injection se faisait par micro-pompe sur une plus large période pendant 7 jours. Dans cette étude, un total de 0,24 U de ChABC a été administré après l'implantation, mais non renouvelé par la suite. Cette dose a été décidée suite à des essais préalables et à l'utilisation des données de littérature, notamment disponibles pour les rats. Ces données varient considérablement d'une étude à l'autre, avec globalement des injections de 0,15 à 0,3 U chez le rat. Ainsi, le manque d'effet de la ChABC dans cette étude pourrait être imputable soit à une quantité administrée trop faible, soit au mode d'injection simple, soit à son instabilité et à sa perte d'efficacité *in situ*.

5. Angiogenèse locale

Les résultats obtenus par immunofluorescence, ont suggéré que la greffe d'implants en PDMS n'entraînait aucune modification significative sur la densité de vaisseaux présents dans le tissu péri-lésionnel et le tissu en reconstruction. Or, bien que les résultats soient revenus non significatifs, une tendance à la significativité du facteurs implants/lésés a été observée dans le tissu en reconstruction concernant l'angiogenèse locale, légèrement supérieure chez les marmousets lésés. Or, l'angiogenèse est un élément essentiel de la reconstruction tissulaire, car à terme, le rétablissement du réseau vasculaire dans la zone infarctée détermine le rétablissement du flux sanguin cérébral, la régénération neuronale et la reconstruction des connexions synaptiques entre les cellules nerveuses, qui influencent le degré de récupération

fonctionnelle du patient (Ma et al. 2021). On rappelle également que l'angiogenèse est majoritairement stimulée par la production massive de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) par les tissus hypoxiques après l'AVC, bien que diverses cellules immunitaires et cytokines sont également impliquées dans sa régulation (Ma et al. 2021). Les phénomènes d'angiogenèse sont donc étroitement imbriqués avec ceux de neuro- et de gliogenèse. Or, les résultats obtenus dans les autres populations cellulaires ne permettent pas de trouver un lien entre cette tendance à une angiogenèse moins développée dans le tissu en reconstruction des marmousets implantés. Une des hypothèses possibles serait encore une fois celle de la perte de tissu en reconstruction au moment de retrait des implants, qui pourrait venir influencer ces résultats et faire pencher la balance pour les marmousets lésés. Cela soulignerait cependant une hétérogénéité du tissu en reconstruction. Une autre hypothèse serait le comblement de la cavité lésionnelle par les implants, limitant la place au développement du réseau vasculaire. Or, cela se reflèterait également sur les populations cellulaires du tissu en reconstruction si l'hypothèse était vérifiée, ce qui n'est pas le cas dans cette étude. Cela irait également à l'encontre du but même de ces implants, conçus pour promouvoir la reconstruction tissulaire et guider la nouvelle formation des réseaux vasculaires, gliaux et neuronaux, et non pour la limiter. Cette hypothèse n'est donc pas conservée, celle sur la perte de tissu en reconstruction chez les marmousets implants restant la plus plausible.

Néanmoins, il ne s'agit là que d'une tendance, les résultats finaux obtenus restant non significatifs. Pour vérifier plus en avant cette tendance à la significativité, des effectifs plus importants pourraient être nécessaires, de manière à avoir des résultats plus homogènes et plus représentatifs de chaque groupe. De plus, en perspective, une mesure de la densité vasculaire de PECAM dans un cortex sain pourrait être réalisée, de manière à comparer de manière plus juste les réelles différences observées ici. Or, à l'heure actuelle, les résultats obtenus nous mènent à conclure que l'implantation ainsi que la chronicité n'auraient aucun impact sur l'environnement vasculaire au niveau du site lésionnel.

6. Caractérisation globale de la composition des zones d'intérêt

Concernant la caractérisation globale des zones d'intérêt, bien qu'aucune différence significative n'ait été relevée, des tendances ont néanmoins pu être visualisées.

Dans le tissu péri-lésionnel, une neurogenèse prédominante a pu être observée pour les marmousets de chaque groupe, avec environ 44 à 55% de neurones (matures et immatures) dans ce tissu. Par ailleurs, l'angiogenèse représentait une part légèrement plus conséquente du tissu péri-lésionnel chez les marmousets implants que chez les marmousets lésés, contrairement au tissu en reconstruction. La quantité de cellules gliales restait quant à elle similaire.

Pour le tissu en reconstruction, la population cellulaire majoritaire était représentée par les cellules gliales marquées (astrocytes et microglie) pour l'ensemble des marmousets à court terme. Cela est compatible avec une prédominance des phénomènes inflammatoires à court terme. A long terme, les cellules gliales occupaient une place moins importante dans ce tissu, et les populations cellulaires majoritaires étaient représentées par les cellules souches et les cellules neuronales, ce qui témoigne de l'avancement des processus de reconstruction tissulaire. La prédominance des neurones immatures dans les stades de la neurogenèse mis en évidence dans le tissu en reconstruction illustre également le renouvellement actif de ce tissu, et ce, dès le plus court terme. Le pourcentage faible de neurones matures présents dans le tissu en reconstruction de tous les marmousets était également remarquable, particulièrement chez les marmousets lésés. Cela suggère une cinétique plutôt lente de maturation des neurones dans ce tissu et donc de reconstruction tissulaire, notamment chez les marmousets lésés. Entre le court et le long terme, la transformation de ce tissu en reconstruction est donc facilement visualisable et bien orientée vers un bon renouvellement des tissus lésés, avec une diminution des processus inflammatoires, ainsi qu'une place prépondérante attribuée à la neurogenèse et aux cellules souches impliquées dans la multiplication, la différenciation et la maturation des différents types cellulaires.

La proportion de neurones matures supérieure dans le tissu péri-lésionnel chez les marmousets lésés, ajoutée à une présence moins importante de neurones matures dans le tissu en reconstruction par rapport aux marmousets implants, était pleinement visualisable sur les diagrammes de la **Figure 30** (p.188). Cela corrobore l'hypothèse émise suggérant que les implants permettraient de faciliter la migration des cellules neuronales dans la cavité lésionnelle. Cette hypothèse est également renforcée par l'étude du pourcentage de cellules souches neurales dans les zones d'intérêt. En effet, le pourcentage de cellules souches neurales dans le tissu péri-lésionnel a diminué de 10% chez les marmousets implants entre le court et le long terme. On peut donc

supposer que ces cellules se sont soit différenciées en autres types cellulaires, soit qu'elles ont directement migré vers la cavité lésionnelle. La dernière hypothèse peut être appuyée par l'augmentation concomitante du pourcentage de 10% des cellules souches neurales dans le tissu en reconstruction de ces mêmes marmousets implants entre le court et le long terme. Cela suggère donc bien une migration facilitée des différents types cellulaires avec la présence des implants en PDMS, qui peut être immédiate (neurones matures) ou retardée (cellules souches neurales).

Par ailleurs, en étudiant les différents ratios de cellules dans ces zones d'intérêt, on peut comparer leur composition avec la composition classique du tissu cérébral global, de manière à mieux appréhender l'ampleur de la reconstruction pour les différents types cellulaires. Les ratios neurones/cellules gliales de 1 : 0,7 (Azevedo et al. 2009; Haug 1986) et neurones/cellules gliales/cellules endothéliales de 5 : 3 : 1 (Bahney, von Bartheld 2018) présentés dans la partie I de ce manuscrit sont des ratios représentant les proportions des différents types cellulaires sur l'ensemble du cerveau humain (von Bartheld 2018). Néanmoins, il existe bien entendu des régions du cerveau dans lesquels ces ratios sont plus ou moins élevés. Cela est particulièrement compréhensible étant donné que 19% des neurones et 72% des cellules non-neurales du cerveau sont contenues dans le cortex cérébral (matière grise et matière blanche sous-corticale), qui représente 82% de la masse cérébrale chez l'Homme (Azevedo et al. 2009). Le cervelet, représentant seulement 10% de la masse cérébrale totale, contient quant à lui 80% des neurones et 19% des cellules non neuronales du cerveau entier (Azevedo et al. 2009). Les ratios sont donc largement différents entre ces deux régions.

Dans cette étude, on s'intéresse au cortex cérébral, et donc à sa composition cellulaire dans un cerveau sain, de manière à la comparer avec les différents pourcentages cellulaires obtenus dans cette étude. Or, dans l'étude ayant déterminé les différents ratios généraux présentés ci-dessus, il a été montré pour ce faire que le ratio cellules non-neurales/neurones était d'environ 3,76 dans le cortex cérébral humain entier (matière grise et matière blanche sous corticale), d'environ 1,48 dans la matière grise corticale seule, et d'environ 15,41 dans la matière blanche sous-corticale seule (Azevedo et al. 2009). En considérant que les cellules endothéliales représentent environ 25% de l'ensemble des cellules non-neurales et que le reste (75%) correspond aux cellules gliales (Bahney, von Bartheld 2018), on obtient donc environ les proportions cellulaires suivantes en situation physiologique :

- Cortex cérébral entier : 21% de neurones, 59% de cellules gliales et 20% de cellules endothéliales.
- Matière grise corticale : 40% de neurones, 45% de cellules gliales et 15% de cellules endothéliales (données similaires à celles de (Hannon et al. 2024)).
- Matière blanche sous-corticale : 6,1% de neurones, 70,5% de cellules gliales et 23,4% de cellules endothéliales.

Par ailleurs, la même étude a démontré que les différents ratios de cellules des structures cérébrales humaines étaient relativement similaires à ceux des autres primates. Aussi, si on regarde les différents pourcentages obtenus pour les différentes populations cellulaires chez les marmousets de cette étude, les caractéristiques du tissu péri-lésionnel de l'ensemble des marmousets se rapprochent plus de celles de la matière grise corticale en ce qui a trait aux pourcentages cellulaires, bien que la proportion de cellules gliales reste plus basse, ainsi que celle des cellules endothéliales, notamment pour les marmousets lésés. Pour le tissu en reconstruction, sa composition chez les marmousets implants se rapproche également plus de celle de la matière grise corticale en ce qui concerne les cellules gliales (bien que leur proportion reste un peu basse notamment pour le long terme) et endothéliale, mais sa composition neuronale se situe entre celle de la matière grise et du cortex complet. Par ailleurs, pour les marmousets lésés, la composition du tissu en reconstruction de ceux sacrifiés à court terme se rapproche plutôt de celle du cortex entier en ce qui concerne la neurogenèse, malgré une population gliale basse, et se situe entre celle de matière grise et du cortex entier pour les sacrifices à long terme, avec une population de cellules gliales encore basse. Ainsi, la composition de la zone péri-lésionnelle se rapproche plutôt de celle de la matière grise corticale, tandis que celle du tissu en reconstruction semble être à mi-chemin entre celle de la matière grise corticale et du cortex cérébral complet (notamment pour les marmousets lésés). Or, la lésion créée a été induite par injection de malonate dans le cortex moteur primaire, et a aussi bien atteint la matière grise corticale que la matière blanche sous-corticale. Ainsi, on s'attendait à observer un tissu en reconstruction et une zone péri-lésionnelle de composition cellulaire similaire à celle du cortex cérébral dans sa globalité, en comprenant également la matière blanche sous-corticale. Néanmoins, la composition similaire à celle de la matière grise observée ici, plus riche en neurones, nous laisse à penser que les mécanismes de reconstruction mis en œuvre s'axent principalement sur la neurogenèse. Par ailleurs, la présence d'implants semble favoriser cette

orientation à court terme, comme le suggère la composition plus proche de celle de la matière grise corticale du tissu en reconstruction des marmousets implantés à court terme en ce qui concerne la neurogenèse, par rapport à celui des marmousets lésés.

Toutefois, certaines limites peuvent être soulignées dans ces résultats. Tout d'abord, comme expliqué dans le paragraphe correspondant, le marquage des cellules souches neurales concerne en fait une multitude de cellules ayant des propriétés similaires aux cellules souches et pouvant rentrer dans les différentes catégories de neurogenèse et de gliogenèse. Il est possible donc que ces cellules soient en fait déjà marquées par les autres marqueurs, en particuliers les marqueurs neuronaux et astrocytaires, ce qui pourrait créer un biais dans la formation des diagrammes et dans les pourcentages cellulaires. Pour s'en assurer, il faudrait, comme suggéré précédemment, réaliser d'autres marquages ou des co-marquages pour différencier les différentes cellules qui rentrent dans le pourcentage des cellules souches neurales. Par ailleurs, il serait également intéressant de parvenir à prédire le devenir des cellules souches et leur pourcentage de différenciation en futures cellules gliales ou neuronales, de manière à avoir un reflet plus précis de l'ensemble du pourcentage de cellules réellement impliquées dans la réparation de chaque lignée cellulaire, dès le stade le plus précoce.

Un autre point important à noter est l'absence de portion inconnue dans les diagrammes. Cela suggère que l'on a identifié toutes les cellules des tissus péri-lésionnels et en reconstruction, ce qui n'est pas possible si on prend en compte l'architecture globale du SNC. En effet, on rappelle que les cellules gliales du cerveau comprennent les astrocytes, la microglie, mais également les oligodendrocytes, responsables de la formation de la gaine de myéline autour des axones neuronaux. Une étude a d'ailleurs mis en évidence que parmi les cellules gliales du cortex cérébral, les oligodendrocytes représentaient le type glial le plus fréquent (~40%), suivi par les astrocytes (~35%), puis la microglie (~25%) (Hannon et al. 2024). Or, les oligodendrocytes n'ont pas été marqués ni quantifiés dans cette étude, principalement par défaut d'un anticorps utilisable : anticorps O4 (Oligodendrocyte marker 4) non dirigé contre le marmouset, et anticorps OSP (Oligodendrocyte Specific Protein) ancien avec une spécificité non prouvée chez le marmouset. Ainsi, on comprend que le nombre réel de cellules gliales dans les zones d'intérêt des marmousets de cette étude a donc été sous-estimé, et qu'on se rapprocherait plus de la composition du cortex cérébral dans son ensemble en incluant les oligodendrocytes, bien que la

proportion en neurones resterait tout de même plus proche de celle de la matière grise. Cela explique pourquoi la proportion en cellules gliales restait toujours inférieure à celle attendue dans la littérature. La recherche d'un anticorps fonctionnel et spécifique chez le marmouset marquant les oligodendrocytes serait donc un élément à considérer et à inclure dans une prochaine étude pour avoir un reflet plus global de l'ensemble des cellules gliales.

Il a donc fallu trouver une explication concernant l'absence d'une portion inconnue dans les différents diagrammes alors que certains éléments constitutifs du SNC comme les oligodendrocytes n'ont pas été recherchés dans cette étude, ce qui suggère bien que l'ensemble des éléments constitutifs des zones d'intérêts n'a pas été identifié. Pour cela, il est important de préciser que l'ensemble des proportions cellulaires dans les zones d'intérêt des différents marmousets dépassait en réalité les 100%. Elles ont été ramenées à 100% pour la réalisation de ces diagrammes, mais elles dépassaient en réalité ce chiffre d'en moyenne 10% chez certains marmousets. La principale hypothèse formulée concernant cet élément a été l'épaisseur importante des coupes. En effet, les coupes de cerveaux des marmousets de l'étude avaient une épaisseur de 30 μm , ce qui engendrait des superpositions à l'analyse microscopique et pouvait donc mener à une surestimation du nombre de cellules comptabilisées à l'analyse statistique, ramenée sur un plan en 2D. Ce phénomène a été visualisé tardivement dans l'étude, au moment de la réalisation des diagrammes en secteurs. Il aurait donc fallu effectuer l'analyse statistique sur chaque plan d'épaisseur séparé, mais cela n'est pas une solution réalisable en pratique, par le temps considérable que chaque analyse prendrait. Une autre solution aurait été de réaliser le comptage sur un seul plan avant de prendre en compte l'épaisseur, mais le choix du plan aurait été décisif et la représentativité des résultats n'aurait pas été vérifiée, d'autant plus que l'épaisseur du tissu en reconstruction n'était pas similaire à celle de la coupe et qu'il aurait fallu la mesurer pour chaque portion étudiée. Ainsi, les proportions cellulaires ont été légèrement surestimées dans cette étude.

Enfin, on remarque qu'aucune différence significative n'a été objectivée quand les proportions des différents types cellulaires ont été ramenés à 100% pour la réalisation de ces diagrammes, contrairement aux analyses individuelles pour lesquelles de la significativité a été obtenue. On peut donc supposer que le lissage des proportions pour obtenir une répartition de 100% aurait réduit l'écart mis en évidence individuellement pour certaines populations cellulaires. Cela, associé aux

faibles effectifs, pourrait expliquer que la significativité ne soit pas retrouvée dans la caractérisation globale des zones d'intérêt.

7. Infection et répercussion sur la reconstruction tissulaire

Au cours de cette étude, le développement d'une infection à bactéries Gram positives en forme de coques en position intra-cytoplasmique a été objectivé au niveau de la cavité lésionnelle et du ventricule latéral ipsi-lésionnel chez un marmouset implanté de l'étude, TooSpeed (sacrifié à long terme). Le développement d'une infection a également été fortement suspecté pour un autre marmouset implanté, 12F2 (sacrifié à court terme), pour qui les résultats préliminaires similaires à ceux de TooSpeed semblaient corroborer la présence d'une infection, bien que les résultats définitifs et leur interprétation par le laboratoire de l'ENVT n'aient pas encore été communiqués au moment de la rédaction de ce manuscrit.

Cette infection semblait maîtrisée chez le marmouset TooSpeed, avec des signes de chronicité. Par ailleurs, elle n'a eu que des répercussions mineures sur la composition globale du tissu en reconstruction et du tissu péri-lésionnel, ce qui n'a pas entraîné de biais majeur dans l'interprétation des résultats. En effet, une augmentation modérée de la quantité de microglie ainsi qu'une baisse de la quantité de cellules souches neurales ont pu être objectivées dans le tissu en reconstruction en présence d'une infection. Or, ces observations réalisées sur des cas uniques sont difficiles à comparer avec les marmousets lésés. Cette proportion plus importante de microglie lors de la présence d'une infection était attendue et peut s'expliquer par le rôle de ces cellules, macrophages du SNC et en formant la principale défense immunitaire grâce à leurs capacités phagocytaires. Or, les coques objectivées étaient en position intra-cytoplasmique, ce qui appuie ce fait. Concernant la diminution de la population de cellules souches neurales, il se peut que l'infection soit à l'origine d'un environnement moins favorable au renouvellement, à la survie, à la maturation et à la régénération cellulaire dans un premier temps, expliquant que les stades précoces puissent être impactés à court terme notamment. En effet, on peut supposer que la gestion de cette infection reste prioritaire sur la réparation tissulaire. Cela pourrait expliquer la légère différence observée entre les marmousets implants et lésés concernant le pourcentage de cellules souches neurales à court terme. A long terme cependant, son impact reste minime sur ces stades. Par ailleurs, les caractérisations globales sur l'ensemble des marmousets de l'étude n'avaient pas montré de différences significatives sur la quantité de cellules souches neurales, cette dernière pourrait

cependant être légèrement sous-estimée à court terme au vu de l'infection chez les marmousets implantés, mais la différence serait minime au vu des résultats obtenus.

Par ailleurs, malgré le développement d'une infection, la neurogenèse restait toujours prédominante dans le tissu péri-lésionnel et les proportions des autres types cellulaires n'ont pas été modifiées outre mesure. Cela pourrait notamment s'expliquer par le caractère chronique et maîtrisé de l'infection, mis en évidence par les colorations histologiques effectuées sur le marmouset infecté à long terme, ainsi que par le moment du développement de cette infection. En effet, on peut supposer au vu de ces résultats qu'au moment de l'apparition de l'infection, la reconstruction, les processus de réparation ainsi que la répartition cellulaire étaient déjà bien initiés. Cela pourrait permettre d'expliquer pourquoi les stades plus tardifs de la neurogenèse présents dans le tissu en reconstruction ainsi que dans l'espace péri-lésionnel ne sont que peu impactés par le développement de l'infection, cette dernière semblant plutôt impacter les stades précoces. Par ailleurs, de manière similaire à la caractérisation globale chez tous les marmousets de l'étude, l'absence d'une portion inconnue dans les différents diagrammes peut s'expliquer de la même manière que dans le paragraphe précédent.

Globalement, on peut conclure que les différences observées de ces cas uniques ayant développé une infection restaient minimes et n'ont pas entraîné de biais évident dans l'interprétation des résultats globaux de l'étude.

B. Limites globales de l'étude

Au-delà des limites déjà citées et propres à chaque manipulation et aux résultats présentés, il y a un certain nombre de limites plus générales à considérer dans la réalisation de cette étude, incitant à une certaine nuance des résultats obtenus. Ces limites vont être présentées par ordre décroissant d'importance.

1. Effectifs de l'étude

La limite principale de cette étude réside dans les effectifs des différents sous-groupes. En effet, chaque sous-groupe est constitué de $n = 2$ ou 3 individus (voire $n = 1$ pour la comparaison des marmousets implantés infectés ou non), ce qui est peu. Ces effectifs réduits peuvent permettre en partie d'expliquer pourquoi certaines tendances observées ressortent non significatives à l'analyse statistique. Or, ces effectifs sont le résultat de la formation de sous-groupes au sein de l'étude, de manière à étudier concomitamment l'aspect temporel de la reconstruction tissulaire, en plus de

l'effet des implants, pour avoir un reflet plus juste de la cinétique de reconstruction. En outre, le manque d'effectifs plus conséquents, et en particulier chez les marmousets implantés vient de la complexité de la mise en œuvre d'une étude avec un PNH, ainsi que de la disponibilité des marmousets dans la zootechnie attenante au laboratoire. L'idéal serait donc effectivement de mener une nouvelle étude sur de plus grands effectifs pour vérifier les tendances observées dans cette étude et atteindre une meilleure représentativité des résultats. On gardera donc à l'esprit qu'il s'agit bien dans cette étude de présenter des résultats préliminaires sur des effectifs réduits et non d'obtenir des résultats généralisables à l'ensemble de la population, ce qui ne saurait être possible sans étude à plus grande échelle. Le but a donc été de mettre en évidence de la significativité si cette dernière était forte et d'éventuelles tendances pour la suite sur l'effet de l'implantation par un biomatériau en PDMS sur la reconstruction tissulaire et la récupération fonctionnelle chez le marmouset.

2. Infection marmousets implants

Il a été abordé précédemment qu'une infection à coques Gram positives a été objectivée au niveau de la cavité lésionnelle et du ventricule latéral ipsi-lésionnel chez un marmouset implanté de l'étude, TooSpeed (sacrifié à long terme). Le développement d'une infection est également fortement suspecté chez un autre marmouset implanté, 12F2, sacrifié à court terme. Ainsi, sur les 4 marmousets implantés de l'études avec des analyses *post mortem* exploitables, 1 à 2 marmousets ont développé une infection, ce qui n'est pas négligeable.

L'origine de cette infection n'est pas certaine, mais elle ne semble pas provenir d'une manipulation non stérile des implants pendant leur conception, car elle aurait alors concerné l'ensemble des marmousets implantés. Elle pourrait cependant provenir de la procédure chirurgicale, que ce soit par une mauvaise stérilisation de la zone chirurgicale avant l'opération ou du matériel utilisé en peropératoire. Si cette infection est effectivement liée aux manipulations chirurgicales, le fait qu'elle ne se soit développée que chez des marmousets implantés s'expliquerait alors par le fait qu'ils ont non pas une, comme les marmousets lésés (chirurgie lésionnelle), mais deux chirurgies pendant le protocole globale (chirurgie lésionnelle et implantation), ce qui multiplie les risques d'exposition pour les marmousets du groupe implants. En outre, le caractère invasif de la procédure d'implantation est également un facteur de risque non négligeable. Aucune infection bactérienne intracérébrale n'avait cependant été décrite chez les précédentes études réalisées avec les neuro-implants en PDMS avec

cellules souches neurales chez le rat, malgré des procédures d'implantation similaires (L. Vaysse et al. 2015). Le marmouset pourrait donc être plus sensible aux infections peropératoires. Cela pourrait s'expliquer par sa taille légèrement plus grande que celle du rat, nécessitant des ouvertures plus conséquentes et donc une exposition plus importante. Un soin particulier doit donc être apporté aux processus de stérilisation tout au long du protocole, ainsi qu'aux différentes manipulations des implants et des tissus cérébraux. Par ailleurs, la stérilisation des biomatériaux pré-implantation pourrait être envisagée pour limiter ce risque. Elle était réalisée à la lampe à UV pendant les premiers temps de la conception des implants, mais a été arrêtée car elle semblait dénaturer les protéines de surface des biomatériaux. Un soin particulier a donc été porté à la stérilité des manipulations pendant la conception par la suite, ce qui a montré son efficacité chez les différents rats implantés. La stérilisation de ces implants a bien sûr été remise en place chez l'Homme pour les essais cliniques, dans le cadre du projet FAVOUR de l'équipe.

Enfin, l'infection pourrait également provenir d'une infection post-opératoire survenant au cours de la vie du marmouset. En effet, cela reste plausible car les marmousets se bagarraient régulièrement dans leurs cages et avaient souvent des petites plaies qui auraient pu s'infecter. L'infection aurait ensuite pu atteindre le cerveau par voie hématogène, et se concentrer autour du biomatériau implanté dans la cavité lésionnelle et dans le ventricule ipsi-lésionnel (empyème). Cette hypothèse est appuyée par le développement tardif des modifications comportementales chez TooSpeed notamment (environ 3 mois post-lésion).

Dans cette étude, l'infection intracérébrale constatée ne semble donc pas directement liée aux biomatériaux utilisés, les origines hématogène ou chirurgicale semblent être les plus plausibles. Les bactéries retrouvées seraient donc des commensales de la peau ou des muqueuses. Au vu des résultats de la coloration de Gram montrant la présence de coques Gram positives, on pourrait notamment penser au genre *Staphylococcus*, qui fait partie de la flore microbienne commensale des muqueuses du marmouset commun (Mansfield, Fox 2019; Hill, Turton, Bleby 1978).

Un autre point important à aborder dans le cadre de cette infection est son influence sur la reconstruction tissulaire. En effet, il a été conclu que l'implantation aurait tendance à augmenter le pourcentage de tissu en reconstruction chez les marmousets de cette étude. Or, parmi les marmousets implantés, ceux présentant le pourcentage de tissu en reconstruction le plus important sont 12F2 et TooSpeed, les

deux marmousets ayant développé (ou potentiellement développé) une infection bactérienne. En effet, leur pourcentage de tissu en reconstruction était d'environ 21-22%, tandis que celui des autres marmousets implantés était plutôt autour de 7-8%. Par ailleurs, chez ces marmousets, le tissu en reconstruction semblait rendu plus dense par la présence d'un matériel additionnel, notamment sous la forme d'une croûte contenant des cellules sanguines pour 12F2. Il faut donc faire la distinction entre du réel tissu néo-formé et un ajout de matériel numéraire ne servant pas à la réparation tissulaire. La question se pose donc de la réelle significativité de cette différence pour les pourcentages de reconstruction tissulaire. Or, il a été montré d'un point de vue morphologique et cellulaire que les caractéristiques de ce tissu en reconstruction sont similaires à celles des autres marmousets implants, car aucune différence majeure n'a été relevée suite au développement de l'infection en matière de composition de ce tissu. Seule une légère hausse du pourcentage de microglie ainsi qu'une baisse modérée de cellules souches neurales avaient été soulignées. Ainsi, même si ce tissu en reconstruction était constitué d'autres éléments anatomiques augmentant sa densité, les proportions de cellules qu'il abritait et étant le reflet des processus de réparation tissulaire restaient relativement similaires chez tous les marmousets implantés. Ainsi, la dénomination « tissu en reconstruction » reste vaste et englobe notamment ici tout tissu néo-formé après la lésion cérébrale ischémique.

Enfin, il est important de souligner que le marmouset implanté TooSpeed ayant développé une infection a présenté de légers troubles de l'équilibre 3 mois après l'implantation, puis des crises convulsives épileptiformes de plus en plus fréquentes vers la fin du protocole, à 9 mois, et est décédé avant sacrifice. 12F2 a également présenté des crises épileptiformes, de manière moins fréquente et moins prononcée, et qui n'ont pas impacté son pronostic vital. L'implication de l'infection bactérienne dans ces crises épileptiformes a été suspectée, mais elle a été remise en question par le caractère chronique et maîtrisé de l'infection. Une autre hypothèse serait que ces crises soient consécutives à la lésion cérébrale. Cela serait en effet en accord avec la clinique humaine, puisqu'environ 10% des patients victime d'un AVC développent des crises d'épilepsie précoces (1 à 2 semaines post-lésionnel) ou dans la première année suivant l'AVC (Lamy 2008). La sévérité des crises est notamment proportionnelle à celle de l'AVC, à la taille de l'infarctus ainsi qu'à une éventuelle transformation hémorragique. D'autres facteurs comme la sévérité du handicap moteur, une éventuelle récurrence ou des pathologies sous-jacentes peuvent entrer en jeu (Lamy 2008). L'origine de ces crises est différente en fonction du moment de leur survenue.

Des crises précoces seront plutôt liées à la physiopathologie de l'AVC (glutamate et excitotoxicité, dépolarisation neuronale par accumulation intracellulaire de calcium et de sodium), tandis que les crises tardives seraient plutôt liées à une organisation « épileptogène » de la zone cicatricielle post-AVC (propriétés des membranes, neurotransmetteurs, connexions neuronales pathologiques, etc.) (Silverman, Restrepo, Mathews 2002; Lamy 2008). En phase tardive, ces crises peuvent donc être attribuées aux phénomènes de plasticité mal-adaptative qui peuvent se mettre en place après une lésion cérébrale aiguë. Il est décrit qu'en l'absence de traitement, les symptômes s'aggravent progressivement avec le temps et limitent considérablement la récupération fonctionnelle (Jang 2013; Takeuchi, Izumi 2012). Cela correspond à ce qui a été observé chez TooSpeed, avec une baisse des performances motrices et de la participation aux tests comportementaux avec le temps, ainsi que l'aggravation des crises épileptiformes ayant mené à son décès.

3. Dichotomisation cellules néo-formées et résidentes

Un point important à considérer dans cette étude est aussi le fait que bien que les différents types cellulaires aient été mis en évidence et quantifiés dans les zones d'intérêt, une dichotomisation plus prononcée serait nécessaire pour approfondir la caractérisation de la reconstruction tissulaire. En effet, sur les différentes populations cellulaires mises en évidence notamment dans le tissu en reconstruction, mais aussi dans l'espace péri-lésionnel, il pourrait être intéressant notamment de parvenir à différencier les cellules néo-formées, migrantes, et les cellules qui étaient déjà présentes et qui se sont seulement réorganisées. Une solution pour une prochaine étude serait l'injection *ante mortem* et la détection immunohistochimique de 5-bromo-2'-désoxyuridine (BrdU). Il s'agit d'un analogue de la thymidine qui s'incorpore de manière durable à l'ADN des cellules en réplication (phase S de la mitose). Il permet ainsi la mise en évidence des cellules en prolifération par immunofluorescence et peut être combiné à d'autres anticorps pour l'identification des types cellulaires (Cameron 2006). Cela permettrait donc de mettre en évidence les cellules néo-formées. Un autre marqueur de prolifération possible est la protéine nucléaire Ki-67, utilisée pour mettre en évidence les cellules en division. Elle a notamment été identifiée dans la microglie en division suite à son activation (Jurga, Paleczna, Kuter 2020).

Par ailleurs, la possibilité de l'utilisation d'un marquage doublecortine (DCX) – protéine impliquée dans la stabilisation des microtubules - pour l'identification des neurones migrants post-mitotiques, et d'un marquage Nestine - protéine des

filaments intermédiaires de type VI - pour l'identification plus précise des cellules souches neuroépithéliales, a déjà été présentée précédemment. Cela nécessite un travail en amont pour la recherche d'anticorps spécifiques utilisables chez le marmouset, ainsi que des bonnes dilutions. Il en va de même pour la recherche d'un marqueur des oligodendrocytes. Pour aller plus loin, il pourrait également être intéressant de faire la dichotomie entre la microglie activée M1, pro-inflammatoire et neurotoxique, et la microglie M2, anti-inflammatoire et neuroprotectrice (Colonna, Butovsky 2017). Cela permettrait d'identifier la part de microglie réellement impliquée dans la réparation des tissus lésés. L'identification du phénotype de microglie peut se faire par l'utilisation de marqueurs immunofluorescents des différents récepteurs membranaires. Un nombre considérable de marqueurs existent, mais les plus communément utilisés sont : CD68, CD86, CD14, CD16, CD32, CD40 (M1) et CD206 et CD163 (M2) (Jurga, Paleczna, Kuter 2020). La même chose pourrait être envisagée pour les astrocytes par la mise en évidence des astrocytes A1 pro-inflammatoires et neurotoxiques (marqueur C3) et A2 anti-inflammatoires et neuro-protecteurs (marqueurs S100a10 et PTX3) (Fan, Huo 2021).

Ces différents marquages pourront être envisagés dans une étude future, mais n'ont pas pu être réalisés ici par manque d'anticorps spécifiques et utilisables chez le marmouset à disposition. Un travail important devra donc être réalisé en amont de l'utilisation de ces marqueurs pour sélectionner les anticorps et les dilutions adaptées.

C. Retour sur l'ensemble du projet – Implants 2D en silicone et lésion cérébrale aiguë chez le marmouset

Le projet global dans lequel cette étude prenait part visait à étudier l'impact de l'implantation de biomatériaux en PDMS sur la récupération fonctionnelle et la reconstruction tissulaire après une lésion cérébrale aiguë induite via un modèle d'injection intracorticale de malonate chez le marmouset commun.

On rappelle que ce projet a montré pour la première fois la faisabilité d'induire une lésion cérébrale focale chez le PNH par l'injection intra-corticale de malonate dans le cortex moteur primaire du marmouset commun. Bien que ce modèle ne prenne pas en compte la composante vasculaire, il permet de mimer parfaitement les conséquences de l'AVC ischémique dans les régions cérébrales irriguées par l'ACM chez le marmouset (Le Friec et al. 2021), ce qui en fait un modèle préclinique d'AVC pertinent pour évaluer de nouvelles stratégies thérapeutiques. L'injection de malonate a en effet

montré plusieurs avantages par rapport aux autres modèles disponibles comme (1) la possibilité de cibler une zone précise du cerveau, (2) la reproductibilité de la lésion induite, (3) une procédure chirurgicale simple, rapide, peu invasive et fiable (absence de mortalité associée), (4) l'induction de déficits moteurs durables et mesurables. Les lésions induites ciblaient le cortex moteur primaire du membre thoracique et une dégénérescence du FCS sous-jacent a été mise en évidence par analyses IRM et histologiques. En effet, une infiltration prononcée de la capsule interne par des astrocytes et de la microglie a été mise en évidence et persistait même 1 an après l'induction de la lésion cérébrale. Des modifications histologiques d'autres faisceaux non directement connectés à la lésion ont aussi été observés, (faisceau lenticulaire, passant dans la capsule interne). Par ailleurs, une certaine variabilité du volume lésionnel a pu être constaté avec ce modèle, mais la totalité de la zone du cortex moteur primaire correspondant au membre thoracique de tous les marmousets du projet a bien été lésé.

Par ailleurs, la stratégie thérapeutique testée dans ce projet est celle de l'implantation de biomatériaux 2D biocompatibles en PDMS directement dans la cavité lésionnelle. Ce projet fait suite aux travaux précédemment réalisés sur la conception de ces implants avec la formation de microstructures pour optimiser la croissance des neurites (Bédier et al. 2012), ainsi que leur ensemencement par des CSN humaines avant greffe intracérébrale (neuro-implants) chez le rat 7 jours post-lésion corticale induite par le malonate (Davoust et al. 2017 ; L. Vaysse et al. 2015). Ces précédentes études réalisées dans l'équipe ont montré que les implants seuls étaient sûrs et bien tolérés, et la greffe des neuro-implants a permis une amélioration des performances motrices chez le rat, avec une récupération de la force de préhension, sans amélioration de la dextérité (Laurence Vaysse et al. 2015). Les cellules greffées exprimaient des marqueurs neuronaux. Par ailleurs, aucune augmentation de l'inflammation n'avait été observée dans ces précédentes études chez le rat, et les implants en PDMS avaient également permis la réduction de l'épaisseur gliale et l'accrochage de cellules de l'hôte chez le rat. Ainsi, ces résultats prometteurs ainsi que les avantages connus du PDMS (haute biocompatibilité, coût réduit, production rapide) ont permis le transfert des tests chez le marmouset, PNH.

Les thèses de Boris Demain (2015) et Alice LeFric (2020) ont réalisé les phases *ante mortem* du projet, et une partie des phases *post mortem*. Leur but était principalement d'étudier la récupération fonctionnelle et l'évolution lésionnelle suite à

l'implantation. Avec les suivis IRM, il a été mis en évidence que la diminution du volume lésionnel était similaire entre les marmousets implants et lésés (voir **Annexe 3**). Il est à noter que l'IRM 3T en particulier n'avait pas un contraste et une résolution spatiale suffisante pour distinguer le tissu en reconstruction. Ce dernier était plus facilement identifiable sur l'IRM à 7T. Par ailleurs, aucune différence n'avait été mise en évidence entre les deux groupes concernant l'intégrité de la capsule interne des marmousets, ce qui suggérait que l'implantation ne permettait pas à elle seule de prévenir les lésions secondaires de la matière blanche. En outre, concernant l'étude des performances motrices, les performances du bras ipsi-lésionnel avaient été impactées par la lésion à 48h pour les animaux ayant les lésions les plus volumineuses, mais étaient rentrées dans l'ordre environ 1 semaine après. Une des hypothèses avancées pour expliquer ce déficit fonctionnel serait celle de la destruction du FCS antérieur non croisé (10,7% des neurones moteurs ne décussent pas chez le marmouset (Kondo et al. 2015)), et le rétablissement rapide pourrait s'expliquer par la plasticité au niveau de la moelle spinale, qui mettrait environ 2 semaines pour être effective. Concernant les performances motrices et sensibles du bras contro-lésionnel, elles avaient drastiquement chuté chez tous les marmousets, puis une lente cinétique de récupération fonctionnelle s'était mise en place chez tous les marmousets à partir d'une semaine post-lésion et a été évaluée jusqu'à 12 mois (voir **Annexe 2**). Globalement, aucune différence significative n'avait été observée entre les marmousets implantés et lésés sur cette cinétique de récupération, et à 12 mois, la récupération fonctionnelle était loin d'être complète. Il a donc été conclu que l'implantation de biomatériaux en PDMS ne permettait pas à elle-seule une meilleure récupération fonctionnelle chez le marmouset. Il faut cependant noter qu'une baisse de la motivation et de la participation aux tests comportementaux en post-lésionnel et sur le long terme a été objectivée chez tous les marmousets de l'étude.

L'étude présentée dans ce manuscrit s'est consacrée à la caractérisation de la reconstruction tissulaire de certains marmousets de l'étude, de manière à déterminer l'impact de l'implantation des biomatériaux en PDMS sur la réparation des tissus lésés. Il a été confirmé au vu des résultats obtenus que l'implantation intracérébrale à long terme de ces biomatériaux ne perturbait pas les mécanismes de neuro-, glio- et angiogenèse, mais qu'elle avait plutôt tendance à faciliter la migration des cellules reconstructrices, en particulier des neurones matures et immatures et des cellules souches neurales dans la cavité lésionnelle. Dans la thèse d'Alice LeFric, l'étude par immunofluorescence des implants en PDMS retirés avant la coupe chez les

marmousets du projet allaient également dans ce sens : quelques neurones immatures et astrocytes avaient été visualisés par immunofluorescence (**Annexes 13 et 14**). Par ailleurs, cette étude a également permis de montrer que ces implants favoriseraient la reconstruction tissulaire, avec un pourcentage de tissu en reconstruction qui aurait tendance à être plus important chez les marmousets implantés. Enfin, il a été également démontré dans cette étude que l'implantation des biomatériaux en PDMS était bien tolérée chez les marmousets de l'étude. En effet, ces implants n'ont pas entraîné d'exacerbation de l'inflammation, et aucun phénomène d'encapsulation et de rejet des biomatériaux n'a été observé. L'encapsulation est une réponse à un corps étranger qui entraîne une fibrose, une gliose et une inflammation chronique, ce qui a déjà été rapporté dans certaines études d'implantation chronique intracérébrale (Prodanov, Delbeke 2016).

Si on regarde le projet dans sa globalité, on peut en conclure que la greffe intracérébrale d'implants 2D en PDMS est sûre et bien tolérée chez le marmouset, sans effets secondaires notables. Par ailleurs, ces implants ne perturberaient pas les processus de réparation endogène et auraient plutôt un impact positif sur la reconstruction tissulaire en facilitant la migration des cellules de l'hôte jusqu'à la cavité lésionnelle et en favorisant la formation de néo-tissus à long terme. Aussi, bien qu'ils n'ont pas permis d'amélioration de la récupération fonctionnelle, comme c'était le cas chez le rat, leur impact direct sur les tissus lésés est prometteur chez le marmouset, et la récupération fonctionnelle peut être lente, comme c'est le cas chez l'Homme. En effet, chez l'Homme, on sait que les résultats sur la récupération fonctionnelle et le retour d'une autonomie motrice sont très patients et lésions dépendants, et qu'il peut s'écouler des années avant d'observer une réelle amélioration (Yelnik 2022; Duncan, Min Lai, Keighley 2000). L'étude de la récupération motrice sur une période supérieure aux 12 mois choisis pour le marmouset pourrait donc être envisagée. Il faut aussi garder à l'esprit que l'étude réalisée chez le rat testait l'utilisation des neuro-implants en PDMS, et non des implants seuls, ce qui peut également participer à expliquer les différences de récupération motrice. Par ailleurs, l'installation de l'IRM 7T et la mise en place de l'IRM fonctionnelle a permis d'étudier les répercussions cérébrales de l'exécution de mouvements passifs des membres sur un marmouset, TooSpeed, en fin de protocole, ce qui a suggéré des résultats prometteurs quant à la fonctionnalité des tissus en cours de reconstruction au sein de la lésion (**Annexe 4**). C'est donc un bon argument dans une récupération fonctionnelle potentielle sur une période un peu plus longue chez le marmouset.

Les différentes limites abordées précédemment dans cette discussion concernant notamment la taille réduite des effectifs de l'étude ainsi que la présence d'une infection chez au moins un des marmousets implantés de l'étude, la non caractérisation de l'ensemble des populations cellulaires ainsi que la participation sélective de certains marmousets aux tests comportementaux nous poussent cependant à nuancer ces résultats. Ces derniers constituent donc des résultats préliminaires et de nombreuses perspectives restent encore en suspens pour l'avenir.

D. Perspectives futures

Un certain nombre d'éléments sont à envisager pour le futur, et de nombreuses perspectives sont possibles. Tout d'abord, il serait intéressant de poursuivre ce travail mené sur les implants 2D en PDMS chez le marmouset en augmentant la taille des effectifs de chaque groupe, notamment des sujets implantés, de manière à obtenir des résultats plus précis et plus représentatifs et généralisables. Par ailleurs, comme discuté précédemment, la réalisation de nouveaux marquages pourrait être envisagée, de manière à appréhender de manière plus précise encore les modalités de reconstruction des tissus lésés, notamment en présence de biomatériaux.

Par la suite, une autre étude avec un nouvel effectif de marmousets pourra être menée pour étudier l'effet de la greffe des implants 2D en PDMS ensemencés de cellules souches neurales ou d'une source de cellules souches autologues, dans la continuité de ce qui a déjà été réalisé chez le rat dans l'équipe (L. Vaysse et al. 2015; Davoust et al. 2017). Les résultats de l'ensemble de ce projet sur les implants 2D chez le marmouset ont confirmé que l'implantation chronique de ce biomatériau ne causait pas d'effets secondaires et était bien tolérée chez cette espèce, ce qui constitue un contrôle important et un bon argument pour envisager par la suite une co-transplantation de ces implants avec des cellules souches chez le marmouset.

Par ailleurs, ces implants 2D en silicone semblent constituer un axe thérapeutique prometteur dans la prise en charge chronique de l'AVC ischémique, car au vu des résultats antérieurs présentés chez le rat et chez le marmouset, des essais cliniques sont en cours pour une utilisation thérapeutique clinique chez l'Homme.

Enfin, toujours dans le cadre de la conception d'implants guidants et de neuro-implants pour la prise en charge de l'AVC ischémique, une autre perspective future est à l'étude dans l'équipe iDREAM. En effet, parallèlement au travail mené sur les implants 2D en silicone, l'équipe a également mis au point une deuxième génération

d'implants guidants, en trois dimensions, créés et photopolymérisés par impression 3D (DLP, Digital Light Processing) pour être implantables et biodégradables. La dégradabilité de l'implant résoudrait une des limites de cette étude qui est que les implants en silicone non dégradables occupent une place non-négligeable dans la cavité lésionnelle, qui pourrait être remplacée par du tissu reconstruit. Une étude comparant plusieurs candidats potentiels pour la conception de ces implants montre des biomatériaux avec une biocompatibilité acceptable pour le cerveau : ils permettent la création d'une couche gliale permissive, tout en induisant une néovascularisation et en attirant des progéniteurs neuronaux sur le site lésionnel, après implantation chez des rats cérébrolésés (Clauzel et al. 2024). Ces biomatériaux apparaissent donc comme des candidats prometteurs pour la conception de ces implants en 3D, et à terme, l'élaboration de neuro-implants. Ces implants sont actuellement à l'étude dans l'équipe, sur des populations de rats.

Ainsi, alors que le développement de nouvelles thérapies reste compliqué dans la recherche sur les AVC ischémiques, il existe encore de nombreuses voies de traitement qui peuvent être explorées plus en profondeur (Barthels, Das 2020). L'utilisation de biomatériaux à visée régénératrice comme dans cette étude, ou les thérapies combinées faisant intervenir la co-transplantation de cellules souches sur un biomatériau biocompatible en font notamment partie.

Conclusion générale

L'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) constitue une des lésions cérébrales aiguës les plus fréquentes et les plus importantes d'un point de vue socio-médical et économique. Il est caractérisé par l'apparition soudaine de déficits neurologiques focaux dans un territoire vasculaire, résultant de pathologies cérébrovasculaires sous-jacentes. Son impact sur la population est important : il représente la première cause de handicap physique acquis de l'adulte ainsi que la deuxième cause de mortalité mondiale. Le taux de survie reste élevé, mais les morbidités sont très souvent conséquentes, avec une grande majorité de répercussions motrices, sensorielles, sensitives, visuelles et cognitives persistantes sur le long terme. L'AVC ischémique représente 80% des AVC et résulte le plus souvent de l'occlusion d'une artère cérébrale par un caillot sanguin.

A ce jour, le seul traitement de référence disponible concerne la phase aiguë de l'AVC et consiste en une association de thrombolyse intraveineuse et de thrombectomie mécanique. En revanche, seule une minorité de patients peuvent réellement en bénéficier, notamment à cause de la très courte fenêtre thérapeutique : ce traitement doit être mis en place dans les 4h30 suivant l'AVC, mais ne garantit en rien l'absence de séquelles. Par ailleurs, aucun traitement réellement efficace n'a encore été validé pour la phase subaiguë à chronique. De nouvelles stratégies thérapeutiques doivent donc être développées et de nombreuses voies de traitement sont explorées à l'heure actuelle. L'une d'entre elles réside dans l'implantation de biomatériaux dans la cavité lésionnelle pour favoriser la réparation et la réorganisation des tissus lésés et permettre une meilleure récupération fonctionnelle. La co-transplantation de cellules souches sur ces biomatériaux représente aussi un axe prometteur de traitement.

Dans cette voie, la stratégie thérapeutique testée dans ce projet est celle de l'implantation de biomatériaux 2D biocompatibles microstructurés en PDMS directement dans la cavité lésionnelle de marmousets cérébrolésés, mis au point par l'équipe iDREAM du laboratoire ToNIC (Toulouse NeuroImaging Center) de l'Inserm. A notre connaissance, cette étude est la première à tester une stratégie d'implants régénératifs non combinés chez le primate non humain. Leur particularité est d'être attractifs pour les cellules de l'hôte ; ils ne nécessitent donc pas de co-transplantation

de cellules. En effet, chez le primate humain ou non-humain, la source de cellules pour une transplantation cellulaire sécuritaire n'est pour le moment pas identifiée. La co-transplantation de ces implants avec des cellules souches humaines chez le rat a montré des résultats prometteurs en matière de tolérance, de sureté et de récupération motrice, dans un modèle d'AVC ischémique par injection intracorticale de malonate, mis au point par l'équipe. Ces résultats ont ensuite mené au transfert des tests chez un primate non humain, le marmouset, *Callithrix jacchus*, selon le même modèle. La seule implantation des biomatériaux en PDMS a été testée chez les marmousets de ce projet. L'étude de l'évolution lésionnelle ainsi que de la récupération motrice a été réalisée antérieurement au travail présenté ici (thèses de Boris Demain (2015) et Alice LeFric (2020)) notamment par IRM et par la réalisation de tests comportementaux ainsi que d'analyses histologiques préliminaires. L'étude à l'origine de ce manuscrit se concentre quant à elle uniquement sur la caractérisation de la reconstruction tissulaire et l'étude de l'impact de ces implants en PDMS sur la neuro-, la glio- et l'angiogenèse locale. Pour ce faire, des analyses histologiques et en particulier d'immunofluorescence ont été réalisées sur les coupes de cerveaux de marmousets implantés ($n = 5$) et seulement lésés ($n = 5$).

L'ensemble des différentes études réalisées a permis de conclure que la greffe intracérébrale chronique d'implants 2D en PDMS est sûre et bien tolérée chez le marmouset, sans effets secondaires notables. Aussi, bien que les précédentes études n'aient pas réussi à mettre en évidence un impact de ces implants sur la récupération fonctionnelle post-lésionnelle par rapport au groupe lésé, l'étude présentée dans ce manuscrit a permis de souligner leur implication prometteuse dans les processus de reconstruction tissulaire et de plasticité cérébrale en phase chronique. En effet, les résultats de ce travail nous permettent de conclure que ces implants en PDMS n'entravent pas les processus de réparation endogène et auraient plutôt un impact positif sur la reconstruction tissulaire en facilitant la migration des cellules de l'hôte jusqu'à la cavité lésionnelle et en favorisant la formation de néo-tissus. Par ailleurs, ils n'entraînent pas d'exacerbation de l'inflammation et s'intègrent bien à l'environnement lésionnel sur le long terme.

Cependant, les principales limites de cette étude et notamment la taille de l'échantillon, ainsi que certains biais potentiels identifiés (infection, non caractérisation de l'ensemble des populations cellulaires, participation sélective des marmousets aux tests) nécessitent de la prudence dans l'interprétation des résultats. Toutefois, cette

étude reste pertinente car les potentiels biais identifiés n'auraient pas un poids décisif dans les conclusions présentées. Elle permet donc de montrer des résultats préliminaires prometteurs et de nombreuses perspectives restent encore en suspens pour l'avenir.

Tous ces résultats constituent donc une base pour des recherches futures, notamment pour une évaluation plus en profondeur de l'impact de ces implants 2D en PDMS sur le marmouset cérébrolé, potentiellement à plus long terme et sur des effectifs plus conséquents. Tout cela dans le but de continuer par la suite les essais cliniques chez l'Homme.

Références bibliographiques

ABBOTT, D. H. et HEARN, J. P., 1978. Physical, hormonal and behavioural aspects of sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *Journal of Reproduction and Fertility*. mai 1978. Vol. 53, n° 1, pp. 155-166. DOI 10.1530/jrf.0.0530155.

ABROUS, Djohar Nora, KOEHL, Muriel et LE MOAL, Michel, 2005. Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology. *Physiological Reviews*. avril 2005. Vol. 85, n° 2, pp. 523-569. DOI 10.1152/physrev.00055.2003.

ACCARDO, Angelo, CIRILLO, Carla, LIONNET, Sarah, VIEU, Christophe et LOUBINOX, Isabelle, 2019. Interfacing cells with microengineered scaffolds for neural tissue reconstruction. *Brain Research Bulletin*. octobre 2019. Vol. 152, pp. 202-211. DOI 10.1016/j.brainresbull.2019.07.020.

ADAMS, H. P., BENDIXEN, B. H., KAPPELLE, L. J., BILLER, J., LOVE, B. B., GORDON, D. L. et MARSH, E. E., 1993. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. janvier 1993. Vol. 24, n° 1, pp. 35-41. DOI 10.1161/01.str.24.1.35.

ALVAREZ-BUYLLA, Arturo et GARCÍA-VERDUGO, Jose Manuel, 2002. Neurogenesis in Adult Subventricular Zone. *The Journal of Neuroscience*. 1 février 2002. Vol. 22, n° 3, pp. 629-634. DOI 10.1523/JNEUROSCI.22-03-00629.2002.

AMARAL, D., 2006. The Anatomical Organization of the Central Nervous System. In : [en ligne]. 2006. [Consulté le 15 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Anatomical-Organization-of-the-Central-Nervous-Amaral/df0a196266258580c883e2c37e6a7228ce003034>

ANDRABI, Syed Suhail, PARVEZ, Suhel et TABASSUM, Heena, 2020. Ischemic stroke and mitochondria: mechanisms and targets. *Protoplasma* [en ligne]. 2020. Vol. 257, n° 2. [Consulté le 19 février 2025]. DOI 10.1007/s00709-019-01439-2. Disponible à l'adresse : <https://link.springer.com/epdf/10.1007/s00709-019-01439-2>

ARVIDSSON, Andreas, COLLIN, Tove, KIRIK, Deniz, KOKAIA, Zaal et LINDVALL, Olle, 2002. Neuronal replacement from endogenous precursors in the adult brain after stroke. *Nature Medicine*. septembre 2002. Vol. 8, n° 9, pp. 963-970. DOI 10.1038/nm747.

ASHWINI, C., SHUBHA, R. et JAYANTHI, K., 2008. Comparative anatomy of the circle of Willis in man, cow, sheep, goat, and pig. In : [en ligne]. 2008. [Consulté le 25 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/Comparative-anatomy-of-the-circle-of-Willis-in-man%2C-Ashwini-Shubha/1c3e4ea333b14a59bc9b232fc62dbf6409fd1a4b>

ASTRUP, J, SIESJÖ, B K et SYMON, L, 1981. Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*. novembre 1981. Vol. 12, n° 6, pp. 723-725. DOI 10.1161/01.STR.12.6.723.

AZEVEDO, Frederico A. C., CARVALHO, Ludmila R. B., GRINBERG, Lea T., FARFEL, José Marcelo, FERRETTI, Renata E. L., LEITE, Renata E. P., JACOB FILHO, Wilson, LENT, Roberto et HERCULANO-HOUZEL, Suzana, 2009. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *The Journal of Comparative Neurology*. 10 avril 2009. Vol. 513, n° 5, pp. 532-541. DOI 10.1002/cne.21974.

BAHNEY, Jami et VON BARTHELD, Christopher S., 2018. The Cellular Composition and Glia–Neuron Ratio in the Spinal Cord of a Human and a Nonhuman Primate: Comparison With Other Species and Brain Regions. *The Anatomical Record*. 2018. Vol. 301, n° 4, pp. 697-710. DOI 10.1002/ar.23728.

BAIK, Sang-Ha, FANE, Mitchell, PARK, Joon Hyung, CHENG, Yi-Lin, YANG-WEI FANN, David, YUN, Ui Jeong, CHOI, Yuri, PARK, Jong-Sung, CHAI, Bing Han, PARK, Jin Su, BACK, Seung Hyun, JEONG, Jae In, JANG, Ye Jin, BAHN, Gahee, LEE, Joo-Yong, LI, Yu-I, SOBEY, Christopher G., UCHIDA, Takafumi, PARK, Jae Hyung, KIM, Hong Tae, TANG, Sung-Chun, ARUMUGAM, Thiruma V. et JO, Dong-Gyu, 2015. Pin1 promotes neuronal death in stroke by stabilizing Notch intracellular domain. *Annals of Neurology*. 2015. Vol. 77, n° 3, pp. 504-516. DOI 10.1002/ana.24347.

BAKER, Emily W., PLATT, Simon R., LAU, Vivian W., GRACE, Harrison E., HOLMES, Shannon P., WANG, Liya, DUBERSTEIN, Kylee Jo, HOWERTH, Elizabeth W., KINDER, Holly A., STICE, Steve L., HESS, David C., MAO, Hui et WEST, Franklin D., 2017. Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem Cell Therapy Enhances Recovery in an Ischemic Stroke Pig Model. *Scientific Reports*. 30 août 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 10075. DOI 10.1038/s41598-017-10406-x.

BALZEAU, Julien, 2013. Use of intermediate filament peptides for antitumor effects and for targeting glioma cells. [en ligne]. 9 janvier 2013. [Consulté le 22 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://policycommons.net/artifacts/15967065/use-of-intermediate-filament-peptides-for-antitumor-effects-and-for-targeting-glioma-cells/16857924/>

BARROS-MIÑONES, Lucía, MARTÍN-DE-SAAVEDRA, Dolores, PEREZ-ALVAREZ, Sergio, OREJANA, Lourdes, SUQUÍA, Verónica, GOÑI-ALLO, Beatriz, HERVIAS, Isabel, LÓPEZ, Manuela G., JORDAN, Joaquin, AGUIRRE, Norberto et PUERTA, Elena, 2013. Inhibition of calpain-regulated p35/cdk5 plays a central role in sildenafil-induced protection against chemical hypoxia produced by malonate. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 1 juin 2013. Vol. 1832, n° 6, pp. 705-717. DOI 10.1016/j.bbadis.2013.02.002.

BARTHELDS, Derek et DAS, Hiranmoy, 2020. Current advances in ischemic stroke research and therapies. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*. 1 avril 2020. Vol. 1866, n° 4, pp. 165260. DOI 10.1016/j.bbadis.2018.09.012.

BÉDUE, Amélie, VIEU, Christophe, ARNAUDUC, Florent, SOL, Jean-Christophe, LOUBINOUX, Isabelle et VAYSSE, Laurence, 2012. Engineering of adult human neural stem cells differentiation through surface micropatterning. *Biomaterials*. 1 janvier 2012. Vol. 33, n° 2, pp. 504-514. DOI 10.1016/j.biomaterials.2011.09.073.

BERNHARD, W. et VIRON, Annie, 1971. IMPROVED TECHNIQUES FOR THE PREPARATION OF ULTRATHIN FROZEN SECTIONS. *Journal of Cell Biology*. 1 juin 1971. Vol. 49, n° 3, pp. 731-746. DOI 10.1083/jcb.49.3.731.

BERNHARDT, Julie, LANGHORNE, Peter, LINDLEY, Richard I., THRIFT, Amanda G., ELLERY, Fiona, COLLIER, Janice, CHURILOV, Leonid, MOODIE, Marjory, DEWEY, Helen et DONNAN, Geoffrey, 2015. Efficacy and safety of very early mobilisation within 24 h of stroke onset (AVERT): a randomised controlled trial. *Lancet*. 4 juillet 2015. Vol. 386, n° 9988, pp. 46-55. DOI 10.1016/S0140-6736(15)60690-0.

BHATTACHARJEE, Sagarika, KASHYAP, Rajan, ABUALAIT, Turki, ANNABEL CHEN, Shen-Hsing, YOO, Woo-Kyoung et BASHIR, Shahid, 2021. The Role of Primary Motor Cortex: More Than Movement Execution. *Journal of Motor Behavior*. 4 mars 2021. Vol. 53, n° 2, pp. 258-274. DOI 10.1080/00222895.2020.1738992.

BIBLE, Ellen, CHAU, David Y. S., ALEXANDER, Morgan R., PRICE, Jack, SHAKESHEFF, Kevin M. et MODO, Michel, 2009. The support of neural stem cells transplanted into stroke-induced brain cavities by PLGA particles. *Biomaterials*. 1 juin 2009. Vol. 30, n° 16, pp. 2985-2994. DOI 10.1016/j.biomaterials.2009.02.012.

BIHEL, Ebeline, PRO-SISTIAGA, Palma, LETOURNEUR, Annelise, TOUTAIN, Jerome, SAULNIER, Romaric, INSAUSTI, Ricardo, BERNAUDIN, Myriam, ROUSSEL, Simon et TOUZANI, Omar, 2010. Permanent or Transient Chronic Ischemic Stroke in the Non-Human Primate: Behavioral, Neuroimaging, Histological, and Immunohistochemical Investigations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1 février 2010. Vol. 30, n° 2, pp. 273-285. DOI 10.1038/jcbfm.2009.209.

BIRAN, Roy, MARTIN, David C. et TRESCO, Patrick A., 2005. Neuronal cell loss accompanies the brain tissue response to chronically implanted silicon microelectrode arrays. *Experimental Neurology*. 1 septembre 2005. Vol. 195, n° 1, pp. 115-126. DOI 10.1016/j.expneurol.2005.04.020.

BJUGSTAD, K. B., REDMOND, D. E., LAMPE, K. J., KERN, D. S., SLADEK, J. R. et MAHONEY, M. J., 2008. Biocompatibility of PEG-Based Hydrogels in Primate Brain. *Cell Transplantation*. 1 avril 2008. Vol. 17, n° 4, pp. 409-415. DOI 10.3727/096368908784423292.

BLASI, Francesco, WHALEN, Michael J et AYATA, Cenk, 2015. Lasting Pure-Motor Deficits after Focal Posterior Internal Capsule White-Matter Infarcts in Rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1 juin 2015. Vol. 35, n° 6, pp. 977-984. DOI 10.1038/jcbfm.2015.7.

BOESE, Austin C., LE, Quan-Son Eric, PHAM, Dylan, HAMBLIN, Milton H. et LEE, Jean-Pyo, 2018. Neural stem cell therapy for subacute and chronic ischemic stroke. *Stem Cell Research & Therapy*. 13 juin 2018. Vol. 9, n° 1, pp. 154. DOI 10.1186/s13287-018-0913-2.

BOGOUSSLAVSKY, J., VAN MELLE, G. et REGLI, F., 1988. The Lausanne Stroke Registry: analysis of 1,000 consecutive patients with first stroke. *Stroke*. septembre 1988. Vol. 19, n° 9, pp. 1083-1092. DOI 10.1161/01.str.19.9.1083.

BONCORAGLIO, Giorgio Battista, RANIERI, Michela, BERSANO, Anna, PARATI, Eugenio A. et GIOVANE, Cinzia Del, [sans date]. Stem cell transplantation for ischemic stroke - Boncoraglio, GB - 2019 | Cochrane Library. [en ligne]. [Consulté le 28 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD007231.pub3/full>

BONFANTI, Luca, 2013. The (Real) Neurogenic/Gliogenic Potential of the Postnatal and Adult Brain Parenchyma. *ISRN Neuroscience*. 6 février 2013. Vol. 2013, pp. 354136. DOI 10.1155/2013/354136.

BONFANTI, Luca et PERETTO, Paolo, 2011. Adult neurogenesis in mammals--a theme with many variations. *The European Journal of Neuroscience*. septembre 2011. Vol. 34, n° 6, pp. 930-950. DOI 10.1111/j.1460-9568.2011.07832.x.

BRADBURY, Elizabeth J. et CARTER, Lucy M., 2011. Manipulating the glial scar: chondroitinase ABC as a therapy for spinal cord injury. *Brain Research Bulletin*. 10 mars 2011. Vol. 84, n° 4-5, pp. 306-316. DOI 10.1016/j.brainresbull.2010.06.015.

BRADBURY, Elizabeth J., MOON, Lawrence D. F., POPAT, Reena J., KING, Von R., BENNETT, Gavin S., PATEL, Preena N., FAWCETT, James W. et MCMAHON, Stephen B., 2002. Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. *Nature*. avril 2002. Vol. 416, n° 6881, pp. 636-640. DOI 10.1038/416636a.

BRIÈRE, J.-J., FAVIER, J., GHOZZI, V. El., DJOUADI, F., BÉNIT, P., GIMENEZ, A. -P. et RUSTIN, P., 2005. Succinate dehydrogenase deficiency in human. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 1 octobre 2005. Vol. 62, n° 19, pp. 2317-2324. DOI 10.1007/s00018-005-5237-6.

BRODAL, Per, 2010. *The Central Nervous System*. Oxford University Press. ISBN 978-0-19-970104-9.

BUNK, Eva C., STELZER, Sandra, HERMANN, Sven, SCHÄFERS, Michael, SCHLATT, Stefan et SCHWAMBORN, Jens C., 2011. Cellular organization of adult neurogenesis in the Common Marmoset. *Aging Cell*. 2011. Vol. 10, n° 1, pp. 28-38. DOI 10.1111/j.1474-9726.2010.00639.x.

BURDA, Joshua E. et SOFRONIEW, Michael V., 2014. Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron*. 22 janvier 2014. Vol. 81, n° 2, pp. 229-248. DOI 10.1016/j.neuron.2013.12.034.

CAI, Bin et WANG, Ning, 2016. Large Animal Stroke Models vs. Rodent Stroke Models, Pros and Cons, and Combination? In : APPELEGATE, Richard L., CHEN, Gang, FENG, Hua et ZHANG, John H. (éd.), *Brain Edema XVI: Translate Basic Science into Clinical Practice* [en ligne]. Cham : Springer International Publishing. pp. 77-81. [Consulté le 24 février 2025]. ISBN 978-3-319-18497-5. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18497-5_13

CAMERON, Heather A., 2006. Quantitative analysis of in vivo cell proliferation. *Current Protocols in Neuroscience*. novembre 2006. Vol. Chapter 3, pp. Unit 3.9. DOI 10.1002/N0471142301.ns0309s37.

CAMPBELL, Bruce C. V., DE SILVA, Deidre A., MACLEOD, Malcolm R., COUTTS, Shelagh B., SCHWAMM, Lee H., DAVIS, Stephen M. et DONNAN, Geoffrey A., 2019. Ischaemic stroke. *Nature Reviews Disease Primers*. 10 octobre 2019. Vol. 5, n° 1, pp. 70. DOI 10.1038/s41572-019-0118-8.

CAMPBELL, Bruce C V, MA, Henry, RINGLEB, Peter A, PARSONS, Mark W, CHURILOV, Leonid, BENDSZUS, Martin, LEVI, Christopher R, HSU, Chung, KLEINIG, Timothy J, FATAR, Marc, LEYS, Didier, MOLINA, Carlos, WIJERATNE,

Tissa, CURTZE, Sami, DEWEY, Helen M, BARBER, P Alan, BUTCHER, Kenneth S, DE SILVA, Deidre A, BLADIN, Christopher F, YASSI, Nawaf, PFAFF, Johannes A R, SHARMA, Gagan, BIVARD, Andrew, DESMOND, Patricia M, SCHWAB, Stefan, SCHELLINGER, Peter D, YAN, Bernard, MITCHELL, Peter J, SERENA, Joaquín, TONI, Danilo, THIJS, Vincent, HACKE, Werner, DAVIS, Stephen M, DONNAN, Geoffrey A, DONNAN, Geoffrey A., DAVIS, Stephen M., MA, Henry, CAMPBELL, Bruce C.V., CHURILOV, Leonid, PARSONS, Mark W., YAN, Bernard, MITCHELL, Peter J., YASSI, Nawaf, SHARMA, Gagan, DESMOND, Patricia M., OXLEY, Thomas, WU, Teddy Y., SHAH, Darshan, ZHAO, Henry, RODRIGUES, Edrich, SALVARIS, Patrick, ALEMSEGED, Fana, NG, Felix, WILLIAMS, Cameron, NG, Jo-Lyn, TU, Hans T-H., MCDONALD, Amy, JACKSON, David, TSOLERIDIS, Jessica, MCCOY, Rachael, PESAVENTO, Lauren, WEIR, Louise, BIVARD, Andrew, KLEINIG, Timothy J., PATEL, S., HARVEY, J., MAHADEVAN, J., CHEONG, E., BALABANSKI, Anna, WATERS, Michael, DREW, Roy, CRANEFIELD, Jennifer, WIJERATNE, Tissa, MACKEY, Elizabeth, CELESTINO, Sherisse, LOW, Essie, DEWEY, Helen M., BLADIN, Christopher F., LOH, Poh Sien, CHOI, Philip M., COOTE, Skye, FROST, Tanya, HOGAN, K., DING, C., MCMODIE, S., ZHANG, W.W., KYNDT, Christopher, MOORE, A., ROSS, Z., LIU, J., MITEFF, Ferdinand, LEVI, Christopher R., ANG, Timothy, SPRATT, Neil, GARCIA-ESPERON, Carlos, KAAUWAI, Lara, PHAN, Thanh G., LY, John, SINGHAL, Shaloo, CLISSOLD, Benjamin, WONG, Kitty, KRAUSE, Martin, DAY, Susan, STURM, Jonathan, O'BRIAN, Bill, GRIMLEY, Rohan, THIJS, Vincent, SIMPSON, Marion, LEE-ARCHER, Matthew, BRODTMANN, Amy, COULTON, Bronwyn, YOUNG, Dennis, WONG, Andrew A., MULLER, Claire, FIELD, Deborah K., VALLAT, W., MAXWELL, Vanessa, BAILEY, Peter, SABET, Arman, MISHRA, Sachin, TAN, Meng, GEORGE, K., BARBER, P. Alan, ZHAO, L., MERETOJA, Atte, CURTZE, Sami, TATLISUMAK, Turgut, SIBOLT, G., TIAINEN, M., KOIVU, M., AARNIO, K., VIRTA, J., KASARI, O., EIROLA, S., SUN, M.C., CHEN, T.C., CHUANG, C.S., CHEN, Y.Y., LIN, C.M., HO, S.C., HSIAO, P.M., TSAI, C.H., HUANG, W.S., YANG, Y.W., HUANG, H.Y., WANG, W.C., LIU, C.H., LU, M.K., LU, C.H., KUNG, W.L., JIANG, S.K., WU, Y.H., HUANG, S.C., TSENG, C.H., TSENG, L.T., GUO, Y.C., LIN, D., HSU, C.T., KUAN, C.W., HSU, J.P., TSAI, H.T., SUZUKI, M., SUN, Y., CHEN, H.F., LU, C.J., LIN, C.H., HUANG, C.C., CHU, H.J., LEE, C.Y., CHANG, W.H., LO, Y.C., HSU, Y.T., CHEN, C.H., SUNG, P.S., YSAI, C.L., JENG, J.S., TANG, S.C., TSAI, L.K., YEH, S.J., LEE, Y.C., WANG, Y.T., CHUNG, T.C., HU, C.J., CHAN, L., CHIOU, Y.W., LIEN, L.M., YEH, H.L., YEH, J.H., CHEN, W.H., LAU, C.L., CHANG, A., LEE, I.Y., HUANG, M.Y., LEE, J.T., PENG, G.S., LIM, J.C., HSU, Y.D., LIN, C.C., CHENG, C.A., YEN, C.H., YANG, F.C., HSU, C.H., SUNG, Y.F., TSAI, C.K., TSAI, C.L., HSIAO, P.M., LEE, A., HANKEY, Graeme, BLACKER, David, GERRATY, Richard, CHEN, C-I., HSU, C-S., COWLEY, Elise, MCCOY, Rachael, SALLABERGER, Michele, SNOW, Barry, KOLBE, John, STARK, Richard, KING, John, MACDONNELL, Richard, ATTIA, John, D'ESTE, Catherine, BERNHARDT, Julie, CAREY, Leeanne, CADILHAC, Dominique, ANDERSON, Craig, HOWELLS, David, BARBER, A., CONNELLY, Alan, MACLEOD, Malcolm, O'COLLINS, Victoria, WILSON, W., MACAULAY, L., BENDSZUS, Martin, BLUHMKI, Erich, ESCHENFELDER, Christoph, HACKE, Werner, MOLINA, Carlos, LEYS, Didier, RINGLEB, Peter, SCHELLINGER, Peter, SCHWAB, Stefan, TONI, Danilo, WAHLGREN, Nils, WARDLAW, Joanna, OPPENHEIM, Catherine, LEES, Kennedy R., KASTE, Markku, VON KUMMER, Rüdiger, CHATELLIER, Gilles, LAAGE, Rico, NUÑEZ, Xavier, EHRENKRONA, Christina, SVENSON, Ann-Sofie, COVE, Lynda, NIEDERKORN, Kurt, GRUBER, Franz, KAPELLER, Peter, MIKULIK, Robert, MAS, Jean-Louis, BERROUSCHOT, Jörg, SOBESKY, Jan, KÖHRMANN, Martin, STEINER, Thorsten, KESSLER, Christof, FATAR, Marc, DZIEWAS, Rainer, POLI, Sven, ALTHAUS-KNAURER, Katharina, BOVI, Paolo, RODRIGUEZ, Alain L.,

ARENILLAS, Juan F., MUIR, Keith, VELTKAMP, Roland, DIXIT, Anand, MUDDEGOWDA, Girish, KALA, Lalit, DE SILVA, Deidre A., BUTCHER, Kenneth S., BYRNES, G., PEETERS, Andre, CHALK, J.B., FINK, John N., KIMBER, Thomas E., SCHULTZ, David, HAND, Peter J., FRAYNE, Judith, TRESS, Brian M., MCNEIL, John, BURNS, R., JOHNSTON, C. et WILLIAMS, M., 2019. Extending thrombolysis to 4·5–9 h and wake-up stroke using perfusion imaging: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *The Lancet*. juillet 2019. Vol. 394, n° 10193, pp. 139-147. DOI 10.1016/S0140-6736(19)31053-0.

CARMICHAEL, S. Thomas, 2005. Rodent Models of Focal Stroke: Size, Mechanism, and Purpose. *NeuroRx*. juillet 2005. Vol. 2, n° 3, pp. 396-409.

CARPENTER, Austin B., AHSAN, Hana, KONG, Adrian et REGUNATHAN, Anup, 2018. Understanding the Therapeutic Potential of Bone Marrow Stem Cell Therapy in Ischemic Stroke. *Georgetown Medical Review* [en ligne]. 30 mars 2018. Vol. 2, n° 1. [Consulté le 28 février 2025]. DOI 10.52504/001c.3417. Disponible à l'adresse : <https://gmr.scholasticahq.com/article/3417-understanding-the-therapeutic-potential-of-bone-marrow-stem-cell-therapy-in-ischemic-stroke>

CARRION, Ricardo et PATTERSON, Jean L, 2012. An animal model that reflects human disease: the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Current Opinion in Virology*. juin 2012. Vol. 2, n° 3, pp. 357-362. DOI 10.1016/j.coviro.2012.02.007.

CASTELLO, Juan Pablo, PASI, Marco, KUBISZEWSKI, Patryk, ABRAMSON, Jessica R., CHARIDIMOU, Andreas, KOURKOULIS, Christina, DIPUCCHIO, Zora, SCHWAB, Kristin, ANDERSON, Christopher D., GUROL, M. Edip, GREENBERG, Steven M., ROSAND, Jonathan, VISWANATHAN, Anand et BIFFI, Alessandro, 2022. Cerebral Small Vessel Disease and Depression among Intracerebral Hemorrhage Survivors. *Stroke*. février 2022. Vol. 53, n° 2, pp. 523-531. DOI 10.1161/STROKEAHA.121.035488.

CHALET, Lucie, BOUTELIER, Timothé, CHRISTEN, Thomas, RAGUENES, Dorian, DEBATISSE, Justine, EKER, Omer Faruk, BECKER, Guillaume, NIGHOGHOSSIAN, Norbert, CHO, Tae-Hee, CANET-SOULAS, Emmanuelle et MECHTOUFF, Laura, 2022. Clinical Imaging of the Penumbra in Ischemic Stroke: From the Concept to the Era of Mechanical Thrombectomy. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 9 mars 2022. Vol. 9, pp. 861913. DOI 10.3389/fcvm.2022.861913.

CHEN, Meifan et ZHENG, Binhai, 2014. Axon plasticity in the mammalian central nervous system after injury. *Trends in Neurosciences*. octobre 2014. Vol. 37, n° 10, pp. 583-593. DOI 10.1016/j.tins.2014.08.008.

CHEN, R., COHEN, L. G. et HALLETT, M., 2002. Nervous system reorganization following injury. *Neuroscience*. 2002. Vol. 111, n° 4, pp. 761-773. DOI 10.1016/s0306-4522(02)00025-8.

CHEN, Wei, SU, Gang, CHAI, Miao, AN, Yang, SONG, Jinyang et ZHANG, Zhenchang, 2025. Astrogliosis and glial scar in ischemic stroke - focused on mechanism and treatment. *Experimental Neurology*. 1 mars 2025. Vol. 385, pp. 115131. DOI 10.1016/j.expneurol.2024.115131.

CHOI, Dennis W., 1993. Chapter 9 NMDA receptors and AMPA/kainate receptors mediate parallel injury in cerebral cortical cultures subjected to oxygen-glucose

deprivation. In : KOGURE, K., HOSSMANN, K. -A. et SIESJÖ, B. K. (éd.), *Progress in Brain Research* [en ligne]. Elsevier. pp. 137-143. Neurobiology of Ischemic Brain Damage. [Consulté le 27 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007961230863263X>

CHOLLET, F., DIPIERO, V., WISE, R. J., BROOKS, D. J., DOLAN, R. J. et FRACKOWIAK, R. S., 1991. The functional anatomy of motor recovery after stroke in humans: a study with positron emission tomography. *Annals of Neurology*. janvier 1991. Vol. 29, n° 1, pp. 63-71. DOI 10.1002/ana.410290112.

CHUNG, Jong-Won, CHANG, Won Hyuk, BANG, Oh Young, MOON, Gyeong Joon, KIM, Suk Jae, KIM, Soo-Kyoung, LEE, Jin Soo, SOHN, Sung-Il, KIM, Yun-Hee, et FOR THE STARTING-2 COLLABORATORS, 2021. Efficacy and Safety of Intravenous Mesenchymal Stem Cells for Ischemic Stroke. *Neurology*. 16 février 2021. Vol. 96, n° 7, pp. e1012-e1023. DOI 10.1212/WNL.00000000000011440.

CIRILLO, Carla, BRIHMAT, Nabila, CASTEL-LACANAL, Evelyne, LE FRIEC, Alice, BARBIEUX-GUILLOT, Marianne, RAPOSO, Nicolas, PARIENTE, Jérémie, VIGUIER, Alain, SIMONETTA-MOREAU, Marion, ALBUCHER, Jean-François, OLIVOT, Jean-Marc, DESMOULIN, Franck, MARQUE, Philippe, CHOLLET, François et LOUBINOUX, Isabelle, 2020. Post-stroke remodeling processes in animal models and humans. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. janvier 2020. Vol. 40, n° 1, pp. 3-22. DOI 10.1177/0271678X19882788.

CIRILLO, Carla, LE FRIEC, Alice, FRISACH, Isabelle, DARMANA, Robert, ROBERT, Lorene, DESMOULIN, Franck et LOUBINOUX, Isabelle, 2018. Focal Malonate Injection Into the Internal Capsule of Rats as a Model of Lacunar Stroke. *Frontiers in Neurology* [en ligne]. 11 décembre 2018. Vol. 9. [Consulté le 27 février 2025]. DOI 10.3389/fneur.2018.01072. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/neurology/articles/10.3389/fneur.2018.01072/full>

CLARKE, Peter G. H., 1990. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanisms. *Anatomy and Embryology*. 1 mars 1990. Vol. 181, n° 3, pp. 195-213. DOI 10.1007/BF00174615.

CLAUZEL, Julien, COLITTI, Nina, COMBEAU, Maylis, LABRIJI, Wafae, ROBERT, Lorene, BRILHAULT, Adrien, CIRILLO, Carla, DESMOULIN, Franck, RAYMOND-LETRON, Isabelle et LOUBINOUX, Isabelle, 2024. In vivo biocompatibility assessment of 3D printed bioresorbable polymers for brain tissue regeneration. A feasibility study. *Regenerative Therapy*. juin 2024. Vol. 26, pp. 941-955. DOI 10.1016/j.reth.2024.10.004.

COHEN-SELA, Einat, TEITLBOIM, Shay, CHORNY, Michael, KOROUKHOV, Nickolay, DANENBERG, Haim D., GAO, Jianchuan et GOLOMB, Gershon, 2009. Single and Double Emulsion Manufacturing Techniques of an Amphiphilic Drug in PLGA Nanoparticles: Formulations of Mithramycin and Bioactivity. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1 avril 2009. Vol. 98, n° 4, pp. 1452-1462. DOI 10.1002/jps.21527.

COLONNA, Marco et BUTOVSKY, Oleg, 2017. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annual Review of*

Immunology. 26 avril 2017. Vol. 35, pp. 441-468. DOI 10.1146/annurev-immunol-051116-052358.

COOK, Douglas J., TEVES, Lucy et TYMIANSKI, Michael, 2012. A translational paradigm for the preclinical evaluation of the stroke neuroprotectant Tat-NR2B9c in gyrencephalic nonhuman primates. *Science Translational Medicine*. 3 octobre 2012. Vol. 4, n° 154, pp. 154ra133. DOI 10.1126/scitranslmed.3003824.

COOK, Douglas J. et TYMIANSKI, Michael, 2012. Nonhuman Primate Models of Stroke for Translational Neuroprotection Research. *Neurotherapeutics*. 1 avril 2012. Vol. 9, n° 2, pp. 371-379. DOI 10.1007/s13311-012-0115-z.

CORBETT, Dale, CARMICHAEL, S. Thomas, MURPHY, Timothy H., JONES, Theresa A., SCHWAB, Martin E., JOLKKONEN, Jukka, CLARKSON, Andrew N., DANCAUSE, Numa, WIELOCH, Tadeusz, JOHANSEN-BERG, Heidi, NILSSON, Michael, MCCULLOUGH, Louise D. et JOY, Mary T., 2017. Enhancing the alignment of the preclinical and clinical stroke recovery research pipeline: Consensus-based core recommendations from the Stroke Recovery and Rehabilitation Roundtable translational working group. *International Journal of Stroke: Official Journal of the International Stroke Society*. juillet 2017. Vol. 12, n° 5, pp. 462-471. DOI 10.1177/1747493017711814.

CORBETTA, Davide, SIRTORI, Valeria, CASTELLINI, Greta, MOJA, Lorenzo et GATTI, Roberto, 2015. Constraint-induced movement therapy for upper extremities in people with stroke. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 8 octobre 2015. Vol. 2015, n° 10, pp. CD004433. DOI 10.1002/14651858.CD004433.pub3.

COURTINE, Grégoire, BUNGE, Mary Bartlett, FAWCETT, James W., GROSSMAN, Robert G., KAAS, Jon H., LEMON, Roger, MAIER, Irin, MARTIN, John, NUDO, Randolph J., RAMON-CUETO, Almudena, ROUILLER, Eric M., SCHNELL, Lisa, WANNIER, Thierry, SCHWAB, Martin E. et EDGERTON, V. Reggie, 2007. Can experiments in nonhuman primates expedite the translation of treatments for spinal cord injury in humans? *Nature Medicine*. mai 2007. Vol. 13, n° 5, pp. 561-566. DOI 10.1038/nm1595.

CRAPO, Peter M., MEDBERRY, Christopher J., REING, Janet E., TOTTEY, Stephen, VAN DER MERWE, Yolandi, JONES, Kristen E. et BADYLAK, Stephen F., 2012. Biologic scaffolds composed of central nervous system extracellular matrix. *Biomaterials*. 1 mai 2012. Vol. 33, n° 13, pp. 3539-3547. DOI 10.1016/j.biomaterials.2012.01.044.

CROSS, Valerie L., ZHENG, Ying, WON CHOI, Nak, VERBRIDGE, Scott S., SUTERMASTER, Bryan A., BONASSAR, Lawrence J., FISCHBACH, Claudia et STROOCK, Abraham D., 2010. Dense type I collagen matrices that support cellular remodeling and microfabrication for studies of tumor angiogenesis and vasculogenesis *in vitro*. *Biomaterials*. 1 novembre 2010. Vol. 31, n° 33, pp. 8596-8607. DOI 10.1016/j.biomaterials.2010.07.072.

CUARTERO, María Isabel, GARCÍA-CULEBRAS, Alicia, TORRES-LÓPEZ, Cristina, MEDINA, Violeta, FRAGA, Enrique, VÁZQUEZ-REYES, Sandra, JAREÑO-FLORES, Tania, GARCÍA-SEGURA, Juan M., LIZASOAIN, Ignacio et MORO, María Ángeles, 2021. Post-stroke Neurogenesis: Friend or Foe? *Frontiers in Cell and Developmental Biology* [en ligne]. 23 mars 2021. Vol. 9. [Consulté le 22 février 2025].

DOI 10.3389/fcell.2021.657846. Disponible à l'adresse :
<https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2021.657846/full>

CUCULLO, Luca, HOSSAIN, Mohammed, PUVENNA, Vikram, MARCHI, Nicola et JANIGRO, Damir, 2011. The role of shear stress in Blood-Brain Barrier endothelial physiology. *BMC Neuroscience*. 11 mai 2011. Vol. 12, n° 1, pp. 40. DOI 10.1186/1471-2202-12-40.

CUI, Wei, LIU, Ran, JIN, Haiqiang, HUANG, Yining, LIU, Wenhong et HE, Maolin, 2020. The protective effect of polyethylene glycol-conjugated urokinase nanogels in rat models of ischemic stroke when administrated outside the usual time window. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 19 mars 2020. Vol. 523, n° 4, pp. 887-893. DOI 10.1016/j.bbrc.2020.01.032.

CUMMING, Toby B., THRIFT, Amanda G., COLLIER, Janice M., CHURILOV, Leonid, DEWEY, Helen M., DONNAN, Geoffrey A. et BERNHARDT, Julie, 2011. Very Early Mobilization After Stroke Fast-Tracks Return to Walking. *Stroke*. janvier 2011. Vol. 42, n° 1, pp. 153-158. DOI 10.1161/STROKEAHA.110.594598.

CURTIS, Maurice A., KAM, Monica, NANNMARK, Ulf, ANDERSON, Michelle F., AXELL, Mathilda Zetterstrom, WIKKELSO, Carsten, HOLTÅS, Stig, VAN ROON-MOM, Willeke M. C., BJÖRK-ERIKSSON, Thomas, NORDBORG, Claes, FRISÉN, Jonas, DRAGUNOW, Michael, FAULL, Richard L. M. et ERIKSSON, Peter S., 2007. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science (New York, N.Y.)*. 2 mars 2007. Vol. 315, n° 5816, pp. 1243-1249. DOI 10.1126/science.1136281.

DAMIANI, Daniel, NASCIMENTO, Anna Maria et PEREIRA, Leticia Kühl, 2017. Cortical Brain Functions – The Brodmann Legacy in the 21st Century. *Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery*. 30 janvier 2017. Vol. 39, pp. 261-270. DOI 10.1055/s-0036-1597573.

D'ARCEUIL, Helen E., DUGGAN, Michael, HE, Julian, PRYOR, Johnny et DE CRESPIGNY, Alex, 2006. Middle cerebral artery occlusion in *Macaca fascicularis*: acute and chronic stroke evolution. *Journal of Medical Primatology*. avril 2006. Vol. 35, n° 2, pp. 78-86. DOI 10.1111/j.1600-0684.2006.00147.x.

DARLING, Warren G., MORECRAFT, Robert J., ROTELLA, Diane L., PIZZIMENTI, Marc A., GE, Jizhi, STILWELL-MORECRAFT, Kimberly S., ZHANG, Hongyu, SOLIMAN, Hesham, SEECHARAN, Dave, EDWARDS, Ian, MCNEAL, David, NUDO, Randolph J. et CHENEY, Paul, 2014. Recovery of precision grasping after motor cortex lesion does not require forced use of the impaired hand in *macaca mulatta*. *Experimental Brain Research*. 1 décembre 2014. Vol. 232, n° 12, pp. 3929-3938. DOI 10.1007/s00221-014-4068-9.

DAVIES, Stephen J. A., GOUCHER, David R., DOLLER, Catherine et SILVER, Jerry, 1999. Robust Regeneration of Adult Sensory Axons in Degenerating White Matter of the Adult Rat Spinal Cord. *Journal of Neuroscience*. 15 juillet 1999. Vol. 19, n° 14, pp. 5810-5822. DOI 10.1523/JNEUROSCI.19-14-05810.1999.

DAVIET, J. C., COMPAGNAT, M., BERNIKIER, D. et SALLE, J. -Y., 2022. Réadaptation après accident vasculaire cérébral : retour et maintien à domicile, vie

quotidienne. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. 1 mai 2022. Vol. 206, n° 5, pp. 616-622. DOI 10.1016/j.banm.2022.02.015.

DAVOUST, Carole, PLAS, Benjamin, BÉDUE, Amélie, DEMAIN, Boris, SALABERT, Anne-Sophie, SOL, Jean Christophe, VIEU, Christophe, VAYSSE, Laurence et LOUBINOX, Isabelle, 2017. Regenerative potential of primary adult human neural stem cells on micropatterned bio-implants boosts motor recovery. *Stem Cell Research & Therapy*. décembre 2017. Vol. 8, n° 1, pp. 253. DOI 10.1186/s13287-017-0702-3.

DE CRESPIGNY, Alex J., D'ARCEUIL, Helen E., MAYNARD, Kenneth I., HE, Julian, MCAULIFFE, Dan, NORBASH, Alexander, SEHGAL, Prabhat K., HAMBERG, Leena, HUNTER, George, BUDZIK, Ronald F., PUTMAN, Christopher M. et GONZALEZ, R. Gilberto, 2005. Acute studies of a new primate model of reversible middle cerebral artery occlusion. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 1 mars 2005. Vol. 14, n° 2, pp. 80-87. DOI 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2004.12.005.

DEL ZOPPO, G. J., COPELAND, B. R., HARKER, L. A., WALTZ, T. A., ZYROFF, J., HANSON, S. R. et BATTENBERG, E., 1986. Experimental acute thrombotic stroke in baboons. *Stroke*. 1986. Vol. 17, n° 6, pp. 1254-1265. DOI 10.1161/01.str.17.6.1254.

DI IEVA, Antonio, FATHALLA, Hussein, CUSIMANO, Michael D. et TSCHABITSCHER, Manfred, 2015. The indusium griseum and the longitudinal striae of the corpus callosum. *Cortex*. janvier 2015. Vol. 62, pp. 34-40. DOI 10.1016/j.cortex.2014.06.016.

DING, Jia Min, ZHONG, Hui Min, HUANG, Kuan, ZENG, Wen et CHEN, Li, 2025. Apoptosis and long non-coding RNAs: Focus on their roles in ischemic stroke. *Brain Research*. 15 février 2025. Vol. 1849, pp. 149346. DOI 10.1016/j.brainres.2024.149346.

DIRNAGL, Ulrich, IADECOLA, Costantino et MOSKOWITZ, Michael A., 1999. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends in Neurosciences*. septembre 1999. Vol. 22, n° 9, pp. 391-397. DOI 10.1016/S0166-2236(99)01401-0.

DRURY, Jeanie L. et MOONEY, David J., 2003. Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*. 1 novembre 2003. Vol. 24, n° 24, pp. 4337-4351. DOI 10.1016/S0142-9612(03)00340-5.

DUAN, Chun-Ling, LIU, Chong-Wei, SHEN, Shu-Wen, YU, Zhang, MO, Jia-Lin, CHEN, Xian-Hua et SUN, Feng-Yan, 2015. Striatal astrocytes transdifferentiate into functional mature neurons following ischemic brain injury. *Glia*. septembre 2015. Vol. 63, n° 9, pp. 1660-1670. DOI 10.1002/glia.22837.

DUNCAN, Pamela W, MIN LAI, Sue et KEIGHLEY, John, 2000. Defining post-stroke recovery: implications for design and interpretation of drug trials. *Neuropharmacology*. 1 avril 2000. Vol. 39, n° 5, pp. 835-841. DOI 10.1016/S0028-3908(00)00003-4.

DURUKAN, Aysan et TATLISUMAK, Turgut, 2007. Acute ischemic stroke: Overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1 mai 2007. Vol. 87, n° 1, pp. 179-197. DOI 10.1016/j.pbb.2007.04.015.

DY, Wong, JC, Leveque, H, Brumblay, PH, Krebsbach, SJ, Hollister et F, Lamarca, 2008. Macro-architectures in spinal cord scaffold implants influence regeneration. *Journal of neurotrauma* [en ligne]. août 2008. Vol. 25, n° 8. [Consulté le 2 mars 2025]. DOI 10.1089/neu.2007.0473. Disponible à l'adresse : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18721107/>

ELIADES, Steven J. et WANG, Xiaoqin, 2008. Neural substrates of vocalization feedback monitoring in primate auditory cortex. *Nature*. 19 juin 2008. Vol. 453, n° 7198, pp. 1102-1106. DOI 10.1038/nature06910.

ELLIS, Pam, FAGAN, B. Matthew, MAGNESS, Scott T., HUTTON, Scott, TARANOVA, Olena, HAYASHI, Shigemi, MCMAHON, Andrew, RAO, Mahendra et PEVNY, Larysa, 2004. SOX2, a persistent marker for multipotential neural stem cells derived from embryonic stem cells, the embryo or the adult. *Developmental Neuroscience*. 2004. Vol. 26, n° 2-4, pp. 148-165. DOI 10.1159/000082134.

ESTEBAN-GARCIA, Noelia, NOMBELA, Cristina, GARROSA, Javier, RASCÓN-RAMIREZ, Fernando J., BARCIA, Juan Antonio et SÁNCHEZ-SÁNCHEZ-ROJAS, Leyre, 2020. Neurorestoration Approach by Biomaterials in Ischemic Stroke. *Frontiers in Neuroscience* [en ligne]. 12 mai 2020. Vol. 14. [Consulté le 28 février 2025]. DOI 10.3389/fnins.2020.00431. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/neuroscience/articles/10.3389/fnins.2020.00431/full>

FAN, Jiahui, LI, Xiaoguang, YU, Xueying, LIU, Zhenqiu, JIANG, Yanfeng, FANG, Yibin, ZONG, Ming, SUO, Chen, MAN, Qihong et XIONG, Lize, 2023. Global Burden, Risk Factor Analysis, and Prediction Study of Ischemic Stroke, 1990–2030. *Neurology*. 11 juillet 2023. Vol. 101, n° 2, pp. e137-e150. DOI 10.1212/WNL.0000000000207387.

FAN, Yan-Ying et HUO, Jing, 2021. A1/A2 astrocytes in central nervous system injuries and diseases: Angels or devils? *Neurochemistry International*. septembre 2021. Vol. 148, pp. 105080. DOI 10.1016/j.neuint.2021.105080.

FAWCETT, James W et ASHER, Richard. A, 1999. The glial scar and central nervous system repair. *Brain Research Bulletin*. 1 août 1999. Vol. 49, n° 6, pp. 377-391. DOI 10.1016/S0361-9230(99)00072-6.

FEIGIN, Valery L, BRAININ, Michael, NORRVING, Bo, MARTINS, Sheila, SACCO, Ralph L, HACKE, Werner, FISHER, Marc, PANDIAN, Jeyaraj et LINDSAY, Patrice, 2022. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *International Journal of Stroke*. 1 janvier 2022. Vol. 17, n° 1, pp. 18-29. DOI 10.1177/17474930211065917.

FERNANDEZ-GOMEZ, Francisco J, GALINDO, Maria F, GÓMEZ-LÁZARO, Maria, YUSTE, Victor J, COMELLA, Joan X, AGUIRRE, Norberto et JORDÁN, Joaquín, 2005. 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.

FERNÁNDEZ-SERRA, Rocío, GALLEGO, Rebeca, LOZANO, Paloma et GONZÁLEZ-NIETO, Daniel, 2020. Hydrogels for neuroprotection and functional rewiring: a new era for brain engineering. *Neural Regeneration Research*. mai 2020. Vol. 15, n° 5, pp. 783. DOI 10.4103/1673-5374.268891.

FERRI, Anna L. M., CAVALLARO, Maurizio, BRAIDA, Daniela, DI CRISTOFANO, Antonello, CANTA, Annalisa, VEZZANI, Annamaria, OTTOLENGHI, Sergio, PANDOLFI, Pier Paolo, SALA, Mariaelvina, DEBIASI, Silvia et NICOLIS, Silvia K., 2004. Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development (Cambridge, England)*. août 2004. Vol. 131, n° 15, pp. 3805-3819. DOI 10.1242/dev.01204.

FESKE, Steven K., 2021. Ischemic Stroke. *The American Journal of Medicine*. décembre 2021. Vol. 134, n° 12, pp. 1457-1464. DOI 10.1016/j.amjmed.2021.07.027.

FISHER, Marc, FEUERSTEIN, Giora, HOWELLS, David W., HURN, Patricia D., KENT, Thomas A., SAVITZ, Sean I., LO, Eng H., et STAIR GROUP, 2009. 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.

FLURI, Felix, SCHUHMANN, Michael K et KLEINSCHNITZ, Christoph, 2015. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. *Drug Design, Development and Therapy*. 2 juillet 2015. Vol. 9, pp. 3445-3454. DOI 10.2147/DDDT.S56071.

FRAUENKNECHT, Katrin, DIEDERICH, Kai, LEUKEL, Petra, BAUER, Henrike, SCHÄBITZ, Wolf-Rüdiger, SOMMER, Clemens J. et MINNERUP, Jens, 2016. Functional Improvement after Photothrombotic Stroke in Rats Is Associated with Different Patterns of Dendritic Plasticity after G-CSF Treatment and G-CSF Treatment Combined with Concomitant or Sequential Constraint-Induced Movement Therapy. *PLoS ONE*. 11 janvier 2016. Vol. 11, n° 1, pp. e0146679. DOI 10.1371/journal.pone.0146679.

FREGOSI, Michela, CONTESTABILE, Alessandro, BADOUD, Simon, BORGOGNON, Simon, COTTET, Jérôme, BRUNET, Jean-François, BLOCH, Jocelyne, SCHWAB, Martin E. et ROUILLER, Eric M., 2018. Changes of motor corticobulbar projections following different lesion types affecting the central nervous system in adult macaque monkeys. *The European Journal of Neuroscience*. août 2018. Vol. 48, n° 4, pp. 2050-2070. DOI 10.1111/ejn.14074.

FREGOSI, Michela et ROUILLER, Eric M., 2017. Ipsilateral corticotectal projections from the primary, premotor and supplementary motor cortical areas in adult macaque monkeys: a quantitative anterograde tracing study. *The European journal of neuroscience*. octobre 2017. Vol. 46, n° 8, pp. 2406-2415. DOI 10.1111/ejn.13709.

FRERET, Thomas, BOUET, Valentine, TOUTAIN, Jérôme, SAULNIER, Romaric, PRO-SISTIAGA, Palma, BIHEL, Ebeline, MACKENZIE, Eric T, ROUSSEL, Simon, SCHUMANN-BARD, Pascale et TOUZANI, Omar, 2008. Intraluminal Thread Model of Focal Stroke in the Non-Human Primate. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1 avril 2008. Vol. 28, n° 4, pp. 786-796. DOI 10.1038/sj.jcbfm.9600575.

FREUDENBERG, Uwe, HERMANN, Andreas, WELZEL, Petra B., STIRL, Katja, SCHWARZ, Sigrid C., GRIMMER, Milauscha, ZIERIS, Andrea, PANYANUWAT, Woranan, ZSCHOCHÉ, Stefan, MEINHOLD, Dorit, STORCH, Alexander et WERNER, Carsten, 2009. A star-PEG–heparin hydrogel platform to aid cell replacement therapies for neurodegenerative diseases. *Biomaterials*. 1 octobre 2009. Vol. 30, n° 28, pp. 5049-5060. DOI 10.1016/j.biomaterials.2009.06.002.

FRIEDLI, Lucia, ROSENZWEIG, Ephron S., BARRAUD, Quentin, SCHUBERT, Martin, DOMINICI, Nadia, AWAI, Lea, NIELSON, Jessica L., MUSIENKO, Pavel, NOUT-LOMAS, Yvette, ZHONG, Hui, ZDUNOWSKI, Sharon, ROY, Roland R., STRAND, Sarah C., VAN DEN BRAND, Rubia, HAVTON, Leif A., BEATTIE, Michael S., BRESNAHAN, Jacqueline C., BÉZARD, Erwan, BLOCH, Jocelyne, EDGERTON, V. Reggie, FERGUSON, Adam R., CURT, Armin, TUSZYNSKI, Mark H. et COURTINE, Grégoire, 2015. Pronounced species divergence in corticospinal tract reorganization and functional recovery after lateralized spinal cord injury favors primates. *Science Translational Medicine*. 26 août 2015. Vol. 7, n° 302, pp. 302ra134. DOI 10.1126/scitranslmed.aac5811.

FROST, Shawn B., BARBAY, Scott, MUMERT, Michael L., STOWE, Ann M. et NUDO, Randolph J., 2006. An animal model of capsular infarct: Endothelin-1 injections in the rat. *Behavioural Brain Research*. 15 mai 2006. Vol. 169, n° 2, pp. 206-211. DOI 10.1016/j.bbr.2006.01.014.

GAO, Huanmin, LIU, Yaoquan, LU, Shaoping, XIANG, Bo et WANG, Chao, 2006. A Reversible Middle Cerebral Artery Occlusion Model Using Intraluminal Balloon Technique in Monkeys. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 10 septembre 2006. Vol. 15, n° 5, pp. 202-208. DOI 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2006.05.010.

GARNES, Manuel Pérez, 2015. *Structures based on semi-degradable biomaterials for neural regeneration in the central nervous system* [en ligne]. <http://purl.org/dc/dcmitype/Text>. Universitat Politècnica de València. [Consulté le 1 mars 2025]. Disponible à l'adresse : <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=100845>

GE, Woo-Ping, MIYAWAKI, Atsushi, GAGE, Fred H., JAN, Yuh Nung et JAN, Lily Yeh, 2012. Local generation of glia is a major astrocyte source in postnatal cortex. *Nature*. 28 mars 2012. Vol. 484, n° 7394, pp. 376-380. DOI 10.1038/nature10959.

GHUMAN, Harmanvir, MASSENSINI, Andre R., DONNELLY, Julia, KIM, Sung-Min, MEDBERRY, Christopher J., BADYLAK, Stephen F. et MODO, Michel, 2016. ECM hydrogel for the treatment of stroke: Characterization of the host cell infiltrate. *Biomaterials*. 1 juin 2016. Vol. 91, pp. 166-181. DOI 10.1016/j.biomaterials.2016.03.014.

GHUMAN, Harmanvir et MODO, Michel, 2016. Biomaterial applications in neural therapy and repair. *Chinese Neurosurgical Journal*. 1 novembre 2016. Vol. 2, n° 1, pp. 34. DOI 10.1186/s41016-016-0057-0.

GOLDBERG, MP et CHOI, DW, 1993. Combined oxygen and glucose deprivation in cortical cell culture: calcium-dependent and calcium-independent mechanisms of neuronal injury. *The Journal of Neuroscience*. 1 août 1993. Vol. 13, n° 8, pp. 3510-3524. DOI 10.1523/JNEUROSCI.13-08-03510.1993.

GORDON, Dianne J. et ROGERS, Lesley J., 2010. Differences in social and vocal behavior between left- and right-handed common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Journal of Comparative Psychology*. 2010. Vol. 124, n° 4, pp. 402-411. DOI 10.1037/a0019736.

GORDON, Evan M., CHAUVIN, Roselyne J., VAN, Andrew N., RAJESH, Aishwarya, NIELSEN, Ashley, NEWBOLD, Dillan J., LYNCH, Charles J., SEIDER, Nicole A., KRIMMEL, Samuel R., SCHEIDTER, Kristen M., MONK, Julia, MILLER, Ryland L., METOKI, Athanasia, MONTEZ, David F., ZHENG, Annie, ELBAU, Immanuel, MADISON, Thomas, NISHINO, Tomoyuki, MYERS, Michael J., KAPLAN, Sydney, BADKE D'ANDREA, Carolina, DEMETER, Damion V., FEIGELIS, Matthew, RAMIREZ, Julian S. B., XU, Ting, BARCH, Deanna M., SMYSER, Christopher D., ROGERS, Cynthia E., ZIMMERMANN, Jan, BOTTERON, Kelly N., PRUETT, John R., WILLIE, Jon T., BRUNNER, Peter, SHIMONY, Joshua S., KAY, Benjamin P., MAREK, Scott, NORRIS, Scott A., GRATTON, Caterina, SYLVESTER, Chad M., POWER, Jonathan D., LISTON, Conor, GREENE, Deanna J., ROLAND, Jarod L., PETERSEN, Steven E., RAICHLE, Marcus E., LAUMANN, Timothy O., FAIR, Damien A. et DOSENBACH, Nico U. F., 2023. A somato-cognitive action network alternates with effector regions in motor cortex. *Nature*. mai 2023. Vol. 617, n° 7960, pp. 351-359. DOI 10.1038/s41586-023-05964-2.

GREENBERG, David A. et JIN, Kunlin, 2005. From angiogenesis to neuropathology. *Nature*. 15 décembre 2005. Vol. 438, n° 7070, pp. 954-959. DOI 10.1038/nature04481.

GRITTI, Angela, VESCOVI, Angelo L. et GALLI, Rossella, 2002. Adult neural stem cells: plasticity and developmental potential. *Journal of Physiology, Paris*. 2002. Vol. 96, n° 1-2, pp. 81-90. DOI 10.1016/s0928-4257(01)00083-3.

GROENEWEGER, Henk J., 2003. The basal ganglia and motor control. *Neural Plasticity*. 2003. Vol. 10, n° 1-2, pp. 107-120. DOI 10.1155/NP.2003.107.

GRØNBERG, Nina Vindegaard, JOHANSEN, Flemming Fryd, KRISTIANSEN, Uffe et HASSELDAM, Henrik, 2013. Leukocyte infiltration in experimental stroke. *Journal of Neuroinflammation*. 18 septembre 2013. Vol. 10, pp. 115. DOI 10.1186/1742-2094-10-115.

GUPTA, Dimpy, TATOR, Charles H. et SHOICHET, Molly S., 2006. Fast-gelling injectable blend of hyaluronan and methylcellulose for intrathecal, localized delivery to the injured spinal cord. *Biomaterials*. 1 avril 2006. Vol. 27, n° 11, pp. 2370-2379. DOI 10.1016/j.biomaterials.2005.11.015.

GUSEL'NIKOVA, V. V. et KORZHEVSKIY, D. E., 2015. NeuN As a Neuronal Nuclear Antigen and Neuron Differentiation Marker. *Acta Naturae*. 2015. Vol. 7, n° 2, pp. 42-47.

HAMPTON, D. W., SEITZ, A., CHEN, P., HEBER-KATZ, E. et FAWCETT, J. W., 2004. Altered CNS response to injury in the MRL/MpJ mouse. *Neuroscience*. 1 janvier 2004. Vol. 127, n° 4, pp. 821-832. DOI 10.1016/j.neuroscience.2004.05.057.

HAN, Hyo-Jeong, POWERS, Sarah J. et GABRIELSON, Kathleen L., 2022. The Common Marmoset-Biomedical Research Animal Model Applications and Common Spontaneous Diseases. *Toxicologic Pathology*. juillet 2022. Vol. 50, n° 5, pp. 628-637. DOI 10.1177/01926233221095449.

HANNON, Eilis, DEMPSTER, Emma L., DAVIES, Jonathan P., CHIOZA, Barry, BLAKE, Georgina E. T., BURRAGE, Joe, POLICICCHIO, Stefania, FRANKLIN, Alice, WALKER, Emma M., BAMFORD, Rosemary A., SCHALKWYK, Leonard C. et MILL, Jonathan, 2024. Quantifying the proportion of different cell types in the human cortex

using DNA methylation profiles. *BMC Biology*. 25 janvier 2024. Vol. 22, n° 1, pp. 17. DOI 10.1186/s12915-024-01827-y.

HARDMAN, Craig Denis, HENDERSON, Jasmine Monica, FINKELSTEIN, David Isaac, HORNE, Malcolm Kenneth, PAXINOS, George et HALLIDAY, Glenda Margaret, 2002. Comparison of the basal ganglia in rats, marmosets, macaques, baboons, and humans: volume and neuronal number for the output, internal relay, and striatal modulating nuclei. *The Journal of Comparative Neurology*. 8 avril 2002. Vol. 445, n° 3, pp. 238-255. DOI 10.1002/cne.10165.

HAUG, H., 1986. History of neuromorphometry. *Journal of Neuroscience Methods*. 1 octobre 1986. Vol. 18, n° 1, pp. 1-17. DOI 10.1016/0165-0270(86)90110-X.

HAWKINS, Brian T. et DAVIS, Thomas P., 2005. The Blood-Brain Barrier/Neurovascular Unit in Health and Disease. *Pharmacological Reviews*. 1 juin 2005. Vol. 57, n° 2, pp. 173-185. DOI 10.1124/pr.57.2.4.

HEDERSTEDT, L et RUTBERG, L, 1981. Succinate dehydrogenase--a comparative review. *Microbiological Reviews*. décembre 1981. Vol. 45, n° 4, pp. 542-555. DOI 10.1128/mr.45.4.542-555.1981.

HEINS, Nico, MALATESTA, Paolo, CECCONI, Francesco, NAKAFUKU, Masato, TUCKER, Kerry Lee, HACK, Michael A., CHAPOUTON, Prisca, BARDE, Yves-Alain et GÖTZ, Magdalena, 2002. Glial cells generate neurons: the role of the transcription factor Pax6. *Nature Neuroscience*. avril 2002. Vol. 5, n° 4, pp. 308-315. DOI 10.1038/nn828.

HENSHAW, Ross, JENKINS, Bruce G., SCHULZ, Jörg B., FERRANTE, Robert J., KOWALL, Neil W., ROSEN, Bruce R. et FLINT BEAL, M., 1994. Malonate produces striatal lesions by indirect NMDA receptor activation. *Brain Research*. 30 mai 1994. Vol. 647, n° 1, pp. 161-166. DOI 10.1016/0006-8993(94)91412-5.

HERCULANO-HOUZEL, Suzana, 2014. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia*. septembre 2014. Vol. 62, n° 9, pp. 1377-1391. DOI 10.1002/glia.22683.

HERCULANO-HOUZEL, Suzana, 2017. Numbers of neurons as biological correlates of cognitive capability. *Current Opinion in Behavioral Sciences*. août 2017. Vol. 16, pp. 1-7. DOI 10.1016/j.cobeha.2017.02.004.

HERCULANO-HOUZEL, Suzana, COLLINS, Christine E., WONG, Peiyan et KAAS, Jon H., 2007. Cellular scaling rules for primate brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 27 février 2007. Vol. 104, n° 9, pp. 3562-3567. DOI 10.1073/pnas.0611396104.

HERMANN, Dirk M. et CHOPP, Michael, 2012. Promoting brain remodelling and plasticity for stroke recovery: therapeutic promise and potential pitfalls of clinical translation. *The Lancet. Neurology*. avril 2012. Vol. 11, n° 4, pp. 369-380. DOI 10.1016/S1474-4422(12)70039-X.

HERPICH, Franziska et RINCON, Fred, 2020. Management of Acute Ischemic Stroke. *Critical Care Medicine*. novembre 2020. Vol. 48, n° 11, pp. 1654. DOI 10.1097/CCM.0000000000004597.

HESS, David C., WECHSLER, Lawrence R., CLARK, Wayne M., SAVITZ, Sean I., FORD, Gary A., CHIU, David, YAVAGAL, Dileep R., UCHINO, Ken, LIEBESKIND, David S., AUCHUS, Alexander P., SEN, Souvik, SILA, Cathy A., VEST, Jeffrey D. et MAYS, Robert W., 2017. 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.

HETTIARATCHI, Marian H., O'MEARA, Matthew J., TEAL, Carter J., PAYNE, Samantha L., PICKERING, Andrew J. et SHOICHET, Molly S., 2019. Local delivery of stabilized chondroitinase ABC degrades chondroitin sulfate proteoglycans in stroke-injured rat brains. *Journal of Controlled Release*. 10 mars 2019. Vol. 297, pp. 14-25. DOI 10.1016/j.jconrel.2019.01.033.

HILL, A C, TURTON, J A et BLEBY, J, 1978. Bacterial and mycoplasma flora of a laboratory colony of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *The Veterinary record*. 1 septembre 1978. Vol. 103, n° 13, pp. 284-287. DOI 10.1136/vr.103.13.284.

HILL, Justin J., JIN, Kunlin, MAO, Xiao Ou, XIE, Lin et GREENBERG, David A., 2012. Intracerebral chondroitinase ABC and heparan sulfate proteoglycan glypican improve outcome from chronic stroke in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 5 juin 2012. Vol. 109, n° 23, pp. 9155-9160. DOI 10.1073/pnas.1205697109.

HO, Margaret T., TEAL, Carter J. et SHOICHET, Molly S., 2019. A hyaluronan/methylcellulose-based hydrogel for local cell and biomolecule delivery to the central nervous system. *Brain Research Bulletin*. 1 mai 2019. Vol. 148, pp. 46-54. DOI 10.1016/j.brainresbull.2019.03.005.

HOFFMAN, Allan S., 2012. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1 décembre 2012. Vol. 64, pp. 18-23. DOI 10.1016/j.addr.2012.09.010.

HOH, Brian L., KO, Nerissa U., AMIN-HANJANI, Sepideh, CHOU, Sherry H.-Y., CRUZ-FLORES, Salvador, DANGAYACH, Neha S., DERDEYN, Colin P., DU, Rose, HÄNGGI, Daniel, HETTS, Steven W., IFEJIKI, Nneka L., JOHNSON, Regina, KEIGHER, Kiffon M., LESLIE-MAZWI, Thabele M., LUCKE-WOLD, Brandon, RABINSTEIN, Alejandro A., ROBICSEK, Steven A., STAPLETON, Christopher J., SUAREZ, Jose I., TJOU MAKARIS, Stavropoula I. et WELCH, Babu G., 2023. 2023 Guideline for the Management of Patients With Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Guideline From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. juillet 2023. Vol. 54, n° 7, pp. e314-e370. DOI 10.1161/STR.0000000000000436.

HOSSMANN, Konstantin-Alexander, 2012. The two pathophysiologies of focal brain ischemia: implications for translational stroke research. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. juillet 2012. Vol. 32, n° 7, pp. 1310-1316. DOI 10.1038/jcbfm.2011.186.

HUANG, Judy, MOCCO, J., CHOUDHRI, Tanvir F., POISIK, Alexander, POPILSKIS, Sulli J., EMERSON, Ronald, DELAPAZ, Robert L., KHANDJI, Alexander G., PINSKY, David J. et CONNOLLY, E. Sander, 2000. A Modified Transorbital Baboon Model of Reperfused Stroke. *Stroke*. décembre 2000. Vol. 31, n° 12, pp. 3054-3063. DOI 10.1161/01.STR.31.12.3054.

HUI, Channing, TADI, Prasanna, KHAN SUHEB, Mahammed Z. et PATTI, Laryssa, 2025. Ischemic Stroke. In : *StatPearls* [en ligne]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. [Consulté le 11 février 2025]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499997/NBK499997>

HURD, Mason Daniel, GOEL, Isha, SAKAI, Yasuyuki et TERAMURA, Yuji, 2021. Current status of ischemic stroke treatment: From thrombolysis to potential regenerative medicine. *Regenerative Therapy*. 1 décembre 2021. Vol. 18, pp. 408-417. DOI 10.1016/j.reth.2021.09.009.

IADECOLA, Costantino, BUCKWALTER, Marion S. et ANRATHER, Josef, 2020. Immune responses to stroke: mechanisms, modulation, and therapeutic potential. *The Journal of Clinical Investigation*. 1 juin 2020. Vol. 130, n° 6, pp. 2777-2788. DOI 10.1172/JCI135530.

JANG, Sung Ho, 2013. Motor function-related maladaptive plasticity in stroke: a review. *NeuroRehabilitation*. 2013. Vol. 32, n° 2, pp. 311-316. DOI 10.3233/NRE-130849.

JENSEN, C., GUREVICH, L., PATRICIU, A., STRUIJK, J. J., ZACHAR, V. et PENNISI, C. P., 2012. Increased connective tissue attachment to silicone implants by a water vapor plasma treatment. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2012. Vol. 100A, n° 12, pp. 3400-3407. DOI 10.1002/jbm.a.34284.

JENSEN, Matthew B., YAN, Hongmei, KRISHNANEY-DAVISON, Rajeev, AL SAWAF, Abdullah et ZHANG, Su-Chun, 2013. Survival and Differentiation of Transplanted Neural Stem Cells Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells in A Rat Stroke Model. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 1 mai 2013. Vol. 22, n° 4, pp. 304-308. DOI 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2011.09.008.

JIANG, Mei, LV, Lei, JI, Haifeng, YANG, Xuelian, ZHU, Wei, CAI, Liying, GU, Xiaju, CHAI, Changfeng, HUANG, Shu, SUN, Jian et DONG, Qiang, 2011. Induction of pluripotent stem cells transplantation therapy for ischemic stroke. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1 août 2011. Vol. 354, n° 1, pp. 67-75. DOI 10.1007/s11010-011-0806-5.

JIANG, Wei, LIANG, Guobiao, LI, Xiaoming, LI, Zhiqing, GAO, Xu, FENG, Sizhe, WANG, Xiaogang, LIU, Minpei et LIU, Yang, 2014. Intracarotid transplantation of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells significantly improves neurological deficits in rats after MCAo. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1 mai 2014. Vol. 25, n° 5, pp. 1357-1366. DOI 10.1007/s10856-014-5157-9.

JICKLING, Glen C, LIU, DaZhi, STAMOVA, Boryana, ANDER, Bradley P, ZHAN, Xinhua, LU, Aigang et SHARP, Frank R, 2014. Hemorrhagic Transformation after Ischemic Stroke in Animals and Humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. février 2014. Vol. 34, n° 2, pp. 185-199. DOI 10.1038/jcbfm.2013.203.

JIN, Kunlin, MAO, Xiaou, XIE, Lin, GALVAN, Veronica, LAI, Bin, WANG, Yaoming, GOROSTIZA, Olivia, WANG, Xiaomei et GREENBERG, David A., 2010. Transplantation of human neural precursor cells in Matrigel scaffolding improves outcome from focal cerebral ischemia after delayed postischemic treatment in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. mars 2010. Vol. 30, n° 3, pp. 534-544. DOI 10.1038/jcbfm.2009.219.

JIN, Kunlin, WANG, Xiaomei, XIE, Lin, MAO, Xiao Ou, ZHU, Wei, WANG, Yin, SHEN, Jianfeng, MAO, Ying, BANWAIT, Surita et GREENBERG, David A., 2006. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 29 août 2006. Vol. 103, n° 35, pp. 13198-13202. DOI 10.1073/pnas.0603512103.

JIN, Rong, LIU, Lin, ZHANG, Shihao, NANDA, Anil et LI, Guohong, 2013. Role of Inflammation and Its Mediators in Acute Ischemic Stroke. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 1 octobre 2013. Vol. 6, n° 5, pp. 834-851. DOI 10.1007/s12265-013-9508-6.

JIN, Wei-Na, SHI, Samuel Xiang-Yu, LI, Zhiguo, LI, Minshu, WOOD, Kristofer, GONZALES, Rayna J et LIU, Qiang, 2017. Depletion of microglia exacerbates postischemic inflammation and brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. juin 2017. Vol. 37, n° 6, pp. 2224-2236. DOI 10.1177/0271678X17694185.

JOHNS, Paul, 2014. Sensory and motor pathways. In : *Clinical Neuroscience* [en ligne]. Elsevier. pp. 49-59. [Consulté le 17 février 2025]. ISBN 978-0-443-10321-6. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780443103216000047>

JONGPAIBOONKIT, Leenaporn, KING, William J. et MURPHY, William L., 2009. Screening for 3D Environments That Support Human Mesenchymal Stem Cell Viability Using Hydrogel Arrays. *Tissue Engineering Part A*. février 2009. Vol. 15, n° 2, pp. 343-353. DOI 10.1089/ten.tea.2008.0096.

JU, Rongkai, WEN, Yujun, GOU, Rongbin, WANG, Ying et XU, Qunyuan, 2014. The Experimental Therapy on Brain Ischemia by Improvement of Local Angiogenesis with Tissue Engineering in the Mouse. *Cell Transplantation*. 1 janvier 2014. Vol. 23, n° 1_suppl, pp. 83-95. DOI 10.3727/096368914X684998.

JURGA, Agnieszka M., PALECZNA, Martyna et KUTER, Katarzyna Z., 2020. Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. *Frontiers in Cellular Neuroscience* [en ligne]. 6 août 2020. Vol. 14. [Consulté le 9 mars 2025]. DOI 10.3389/fncel.2020.00198. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-neuroscience/articles/10.3389/fncel.2020.00198/full>

KAAS, Jon H, 2021. Comparative Functional Anatomy of Marmoset Brains. *ILAR Journal*. 8 février 2021. Vol. 61, n° 2-3, pp. 260-273. DOI 10.1093/ilar/ilaa026.

KALLADKA, Dheeraj, SINDEN, John, POLLOCK, Kenneth, HAIG, Caroline, MCLEAN, John, SMITH, Wilma, MCCONNACHIE, Alex, SANTOSH, Celestine, BATH, Philip M., DUNN, Laurence et MUIR, Keith W., 2016. Human neural stem cells in patients with

chronic ischaemic stroke (PISCES): a phase 1, first-in-man study. *The Lancet*. 20 août 2016. Vol. 388, n° 10046, pp. 787-796. DOI 10.1016/S0140-6736(16)30513-X.

KAMIYA, Fumio, UEDA, Masayuki, NITO, Chikako, KAMIYA, Nobuo, INABA, Toshiki, SUDA, Satoshi, SAITO, Tomonari, MURAGA, Kanako et KATAYAMA, Yasuo, 2014. Effect of repeated allogeneic bone marrow mononuclear cell transplantation on brain injury following transient focal cerebral ischemia in rats. *Life Sciences*. 24 janvier 2014. Vol. 95, n° 1, pp. 22-28. DOI 10.1016/j.lfs.2013.12.016.

KAMIYA, Nobuo, UEDA, Masayuki, IGARASHI, Hironaka, NISHIYAMA, Yasuhiro, SUDA, Satoshi, INABA, Toshiki et KATAYAMA, Yasuo, 2008. Intra-arterial transplantation of bone marrow mononuclear cells immediately after reperfusion decreases brain injury after focal ischemia in rats. *Life Sciences*. 12 septembre 2008. Vol. 83, n° 11, pp. 433-437. DOI 10.1016/j.lfs.2008.07.018.

KANAZAWA, Masato, MIURA, Minami, TORIYABE, Masafumi, KOYAMA, Misaki, HATAKEYAMA, Masahiro, ISHIKAWA, Masanori, NAKAJIMA, Takashi, ONODERA, Osamu, TAKAHASHI, Tetsuya, NISHIZAWA, Masatoyo et SHIMOHATA, Takayoshi, 2017. Microglia preconditioned by oxygen-glucose deprivation promote functional recovery in ischemic rats. *Scientific Reports*. 14 février 2017. Vol. 7, pp. 42582. DOI 10.1038/srep42582.

KAPOOR, K., KAK, V. K. et SINGH, B., 2003. Morphology and Comparative Anatomy of Circulus Arteriosus Cerebri in Mammals. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2003. Vol. 32, n° 6, pp. 347-355. DOI 10.1111/j.1439-0264.2003.00492.x.

KAPOOR, Kanchan, SINGH, Balbir et DEWAN, Late Inder Jit, 2008. Variations in the configuration of the circle of Willis. *Anatomical Science International*. juin 2008. Vol. 83, n° 2, pp. 96-106. DOI 10.1111/j.1447-073X.2007.00216.x.

KAWABORI, Masahito, WEINTRAUB, Alan H., IMAI, Hideaki, ZINKEVYCH, Iaroslav, MCALLISTER, Peter, STEINBERG, Gary K., FRISHBERG, Benjamin M., YASUHARA, Takao, CHEN, Jefferson W., CRAMER, Steven C., ACHROL, Achal S., SCHWARTZ, Neil E., SUENAGA, Jun, LU, Daniel C., SEMENIV, Ihor, NAKAMURA, Hajime, KONDZIOŁKA, Douglas, CHIDA, Dai, KANEKO, Takehiko, KARASAWA, Yasuaki, PAADRE, Susan, NEJADNIK, Bijan, BATES, Damien, STONEHOUSE, Anthony H., RICHARDSON, R. Mark et OKONKWO, David O., 2021. Cell Therapy for Chronic TBI: Interim Analysis of the Randomized Controlled STEMTRA Trial. *Neurology*. 22 février 2021. Vol. 96, n° 8, pp. e1202-e1214. DOI 10.1212/WNL.0000000000011450.

KAWAI, Hiromi, YAMASHITA, Toru, OHTA, Yasuyuki, DEGUCHI, Kentaro, NAGOTANI, Shoko, ZHANG, Xuemei, IKEDA, Yoshio, MATSUURA, Tohru et ABE, Koji, 2010. Tridermal Tumorigenesis of Induced Pluripotent Stem Cells Transplanted in Ischemic Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1 août 2010. Vol. 30, n° 8, pp. 1487-1493. DOI 10.1038/jcbfm.2010.32.

KEMPERMANN, Gerd, 2022. Adult Neurogenesis. In : PFAFF, Donald W., VOLKOW, Nora D. et RUBENSTEIN, John L. (éd.), *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical* [en ligne]. Cham : Springer International Publishing. pp. 321-339. [Consulté le 22 février 2025]. ISBN 978-3-030-88832-9. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-3-030-88832-9_9

KHAING, Zin Z, MILMAN, Brian D, VANSKOY, Jennifer E, SEIDLITS, Stephanie K, GRILL, Raymond J et SCHMIDT, Christine E, 2011. High molecular weight hyaluronic acid limits astrocyte activation and scar formation after spinal cord injury. *Journal of Neural Engineering*. juillet 2011. Vol. 8, n° 4, pp. 046033. DOI 10.1088/1741-2560/8/4/046033.

KHANTEYMOORI, Alireza, PETERSON, Clayton, ATAMNY, Roza, HOHENHAUS, Marc, BECK, Jürgen, HOWELLS, David W., SCHWAB, Jan M. et WATZLAWICK, Ralf, 2025. Targeting Nerve Fiber Outgrowth Inhibition After Experimental Spinal Cord Injury: A Systematic Review and Meta-analysis of Chondroitinase ABC. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 7 janvier 2025. pp. 15459683241311337. DOI 10.1177/15459683241311337.

KHATRI, Pooja, WECHSLER, Lawrence R. et BRODERICK, Joseph P., 2007. Intracranial Hemorrhage Associated With Revascularization Therapies. *Stroke*. février 2007. Vol. 38, n° 2, pp. 431-440. DOI 10.1161/01.STR.0000254524.23708.c9.

KILKENNY, Carol, BROWNE, William J., CUTHILL, Innes C., EMERSON, Michael et ALTMAN, Douglas G., 2010. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS biology*. 29 juin 2010. Vol. 8, n° 6, pp. e1000412. DOI 10.1371/journal.pbio.1000412.

KIM, Yu-Sam, 2002. Malonate Metabolism: Biochemistry, Molecular Biology, Physiology, and Industrial Application. *BMB Reports*. 2002. Vol. 35, n° 5, pp. 443-451. DOI 10.5483/BMBRep.2002.35.5.443.

KIRÁLY, Marianna, KÁDÁR, Kristóf, HORVÁTHY, Dénes B., NARDAI, Péter, RÁCZ, Gábor Z., LACZA, Zsombor, VARGA, Gábor et GERBER, Gábor, 2011. Integration of neuronally predifferentiated human dental pulp stem cells into rat brain in vivo. *Neurochemistry International*. 1 septembre 2011. Vol. 59, n° 3, pp. 371-381. DOI 10.1016/j.neuint.2011.01.006.

KISHI, Noriyuki et OKANO, Hideyuki, 2017. Neuroscience Research Using Non-human Primate Models and Genome Editing. In : JAENISCH, Rudolf, ZHANG, Feng et GAGE, Fred (éd.), *Genome Editing in Neurosciences* [en ligne]. Cham (CH) : Springer. [Consulté le 24 février 2025]. ISBN 978-3-319-60191-5. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536371/NBK536371>

KITAGAWA, Kazuo, 2022. Blood pressure management for secondary stroke prevention. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*. juin 2022. Vol. 45, n° 6, pp. 936-943. DOI 10.1038/s41440-022-00908-1.

KITAMURA, Kazuya, FUJIYOSHI, Kanehiro, YAMANE, Jun-ichi, TOYOTA, Fumika, HIKISHIMA, Keigo, NOMURA, Tatsuji, FUNAKOSHI, Hiroshi, NAKAMURA, Toshikazu, AOKI, Masashi, TOYAMA, Yoshiaki, OKANO, Hideyuki et NAKAMURA, Masaya, 2011. Human Hepatocyte Growth Factor Promotes Functional Recovery in Primates after Spinal Cord Injury. *PLOS ONE*. 29 novembre 2011. Vol. 6, n° 11, pp. e27706. DOI 10.1371/journal.pone.0027706.

KOLB, Bryan, WHISHAW, Ian Q. et TESKEY, Gordon Campbell, 2019. *Cerveau et comportement*. De Boeck Supérieur. ISBN 978-2-8073-0240-2.

KONDO, Takahiro, YOSHIHARA, Yamato, YOSHINO-SAITO, Kimika, SEKIGUCHI, Tomofumi, KOSUGI, Akito, MIYAZAKI, Yuta, NISHIMURA, Yukio, OKANO, Hirotaka J., NAKAMURA, Masaya, OKANO, Hideyuki, ISA, Tadashi et USHIBA, Junichi, 2015. Histological and electrophysiological analysis of the corticospinal pathway to forelimb motoneurons in common marmosets. *Neuroscience Research*. 1 septembre 2015. Vol. 98, pp. 35-44. DOI 10.1016/j.neures.2015.05.001.

KOREMATSU, Kojiro, GOTO, Satoshi, NAGAIRO, Shinji et USHIO, Yukitaka, 1993. Changes of immunoreactivity for synaptophysin ('protein p38') following a transient cerebral ischemia in the rat striatum. *Brain Research*. 9 juillet 1993. Vol. 616, n° 1, pp. 320-324. DOI 10.1016/0006-8993(93)90225-C.

KORTE, Sven et EVERITT, Jeffrey, 2019. Chapter 27 - The Use of the Marmoset in Toxicity Testing and Nonclinical Safety Assessment Studies. In : MARINI, Robert, WACHTMAN, Lynn, TARDIF, Suzette, MANSFIELD, Keith et FOX, James (éd.), *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Academic Press. pp. 493-513. American College of Laboratory Animal Medicine. [Consulté le 24 février 2025]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128118290000273>

KOUPAEI, Narjes, KARKHANEH, Akbar et DALIRI JOUPARI, Morteza, 2015. Preparation and characterization of (PCL-crosslinked-PEG)/hydroxyapatite as bone tissue engineering scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2015. Vol. 103, n° 12, pp. 3919-3926. DOI 10.1002/jbm.a.35513.

KOYAMA, Yutaka, 2014. Signaling molecules regulating phenotypic conversions of astrocytes and glial scar formation in damaged nerve tissues. *Neurochemistry International*. 1 décembre 2014. Vol. 78, pp. 35-42. DOI 10.1016/j.neuint.2014.08.005.

KRAFFT, Paul R., BAILEY, Emma L., LEKIC, Tim, ROLLAND, William B., ALTAY, Orhan, TANG, Jiping, WARDLAW, Joanna M., ZHANG, John H. et SUDLOW, Cathie L. M., 2012. Etiology of Stroke and Choice of Models. *International Journal of Stroke*. juillet 2012. Vol. 7, n° 5, pp. 398-406. DOI 10.1111/j.1747-4949.2012.00838.x.

KRUPINSKI, J., KALUZA, J., KUMAR, P., KUMAR, S. et WANG, J. M., 1994. Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke. *Stroke*. septembre 1994. Vol. 25, n° 9, pp. 1794-1798. DOI 10.1161/01.str.25.9.1794.

KURZ, K. D., MAIN, B. W. et SANDUSKY, G. E., 1990. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thrombosis Research*. 15 novembre 1990. Vol. 60, n° 4, pp. 269-280. DOI 10.1016/0049-3848(90)90106-M.

KUYPERS, H. G. J. M., 2011. Anatomy of the Descending Pathways. In : *Comprehensive Physiology* [en ligne]. John Wiley & Sons, Ltd. pp. 597-666. [Consulté le 25 février 2025]. ISBN 978-0-470-65071-4. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphy.cp010213>

KVISTAD, Christopher Elnan, NÆSS, Halvor, HELLEBERG, Bernt H., IDICULA, Titto, HAGBERG, Guri, NORDBY, Linn Marie, JENSSEN, Kristian N., TOBRO, Håkon, RÖRHOLT, Dag M., KAUR, Kamaljit, ELTOFT, Agnethe, EVENSEN, Kristin, HAASZ, Judit, SINGARAVEL, Guruparan, FROMM, Annette et THOMASSEN, Lars, 2022. Tenecteplase versus alteplase for the management of acute ischaemic stroke in Norway (NOR-TEST 2, part A): a phase 3, randomised, open-label, blinded endpoint,

non-inferiority trial. *The Lancet. Neurology*. juin 2022. Vol. 21, n° 6, pp. 511-519. DOI 10.1016/S1474-4422(22)00124-7.

LAKHAN, Shaheen E., KIRCHGESSNER, Annette, TEPPER, Deborah et LEONARD, Aidan, 2013. Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke. *Frontiers in Neurology*. 2013. Vol. 4, pp. 32. DOI 10.3389/fneur.2013.00032.

LAMY, C., 2008. [Epilepsy and stroke]. *Revue Neurologique*. octobre 2008. Vol. 164, n° 10, pp. 841-845. DOI 10.1016/j.neurol.2008.07.006.

LANGER, Robert, 1990. New Methods of Drug Delivery. *Science*. 28 septembre 1990. Vol. 249, n° 4976, pp. 1527-1533. DOI 10.1126/science.2218494.

LASKOWITZ, Daniel T., MUIR, Keith W., SAVITZ, Sean I., WECHSLER, Lawrence R., PILITSIS, Julie G., RAHIMI, Scott Y., BECKMAN, Richard L., HOLMES, Vincent, CHEN, Peng R., JUEL, Laura, KOLTAL, Deborah et KOLLS, Brad J., 2023. Methodological considerations in PISCES 3: a randomized, placebo-controlled study of intracerebral stem cells in subjects with disability following an ischemic stroke. *Frontiers in Stroke* [en ligne]. 4 juillet 2023. Vol. 2. [Consulté le 28 février 2025]. DOI 10.3389/fstro.2023.1182537. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/stroke/articles/10.3389/fstro.2023.1182537/full>

LE FRIEC, Alice, DESMOULIN, Franck, DEMAÏN, Boris, DAVOUST, Carole, ROBERT, Lorenne, DUVAL, Tanguy, RÉMY, Florence, CIRILLO, Carla et LOUBINOX, Isabelle, 2021. A Reproducible New Model of Focal Ischemic Injury in the Marmoset Monkey: MRI and Behavioural Follow-Up. *Translational Stroke Research*. février 2021. Vol. 12, n° 1, pp. 98-111. DOI 10.1007/s12975-020-00804-1.

LE FRIEC, Alice, SALABERT, Anne-Sophie, DAVOUST, Carole, DEMAÏN, Boris, VIEU, Christophe, VAYSSE, Laurence, PAYOUX, Pierre et LOUBINOX, Isabelle, 2017. Enhancing Plasticity of the Central Nervous System: Drugs, Stem Cell Therapy, and Neuro-Implants. *Neural Plasticity*. 2017. Vol. 2017, pp. 1-9. DOI 10.1155/2017/2545736.

LEE, Jihyeon, CHANG, Won Seok, SHIN, Jaewoo, SEO, Younghee, KONG, Chanhoo, SONG, Byeong-Wook, NA, Young Cheol, KIM, Bong Soo et CHANG, Jin Woo, 2020. Non-invasively enhanced intracranial transplantation of mesenchymal stem cells using focused ultrasound mediated by overexpression of cell-adhesion molecules. *Stem Cell Research*. 1 mars 2020. Vol. 43, pp. 101726. DOI 10.1016/j.scr.2020.101726.

LEVY, Neil, 2012. The Use of Animal as Models: Ethical Considerations. *International Journal of Stroke*. juillet 2012. Vol. 7, n° 5, pp. 440-442. DOI 10.1111/j.1747-4949.2012.00772.x.

LIEBESKIND, David S., 2018. Big Data for a Big Problem: Precision Medicine of Stroke in Neurocritical Care. *Critical Care Medicine*. juillet 2018. Vol. 46, n° 7, pp. 1189-1191. DOI 10.1097/CCM.00000000000003165.

LIN, Chien-Min, LIN, Jia-Wei, CHEN, Yen-Chou, SHEN, Hsin-Hsin, WEI, Li, YEH, Yi-Shian, CHIANG, Yung-Hsiao, SHIH, Raymond, CHIU, Pei-Ling, HUNG, Kuo-Sheng, YANG, Liang-Yo et CHIU, Wen-Ta, 2009. Hyaluronic acid inhibits the glial scar

formation after brain damage with tissue loss in rats. *Surgical Neurology*. 1 décembre 2009. Vol. 72, pp. S50-S54. DOI 10.1016/j.wneu.2009.09.004.

LIN, Xiao, WANG, Hua, CHEN, Jiayu, ZHAO, Peiqi, WEN, Min, BINGWA, Lebohang Anesu, JIN, Kunlin, ZHUGE, Qichuan et YANG, Su, 2022. Nonhuman primate models of ischemic stroke and neurological evaluation after stroke. *Journal of Neuroscience Methods*. 1 juillet 2022. Vol. 376, pp. 109611. DOI 10.1016/j.jneumeth.2022.109611.

LINDVALL, Olle et KOKAIA, Zaal, 2015. Neurogenesis following Stroke Affecting the Adult Brain. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. novembre 2015. Vol. 7, n° 11, pp. a019034. DOI 10.1101/cshperspect.a019034.

LIPTON, Peter, 1999. Ischemic Cell Death in Brain Neurons. *Physiological Reviews*. 10 janvier 1999. Vol. 79, n° 4, pp. 1431-1568. DOI 10.1152/physrev.1999.79.4.1431.

LOIS, C. et ALVAREZ-BUYLLA, A., 1994. Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science (New York, N.Y.)*. 20 mai 1994. Vol. 264, n° 5162, pp. 1145-1148. DOI 10.1126/science.8178174.

LORENZI, Teresa, SAGRATI, Andrea, MONTANARI, Eva, SENZACQUA, Martina, MORRONI, Manrico et FABRI, Mara, 2022. Neuronal nitric oxide synthase positive neurons in human indusium griseum. *Brain Structure & Function*. 2022. Vol. 227, n° 6, pp. 1981-1994. DOI 10.1007/s00429-022-02484-z.

LOTZE, Martin, BEUTLING, Willy, LOIBL, Moritz, DOMIN, Martin, PLATZ, Thomas, SCHMINKE, Ulf et BYBLOW, Winston D., 2012. Contralesional motor cortex activation depends on ipsilesional corticospinal tract integrity in well-recovered subcortical stroke patients. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2012. Vol. 26, n° 6, pp. 594-603. DOI 10.1177/1545968311427706.

LU, Dunyue, MAHMOOD, Asim, QU, Changsheng, HONG, Xin, KAPLAN, David et CHOPP, Michael, 2007. Collagen scaffolds populated with human marrow stromal cells reduce lesion volume and improve functional outcome after traumatic brain injury. *Neurosurgery*. septembre 2007. Vol. 61, n° 3, pp. 596-602; discussion 602-603. DOI 10.1227/01.NEU.0000290908.38438.B2.

LUDWIG, Parker E., REDDY, Vamsi et VARACALLO, Matthew A., 2025. Neuroanatomy, Central Nervous System (CNS). In : *StatPearls* [en ligne]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. [Consulté le 12 février 2025]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442010/NBK442010>

LUNDSTRÖM, E., TERÉNT, A. et BORG, J., 2008. Prevalence of disabling spasticity 1 year after first-ever stroke. *European Journal of Neurology*. juin 2008. Vol. 15, n° 6, pp. 533-539. DOI 10.1111/j.1468-1331.2008.02114.x.

MA, Yinzhong, YANG, Shilun, HE, Qianyan, ZHANG, Dianhui et CHANG, Junlei, 2021. The Role of Immune Cells in Post-Stroke Angiogenesis and Neuronal Remodeling: The Known and the Unknown. *Frontiers in Immunology* [en ligne]. 16 décembre 2021. Vol. 12. [Consulté le 22 février 2025]. DOI 10.3389/fimmu.2021.784098. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.784098/full>

MAGNUSSON, Jens P., GÖRITZ, Christian, TATARISHVILI, Jemal, DIAS, David O., SMITH, Emma M. K., LINDVALL, Olle, KOKAIA, Zaal et FRISÉN, Jonas, 2014. A latent neurogenic program in astrocytes regulated by Notch signaling in the mouse. *Science (New York, N.Y.)*. 10 octobre 2014. Vol. 346, n° 6206, pp. 237-241. DOI 10.1126/science.346.6206.237.

MAGNUSSON, Jens P., ZAMBONI, Margherita, SANTOPOLO, Giuseppe, MOLD, Jeff E., BARRIENTOS-SOMARRIBAS, Mauricio, TALAVERA-LOPEZ, Carlos, ANDERSSON, Björn et FRISÉN, Jonas, 2020. Activation of a neural stem cell transcriptional program in parenchymal astrocytes. *eLife*. 3 août 2020. Vol. 9, pp. e59733. DOI 10.7554/eLife.59733.

MAHONEY, Melissa J. et ANSETH, Kristi S., 2007. Contrasting effects of collagen and bFGF-2 on neural cell function in degradable synthetic PEG hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007. Vol. 81A, n° 2, pp. 269-278. DOI 10.1002/jbm.a.30970.

MAJNO, G. et JORIS, I., 1995. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *The American Journal of Pathology*. janvier 1995. Vol. 146, n° 1, pp. 3-15.

MANSFIELD, Keith, 2003. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comparative Medicine*. août 2003. Vol. 53, n° 4, pp. 383-392.

MANSFIELD, Keith G. et FOX, James G., 2019. Bacterial Diseases. *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research*. 2019. pp. 265-287. DOI 10.1016/B978-0-12-811829-0.00016-9.

MARSHALL, J. W. et RIDLEY, R. M., 1996. Assessment of functional impairment following permanent middle cerebral artery occlusion in a non-human primate species. *Neurodegeneration: A Journal for Neurodegenerative Disorders, Neuroprotection, and Neuroregeneration*. septembre 1996. Vol. 5, n° 3, pp. 275-286. DOI 10.1006/neur.1996.0036.

MARTÍNEZ-RAMOS, Cristina, GÓMEZ-PINEDO, Ulises, ESPARZA, M. ^a Angeles Garcia, SORIA, José Miguel, BARCIA, Juan A. et MONLEÓN PRADAS, Manuel, 2015. Neural tissue regeneration in experimental brain injury model with channeled scaffolds of acrylate copolymers. *Neuroscience Letters*. 26 juin 2015. Vol. 598, pp. 96-101. DOI 10.1016/j.neulet.2015.05.021.

MARTÍNEZ-RAMOS, Cristina, VALLÉS-LLUCH, Ana, VERDUGO, José Manuel García, RIBELLES, José Luis Gómez, BARCIA ALBACAR, Juan Antonio, ORTS, Amparo Baiget, SORIA LÓPEZ, José Miguel et PRADAS, Manuel Monleón, 2012. Channeled scaffolds implanted in adult rat brain. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2012. Vol. 100A, n° 12, pp. 3276-3286. DOI 10.1002/jbm.a.34273.

MASSENSINI, Andre R., GHUMAN, Harmanvir, SALDIN, Lindsey T., MEDBERRY, Christopher J., KEANE, Timothy J., NICHOLLS, Francesca J., VELANKAR, Sachin S., BADYLAK, Stephen F. et MODO, Michel, 2015. Concentration-dependent rheological properties of ECM hydrogel for intracerebral delivery to a stroke cavity. *Acta Biomaterialia*. 1 novembre 2015. Vol. 27, pp. 116-130. DOI 10.1016/j.actbio.2015.08.040.

MASTORAKOS, Panagiotis et MCGAVERN, Dorian, 2019. The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. *Science Immunology*. 5 juillet 2019. Vol. 4, n° 37, pp. eaav0492. DOI 10.1126/sciimmunol.aav0492.

MCBRIDE, Devin W. et ZHANG, John H., 2017. Precision Stroke Animal Models: the Permanent MCAO Model Should Be the Primary Model, Not Transient MCAO. *Translational Stroke Research*. 17 juillet 2017. DOI 10.1007/s12975-017-0554-2.

MCNEAL, David W., DARLING, Warren G., GE, Jizhi, STILWELL-MORECRAFT, Kimberly S., SOLON, Kathryn M., HYNES, Stephanie M., PIZZIMENTI, Marc A., ROTELLA, Diane L., VANADURONGVAN, Tyler et MORECRAFT, Robert J., 2010. Selective long-term reorganization of the corticospinal projection from the supplementary motor cortex following recovery from lateral motor cortex injury. *The Journal of Comparative Neurology*. 1 mars 2010. Vol. 518, n° 5, pp. 586-621. DOI 10.1002/cne.22218.

MEDBERRY, Christopher J., CRAPO, Peter M., SIU, Bernard F., CARRUTHERS, Christopher A., WOLF, Matthew T., NAGARKAR, Shailesh P., AGRAWAL, Vineet, JONES, Kristen E., KELLY, Jeremy, JOHNSON, Scott A., VELANKAR, Sachin S., WATKINS, Simon C., MODO, Michel et BADYLAK, Stephen F., 2013. Hydrogels derived from central nervous system extracellular matrix. *Biomaterials*. 1 janvier 2013. Vol. 34, n° 4, pp. 1033-1040. DOI 10.1016/j.biomaterials.2012.10.062.

MENG, Fanwei, MODO, Michel et BADYLAK, Stephen F., 2014. Biologic Scaffold for CNS Repair. *Regenerative Medicine*. 1 mai 2014. Vol. 9, n° 3, pp. 367-383. DOI 10.2217/rme.14.9.

MERCURIO, Sara, SERRA, Linda et NICOLIS, Silvia K., 2019. More than just Stem Cells: Functional Roles of the Transcription Factor Sox2 in Differentiated Glia and Neurons. *International Journal of Molecular Sciences*. 13 septembre 2019. Vol. 20, n° 18, pp. 4540. DOI 10.3390/ijms20184540.

MESSE, Maria Irena, 2024. *Rôle des collatérales dans la survie de la pénombre ischémique après accident vasculaire cérébral* [en ligne]. Université de Genève. [Consulté le 22 février 2025]. Disponible à l'adresse : <http://archive-ouverte.unige.ch/unige:178746>

MIGDAL, Camille et SERRES, Mireille, 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*. 1 avril 2011. Vol. 27, n° 4, pp. 405-412. DOI 10.1051/medsci/2011274017.

MIRANDA, Inês, SOUZA, Andrews, SOUSA, Paulo, RIBEIRO, João, CASTANHEIRA, Elisabete M. S., LIMA, Rui et MINAS, Graça, 2021. Properties and Applications of PDMS for Biomedical Engineering: A Review. *Journal of Functional Biomaterials*. 21 décembre 2021. Vol. 13, n° 1, pp. 2. DOI 10.3390/jfb13010002.

MODO, Michel, 2019. Bioscaffold-Induced Brain Tissue Regeneration. *Frontiers in Neuroscience* [en ligne]. 7 novembre 2019. Vol. 13. [Consulté le 7 mars 2025]. DOI 10.3389/fnins.2019.01156. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/neuroscience/articles/10.3389/fnins.2019.01156/full>

MODO, Michel M., JOLKKONEN, Jukka, ZILLE, Marietta et BOLTZE, Johannes, 2018. Future of Animal Modeling for Poststroke Tissue Repair. *Stroke*. mai 2018. Vol. 49, n° 5, pp. 1099-1106. DOI 10.1161/STROKEAHA.117.018293.

MOELLER, Korbinian, WILLMES, Klaus et KLEIN, Elise, 2015. A review on functional and structural brain connectivity in numerical cognition. *Frontiers in Human Neuroscience* [en ligne]. 13 mai 2015. Vol. 9. [Consulté le 15 février 2025]. DOI 10.3389/fnhum.2015.00227. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/human-neuroscience/articles/10.3389/fnhum.2015.00227/full>

MOREAU, Francois, PATEL, Shiel, LAUZON, M. Louis, MCCREARY, Cheryl R., GOYAL, Mayank, FRAYNE, Richard, DEMCHUK, Andrew M., COUTTS, Shelagh B. et SMITH, Eric E., 2012. Cavitation After Acute Symptomatic Lacunar Stroke Depends on Time, Location, and MRI Sequence. *Stroke*. juillet 2012. Vol. 43, n° 7, pp. 1837-1842. DOI 10.1161/STROKEAHA.111.647859.

MORLAND, Cecilie, BOLDINGH, Karen Astrid, IVERSEN, Evy Grini et HASSEL, Bjørnar, 2004. Valproate is Neuroprotective against Malonate Toxicity in Rat Striatum: An Association with Augmentation of High-Affinity Glutamate Uptake. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 1 novembre 2004. Vol. 24, n° 11, pp. 1226-1234. DOI 10.1097/01.WCB.0000138666.25305.A7.

MORRISON, Helena W. et FILOSA, Jessica A., 2013. A quantitative spatiotemporal analysis of microglia morphology during ischemic stroke and reperfusion. *Journal of Neuroinflammation*. 11 janvier 2013. Vol. 10, n° 1, pp. 782. DOI 10.1186/1742-2094-10-4.

MOSHAYEDI, Pouria et CARMICHAEL, S. Thomas, 2013. Hyaluronan, neural stem cells and tissue reconstruction after acute ischemic stroke. *Biomatter*. 1 janvier 2013. Vol. 3, n° 1, pp. e23863. DOI 10.4161/biom.23863.

MUIR, Keith W., BULTERS, Diederik, WILLMOT, Mark, SPRIGG, Nikola, DIXIT, Anand, WARD, Nick, TYRRELL, Pippa, MAJID, Arshad, DUNN, Laurence, BATH, Philip, HOWELL, Julian, STROEMER, Paul, POLLOCK, Kenneth et SINDEN, John, 2020. Intracerebral implantation of human neural stem cells and motor recovery after stroke: multicentre prospective single-arm study (PISCES-2). *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. avril 2020. Vol. 91, n° 4, pp. 396-401. DOI 10.1136/jnnp-2019-322515.

MURATA, Yumi, HIGO, Noriyuki, HAYASHI, Takuya, NISHIMURA, Yukio, SUGIYAMA, Yoko, OISHI, Takao, TSUKADA, Hideo, ISA, Tadashi et ONOE, Hirotaka, 2015. Temporal Plasticity Involved in Recovery from Manual Dexterity Deficit after Motor Cortex Lesion in Macaque Monkeys. *Journal of Neuroscience*. 7 janvier 2015. Vol. 35, n° 1, pp. 84-95. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1737-14.2015.

MURATA, Yumi, HIGO, Noriyuki, OISHI, Takao, YAMASHITA, Akiko, MATSUDA, Keiji, HAYASHI, Motoharu et YAMANE, Shigeru, 2008. Effects of motor training on the recovery of manual dexterity after primary motor cortex lesion in macaque monkeys. *Journal of Neurophysiology*. février 2008. Vol. 99, n° 2, pp. 773-786. DOI 10.1152/jn.01001.2007.

NAIR, Lakshmi S. et LAURENCIN, Cato T., 2007. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*. 1 août 2007. Vol. 32, n° 8, pp. 762-798. DOI 10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017.

NAKAMAE, Toshio, TANAKA, Nobuhiro, NAKANISHI, Kazuyoshi, KAMEI, Naosuke, SASAKI, Hirofumi, HAMASAKI, Takahiko, YAMADA, Kiyotaka, YAMAMOTO, Risako, IZUMI, Bunichiro et OCHI, Mitsuo, 2010. The effects of combining chondroitinase ABC and NEP1-40 on the corticospinal axon growth in organotypic co-cultures. *Neuroscience Letters*. 26 mai 2010. Vol. 476, n° 1, pp. 14-17. DOI 10.1016/j.neulet.2010.03.049.

NAOURI, Diane, ALLAIN, Samuel, FERY-LEMONIER, Elisabeth, WOLFF, Valérie, DEREIX, Laurent, RAYNAUD, Philippe et COSTEMALLE, Vianney, 2022. Social inequalities and gender differences in healthcare management of acute ischaemic stroke in France. *European Journal of Neurology*. novembre 2022. Vol. 29, n° 11, pp. 3255-3263. DOI 10.1111/ene.15490.

NARAYAN, Sunil K., GRACE CHERIAN, Simy, BABU PHANITI, Prakash, BABU CHIDAMBARAM, Saravana, RACHEL VASANTHI, A. Hannah et ARUMUGAM, Murugesan, 2021. Preclinical animal studies in ischemic stroke: Challenges and some solutions. *Animal Models and Experimental Medicine*. 2021. Vol. 4, n° 2, pp. 104-115. DOI 10.1002/ame2.12166.

NAVE, Klaus-Armin, 2010. Myelination and the trophic support of long axons. *Nature Reviews Neuroscience*. avril 2010. Vol. 11, n° 4, pp. 275-283. DOI 10.1038/nrn2797.

NIH, Lina R., GOJGINI, Shiva, CARMICHAEL, S. Thomas et SEGURA, Tatiana, 2018. Dual-function injectable angiogenic biomaterial for the repair of brain tissue following stroke. *Nature Materials*. juillet 2018. Vol. 17, n° 7, pp. 642-651. DOI 10.1038/s41563-018-0083-8.

NIH, Lina Ratiba, CARMICHAEL, Stanley Thomas et SEGURA, Tatiana, 2016. Hydrogels for brain repair after stroke: an emerging treatment option. *Current Opinion in Biotechnology*. 1 août 2016. Vol. 40, pp. 155-163. DOI 10.1016/j.copbio.2016.04.021.

NIU, Wenze, ZANG, Tong, ZOU, Yuhua, FANG, Sanhua, SMITH, Derek K., BACHOO, Robert et ZHANG, Chun-Li, 2013. In vivo reprogramming of astrocytes to neuroblasts in the adult brain. *Nature cell biology*. octobre 2013. Vol. 15, n° 10, pp. 10.1038/ncb2843. DOI 10.1038/ncb2843.

NOGUEIRA, Raul G., JADHAV, Ashutosh P., HAUSSEN, Diogo C., BONAFE, Alain, BUDZIK, Ronald F., BHUVA, Parita, YAVAGAL, Dileep R., RIBO, Marc, COGNARD, Christophe, HANEL, Ricardo A., SILVA, Cathy A., HASSAN, Ameer E., MILLAN, Monica, LEVY, Elad I., MITCHELL, Peter, CHEN, Michael, ENGLISH, Joey D., SHAH, Qaisar A., SILVER, Frank L., PEREIRA, Vitor M., MEHTA, Brijesh P., BAXTER, Blaise W., ABRAHAM, Michael G., CARDONA, Pedro, VEZNEDAROGLU, Erol, HELLINGER, Frank R., FENG, Lei, KIRMANI, Jawad F., LOPES, Demetrius K., JANKOWITZ, Brian T., FRANKEL, Michael R., COSTALAT, Vincent, VORA, Nirav A., YOO, Albert J., MALIK, Amer M., FURLAN, Anthony J., RUBIERA, Marta, AGHAEBRAHIM, Amin, OLIVOT, Jean-Marc, TEKLE, Wondwossen G., SHIELDS, Ryan, GRAVES, Todd, LEWIS, Roger J., SMITH, Wade S., LIEBESKIND, David S., SAVER, Jeffrey L., JOVIN, Tudor G., et DAWN TRIAL INVESTIGATORS, 2018.

Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct. *The New England Journal of Medicine*. 4 janvier 2018. Vol. 378, n° 1, pp. 11-21. DOI 10.1056/NEJMoa1706442.

NOSRAT, Irina V., SMITH, Christopher A., MULLALLY, Patrick, OLSON, Lars et NOSRAT, Christopher A., 2004. 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*. 2004. Vol. 19, n° 9, pp. 2388-2398. DOI 10.1111/j.0953-816X.2004.03314.x.

NUDO, R. J. et MILLIKEN, G. W., 1996. Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. *Journal of Neurophysiology*. mai 1996. Vol. 75, n° 5, pp. 2144-2149. DOI 10.1152/jn.1996.75.5.2144.

O'COLLINS, Victoria E., MACLEOD, Malcolm R., DONNAN, Geoffrey A., HORKY, Laura L., VAN DER WERP, Bart H. et HOWELLS, David W., 2006. 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Annals of Neurology*. mars 2006. Vol. 59, n° 3, pp. 467-477. DOI 10.1002/ana.20741.

O'DONNELL, Martin J, XAVIER, Denis, LIU, Lisheng, ZHANG, Hongye, CHIN, Siu Lim, RAO-MELACINI, Purnima, RANGARAJAN, Sumathy, ISLAM, Shofiqul, PAIS, Prem, MCQUEEN, Matthew J, MONDO, Charles, DAMASCENO, Albertino, LOPEZ-JARAMILLO, Patricio, HANKEY, Graeme J, DANS, Antonio L, YUSOFF, Khalid, TRUELSEN, Thomas, DIENER, Hans-Christoph, SACCO, Ralph L, RYGLEWICZ, Danuta, CZLONKOWSKA, Anna, WEIMAR, Christian, WANG, Xingyu et YUSUF, Salim, 2010. 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.

OHIRA, Koji, FURUTA, Takahiro, HIOKI, Hiroyuki, NAKAMURA, Kouichi C., KURAMOTO, Eriko, TANAKA, Yasuyo, FUNATSU, Nobuo, SHIMIZU, Keiko, OISHI, Takao, HAYASHI, Motoharu, MIYAKAWA, Tsuyoshi, KANEKO, Takeshi et NAKAMURA, Shun, 2010. Ischemia-induced neurogenesis of neocortical layer 1 progenitor cells. *Nature Neuroscience*. février 2010. Vol. 13, n° 2, pp. 173-179. DOI 10.1038/nn.2473.

OKANO, Hideyuki, SASAKI, Erika, YAMAMORI, Tetsuo, IRIKI, Atsushi, SHIMOGORI, Tomomi, YAMAGUCHI, Yoko, KASAI, Kiyoto et MIYAWAKI, Atsushi, 2016. Brain/MINDS: A Japanese National Brain Project for Marmoset Neuroscience. *Neuron*. 2 novembre 2016. Vol. 92, n° 3, pp. 582-590. DOI 10.1016/j.neuron.2016.10.018.

OKI, Koichi, TATARISHVILI, Jemal, WOOD, James, KOCH, Philipp, WATTANANIT, Somsak, MINE, Yutaka, MONNI, Emanuela, TORNERO, Daniel, AHLENIUS, Henrik, LADEWIG, Julia, BRÜSTLE, Oliver, LINDVALL, Olle et KOKAIA, Zaal, 2012. Human-Induced Pluripotent Stem Cells form Functional Neurons and Improve Recovery After Grafting in Stroke-Damaged Brain. *Stem Cells*. 1 juin 2012. Vol. 30, n° 6, pp. 1120-1133. DOI 10.1002/stem.1104.

ORR, Michael B. et GENSEL, John C., 2018. Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflammatory Responses. *Neurotherapeutics*. juillet 2018. Vol. 15, n° 3, pp. 541-553. DOI 10.1007/s13311-018-0631-6.

ORSET, Cyrille, MACREZ, Richard, YOUNG, Alan R., PANTHOU, Didier, ANGLES-CANO, Eduardo, MAUBERT, Eric, AGIN, Veronique et VIVIEN, Denis, 2007. Mouse Model of In Situ Thromboembolic Stroke and Reperfusion. *Stroke*. octobre 2007. Vol. 38, n° 10, pp. 2771-2778. DOI 10.1161/STROKEAHA.107.487520.

OTTENBACHER, K. J. et STULL, G. A., 1993. The analysis and interpretation of method comparison studies in rehabilitation research. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*. octobre 1993. Vol. 72, n° 5, pp. 266-271. DOI 10.1097/00002060-199310000-00003.

OUYANG, Qian, LI, Feng, XIE, Yu, HAN, Jianbang, ZHANG, Zhongfei, FENG, Zhiming, SU, Dazhuang, ZOU, Xiaoxiong, CAI, Yingqian, ZOU, Yuxi, TANG, Yanping et JIANG, Xiaodan, 2019. Meta-Analysis of the Safety and Efficacy of Stem Cell Therapies for Ischemic Stroke in Preclinical and Clinical Studies. *Stem Cells and Development*. 15 avril 2019. Vol. 28, n° 8, pp. 497-514. DOI 10.1089/scd.2018.0218.

PARK, Kook In, TENG, Yang D. et SNYDER, Evan Y., 2002. The injured brain interacts reciprocally with neural stem cells supported by scaffolds to reconstitute lost tissue. *Nature Biotechnology*. novembre 2002. Vol. 20, n° 11, pp. 1111-1117. DOI 10.1038/nbt751.

PAXINOS, G., WATSON, Charles, PETRIDES, M., ROSA, M. et TOKUNO, H., 2012. The marmoset brain in stereotaxic coordinates. In : [en ligne]. 2012. [Consulté le 24 février 2025]. Disponible à l'adresse : <https://www.semanticscholar.org/paper/The-marmoset-brain-in-stereotaxic-coordinates-Paxinos-Watson/79ece9f2ad8756f84aa6ac50eaac5a9594b21b8b>

PENFIELD, Wilder et RASMUSSEN, Theodore, 1950. *The cerebral cortex of man; a clinical study of localization of function*. Oxford, England : Macmillan. The cerebral cortex of man; a clinical study of localization of function.

PERETTO, Paolo et BONFANTI, Luca, 2015. Adult neurogenesis 20 years later: physiological function vs. brain repair. *Frontiers in Neuroscience* [en ligne]. 6 mars 2015. Vol. 9. [Consulté le 22 février 2025]. DOI 10.3389/fnins.2015.00071. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/neuroscience/articles/10.3389/fnins.2015.00071/full>

PIERDOMENICO, Laura, BONSI, Laura, CALVITTI, Mario, RONDELLI, Damiano, ARPINATI, Mario, CHIRUMBOLO, Gabriella, BECCHETTI, Ennio, MARCHIONNI, Cosetta, ALVIANO, Francesco, FOSSATI, Valentina, STAFFOLANI, Nicola, FRANCHINA, Michele, GROSSI, Alberto et BAGNARA, Gian Paolo, 2005. Multipotent Mesenchymal Stem Cells with Immunosuppressive Activity Can Be Easily Isolated from Dental Pulp. *Transplantation*. 27 septembre 2005. Vol. 80, n° 6, pp. 836. DOI 10.1097/01.tp.0000173794.72151.88.

PRABHAKARAN, Shyam, ZARAHN, Eric, RILEY, Claire, SPEIZER, Allison, CHONG, Ji Y., LAZAR, Ronald M., MARSHALL, Randolph S. et KRAKAUER, John W., 2008. Inter-individual variability in the capacity for motor recovery after ischemic stroke. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 2008. Vol. 22, n° 1, pp. 64-71. DOI 10.1177/1545968307305302.

PRASAD, Kameshwar, SHARMA, Alka, GARG, Ajay, MOHANTY, Sujata, BHATNAGAR, Shinjini, JOHRI, Sharat, SINGH, Kunwar Karni, NAIR, Velu, SARKAR, Ravi Shankar, GORTHI, Sankar Prasad, HASSAN, Kaukab Maqbool, PRABHAKAR, Sudesh, MARWAHA, Neelam, KHANDELWAL, Niranjana, MISRA, Usha Kant, KALITA, Jayantee, NITYANAND, Soniya, et FOR INVEST STUDY GROUP, 2014. Intravenous Autologous Bone Marrow Mononuclear Stem Cell Therapy for Ischemic Stroke. *Stroke*. décembre 2014. Vol. 45, n° 12, pp. 3618-3624. DOI 10.1161/STROKEAHA.114.007028.

PRIN, Pauline, 2023. Comment raisonner face à une atteinte des noyaux gris centraux ? *Revue Neurologique*. 1 avril 2023. Vol. 179, pp. S179. DOI 10.1016/j.neurol.2023.02.002.

PRODANOV, Dimiter et DELBEKE, Jean, 2016. Mechanical and Biological Interactions of Implants with the Brain and Their Impact on Implant Design. *Frontiers in Neuroscience*. 2016. Vol. 10, pp. 11. DOI 10.3389/fnins.2016.00011.

QIN, Chuan, YANG, Sheng, CHU, Yun-Hui, ZHANG, Hang, PANG, Xiao-Wei, CHEN, Lian, ZHOU, Luo-Qi, CHEN, Man, TIAN, Dai-Shi et WANG, Wei, 2022. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 6 juillet 2022. Vol. 7, n° 1, pp. 1-29. DOI 10.1038/s41392-022-01064-1.

REHMAN, Aqeeb Ur, MOHSIN, Aleenah, CHEEMA, Huzaifa Ahmad, ZAHID, Afra, EBAAD UR REHMAN, Muhammad, AMEER, Muhammad Zain, AYYAN, Muhammad, EHSAN, Muhammad, SHAHID, Abia, AEMAZ UR REHMAN, Muhammad, SHAH, Jaffer et KHAWAJA, Ayaz, 2023. Comparative efficacy and safety of tenecteplase and alteplase in acute ischemic stroke: A pairwise and network meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the Neurological Sciences*. 15 février 2023. Vol. 445, pp. 120537. DOI 10.1016/j.jns.2022.120537.

RICHARDSON, R. Mark, SINGH, Amanpreet, SUN, Dong, FILLMORE, Helen L., DIETRICH, Dalton W. et BULLOCK, M. Ross, 2010. Stem cell biology in traumatic brain injury: effects of injury and strategies for repair. *Journal of Neurosurgery*. mai 2010. Vol. 112, n° 5, pp. 1125-1138. DOI 10.3171/2009.4.JNS081087.

ROITBERG, Ben, KHAN, Naimath, TUCCAR, Eray, KOMPOLITI, Katie, CHU, Yaping, ALPERIN, Noam, KORDOWER, Jeffrey H. et EMBORG, Marina E., 2003. Chronic ischemic stroke model in cynomolgus monkeys: Behavioral, neuroimaging and anatomical study. *Neurological Research*. 1 janvier 2003. Vol. 25, n° 1, pp. 68-78. DOI 10.1179/016164103101200950.

RORDEN, Chris et BRETT, Matthew, 2000. Stereotaxic display of brain lesions. *Behavioural Neurology*. 1 janvier 2000. Vol. 12, n° 4, pp. 191-200.

ROUX, Franck-Emmanuel, NIARE, Mahamadou, CHARNI, Saloua, GIUSSANI, Carlo et DURAND, Jean-Baptiste, 2020. Functional architecture of the motor homunculus detected by electrostimulation. *The Journal of Physiology*. décembre 2020. Vol. 598, n° 23, pp. 5487-5504. DOI 10.1113/JP280156.

RUPALLA, Katrin, ALLEGRI, Peter R., SAUER, Dirk et WIESSNER, C., 1998. Time course of microglia activation and apoptosis in various brain regions after permanent

focal cerebral ischemia in mice. *Acta Neuropathologica*. 1 juillet 1998. Vol. 96, n° 2, pp. 172-178. DOI 10.1007/s004010050878.

RUSZNÁK, Zoltán, HENSKENS, Willem, SCHOFIELD, Emma, KIM, Woojin S. et FU, YuHong, 2016. Adult Neurogenesis and Gliogenesis: Possible Mechanisms for Neurorestoration. *Experimental Neurobiology*. juin 2016. Vol. 25, n° 3, pp. 103-112. DOI 10.5607/en.2016.25.3.103.

SAKAMOTO, Masayuki, KAGEYAMA, Ryoichiro et IMAYOSHI, Itaru, 2014. The functional significance of newly born neurons integrated into olfactory bulb circuits. *Frontiers in Neuroscience*. 26 mai 2014. Vol. 8, pp. 121. DOI 10.3389/fnins.2014.00121.

SAKKA, L., COLL, G. et CHAZAL, J., 2011. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*. 1 décembre 2011. Vol. 128, n° 6, pp. 309-316. DOI 10.1016/j.anorl.2011.03.002.

SALIKHOVA, Diana, BUKHAROVA, Tatiana, CHERKASHOVA, Elvira, NAMESTNIKOVA, Daria, LEONOV, Georgy, NIKITINA, Maria, GUBSKIY, Ilya, AKOPYAN, Gevorg, ELCHANINOV, Andrey, MIDIBER, Konstantin, BULATENCO, Natalia, MOKROUSOVA, Victoria, MAKAROV, Andrey, YARYGIN, Konstantin, CHEKHONIN, Vladimir, MIKHALEVA, Liudmila, FATKHUDINOV, Timur et GOLDSHTEIN, Dmitry, 2021. Therapeutic Effects of hiPSC-Derived Glial and Neuronal Progenitor Cells-Conditioned Medium in Experimental Ischemic Stroke in Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. janvier 2021. Vol. 22, n° 9, pp. 4694. DOI 10.3390/ijms22094694.

SANCHEZ-ROJAS, Leyre, GÓMEZ-PINEDO, Ulises, BENITO-MARTIN, María Soledad, LEÓN-ESPINOSA, Gonzalo, RASCÓN-RAMIREZ, Fernando, LENDINEZ, Cristina, MARTÍNEZ-RAMOS, Cristina, MATÍAS-GUIU, Jorge, PRADAS, Manuel Monleón et BARCIA, Juan A., 2019. Biohybrids of scaffolding hyaluronic acid biomaterials plus adipose stem cells home local neural stem and endothelial cells: Implications for reconstruction of brain lesions after stroke. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2019. Vol. 107, n° 5, pp. 1598-1606. DOI 10.1002/jbm.b.34252.

SANDERS, Marie, PETRASCH-PARWEZ, Elisabeth, HABBES, Hans-Werner, DÜRING, Monika v. et FÖRSTER, Eckart, 2021. Postnatal Developmental Expression Profile Classifies the Indusium Griseum as a Distinct Subfield of the Hippocampal Formation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 12 janvier 2021. Vol. 8, pp. 615571. DOI 10.3389/fcell.2020.615571.

SANES, Jerome N. et DONOGHUE, John P., 2000. Plasticity and Primary Motor Cortex. *Annual Review of Neuroscience*. mars 2000. Vol. 23, n° 1, pp. 393-415. DOI 10.1146/annurev.neuro.23.1.393.

SCHIRRMACHER, Ralf, DEA, Melvin, HEISS, Wolf-Dieter, KOSTIKOV, Alexey, FUNCK, Thomas, QUESSY, Stephan, BEDELL, Barry, DANCAUSE, Numa et THIEL, Alexander, 2016. Which Aspects of Stroke Do Animal Models Capture? A Multitracer Micro-PET Study of Focal Ischemia with Endothelin-1. *Cerebrovascular Diseases*. 1 mars 2016. Vol. 41, n° 3-4, pp. 139-147. DOI 10.1159/000442997.

SCHULZ, Jörg B., WELLER, Michael, MATTHEWS, Russell T., HENEKA, Michael T., GROSCURTH, Peter, MARTINOU, Jean-Claude, LOMMATZSCH, Jürgen, VON COELLN, Rainer, WÜLLNER, Ullrich, LÖSCHMANN, Peter-A., BEAL, M. Flint, DICHGANS, Johannes et KLOCKGETHER, Thomas, 1998. Extended therapeutic window for caspase inhibition and synergy with MK-801 in the treatment of cerebral histotoxic hypoxia. *Cell Death & Differentiation*. octobre 1998. Vol. 5, n° 10, pp. 847-857. DOI 10.1038/sj.cdd.4400420.

SCHWARCZ, R., HÖKFELT, T., FUXE, K., JONSSON, G., GOLDSTEIN, M. et TERENIUS, L., 1979. Ibotenic acid-induced neuronal degeneration: a morphological and neurochemical study. *Experimental Brain Research*. octobre 1979. Vol. 37, n° 2, pp. 199-216. DOI 10.1007/BF00237708.

SHIMADA, Issei S., LECOMTE, Matthew D., GRANGER, Jerrica C., QUINLAN, Noah J. et SPEES, Jeffrey L., 2012. Self-renewal and differentiation of reactive astrocyte-derived neural stem/progenitor cells isolated from the cortical peri-infarct area after stroke. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. 6 juin 2012. Vol. 32, n° 23, pp. 7926-7940. DOI 10.1523/JNEUROSCI.4303-11.2012.

SILVERMAN, Isaac E., RESTREPO, Lucas et MATHEWS, Gregory C., 2002. Poststroke seizures. *Archives of Neurology*. février 2002. Vol. 59, n° 2, pp. 195-201. DOI 10.1001/archneur.59.2.195.

SIMATS, Alba et LIESZ, Arthur, 2022. Systemic inflammation after stroke: implications for post-stroke comorbidities. *EMBO Molecular Medicine*. 7 septembre 2022. Vol. 14, n° 9, pp. e16269. DOI 10.15252/emmm.202216269.

SIMS, Neil R. et YEW, Wai Ping, 2017. Reactive astrogliosis in stroke: Contributions of astrocytes to recovery of neurological function. *Neurochemistry International*. juillet 2017. Vol. 107, pp. 88-103. DOI 10.1016/j.neuint.2016.12.016.

SMITH, Adrian J, CLUTTON, R Eddie, LILLEY, Elliot, HANSEN, Kristine E Aa et BRATTELID, Trond, 2018. PREPARE: guidelines for planning animal research and testing. *Laboratory Animals*. avril 2018. Vol. 52, n° 2, pp. 135-141. DOI 10.1177/0023677217724823.

SOLDATOV, Vladislav, VENEDIKTOV, Artem, BELYKH, Andrei, PIAVCHENKO, Gennadii, NAIMZADA, Mukhammad David, OGNEVA, Nastasya, KARTASHKINA, Natalia et BUSHUEVA, Olga, 2024. Chaperones vs. oxidative stress in the pathobiology of ischemic stroke. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 11 décembre 2024. Vol. 17, pp. 1513084. DOI 10.3389/fnmol.2024.1513084.

SOMMER, Clemens J., 2017. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathologica*. février 2017. Vol. 133, n° 2, pp. 245-261. DOI 10.1007/s00401-017-1667-0.

SOTO-CÁMARA, Raúl, GONZÁLEZ-BERNAL, Jerónimo J., GONZÁLEZ-SANTOS, Josefa, AGUILAR-PARRA, José M., TRIGUEROS, Rubén et LÓPEZ-LIRIA, Remedios, 2020. Knowledge on Signs and Risk Factors in Stroke Patients. *Journal of Clinical Medicine*. août 2020. Vol. 9, n° 8, pp. 2557. DOI 10.3390/jcm9082557.

SPALDING, Kirsty L., BERGMANN, Olaf, ALKASS, Kanar, BERNARD, Samuel, SALEHPOUR, Mehran, HUTTNER, Hagen B., BOSTRÖM, Emil, WESTERLUND, Isabelle, VIAL, Céline, BUCHHOLZ, Bruce A., POSSNERT, Göran, MASH, Deborah C., DRUID, Henrik et FRISÉN, Jonas, 2013. Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. *Cell*. 6 juin 2013. Vol. 153, n° 6, pp. 1219-1227. DOI 10.1016/j.cell.2013.05.002.

SPENCER, Kevin C., SY, Jay C., RAMADI, Khalil B., GRAYBIEL, Ann M., LANGER, Robert et CIMA, Michael J., 2017. Characterization of Mechanically Matched Hydrogel Coatings to Improve the Biocompatibility of Neural Implants. *Scientific Reports*. 16 mai 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 1952. DOI 10.1038/s41598-017-02107-2.

STEPANKOVA, Katerina, JENDELOVA, Pavla et MACHOVA URDZIKOVA, Lucia, 2021. Planet of the AAVs: The Spinal Cord Injury Episode. *Biomedicines*. juin 2021. Vol. 9, n° 6, pp. 613. DOI 10.3390/biomedicines9060613.

STINEAR, Cathy M., 2017. Prediction of motor recovery after stroke: advances in biomarkers. *The Lancet. Neurology*. octobre 2017. Vol. 16, n° 10, pp. 826-836. DOI 10.1016/S1474-4422(17)30283-1.

STONESIFER, Connor, COREY, Sydney, GHANEKAR, Shaila, DIAMANDIS, Zachary, ACOSTA, Sandra A. et BORLONGAN, Cesar V., 2017. Stem cell therapy for abrogating stroke-induced neuroinflammation and relevant secondary cell death mechanisms. *Progress in Neurobiology*. 1 novembre 2017. Vol. 158, pp. 94-131. DOI 10.1016/j.pneurobio.2017.07.004.

STURM, Jonathan W., DONNAN, Geoffrey A., DEWEY, Helen M., MACDONELL, Richard A.L., GILLIGAN, Amanda K. et THRIFT, Amanda G., 2004. Determinants of Handicap After Stroke. *Stroke*. mars 2004. Vol. 35, n° 3, pp. 715-720. DOI 10.1161/01.STR.0000117573.19022.66.

SUDA, Satoshi, NITO, Chikako, IHARA, Masafumi, IGUCHI, Yasuyuki, URABE, Takao, MATSUMARU, Yuji, SAKAI, Nobuyuki, KIMURA, Kazumi, et J- REPAIR TRIAL GROUP, 2022. Randomised placebo-controlled multicentre trial to evaluate the efficacy and safety of JTR-161, allogeneic human dental pulp stem cells, in patients with Acute Ischaemic stRoke (J-REPAIR). *BMJ open*. 24 mai 2022. Vol. 12, n° 5, pp. e054269. DOI 10.1136/bmjopen-2021-054269.

SUDA, Satoshi, NITO, Chikako, YOKOBORI, Shoji, SAKAMOTO, Yuki, NAKAJIMA, Masataka, SOWA, Kota, OBINATA, Hirofumi, SASAKI, Kazuma, SAVITZ, Sean I. et KIMURA, Kazumi, 2020. Recent Advances in Cell-Based Therapies for Ischemic Stroke. *International Journal of Molecular Sciences*. janvier 2020. Vol. 21, n° 18, pp. 6718. DOI 10.3390/ijms21186718.

TA, Hang Thu, DASS, Crispin R. et DUNSTAN, Dave E., 2008. Injectable chitosan hydrogels for localised cancer therapy. *Journal of Controlled Release*. 20 mars 2008. Vol. 126, n° 3, pp. 205-216. DOI 10.1016/j.jconrel.2007.11.018.

TAGUCHI, Akihiko, SAKAI, Chiaki, SOMA, Toshihiro, KASAHARA, Yukiko, STERN, David M., KAJIMOTO, Katsufumi, IHARA, Masafumi, DAIMON, Takashi, YAMAHARA, Kenichi, DOI, Kaori, KOHARA, Nobuo, NISHIMURA, Hiroyuki, MATSUYAMA, Tomohiro, NARITOMI, Hiroaki, SAKAI, Nobuyuki et NAGATSUKA, Kazuyuki, 2015. Intravenous Autologous Bone Marrow Mononuclear Cell Transplantation for Stroke:

Phase1/2a Clinical Trial in a Homogeneous Group of Stroke Patients. *Stem Cells and Development*. octobre 2015. Vol. 24, n° 19, pp. 2207-2218. DOI 10.1089/scd.2015.0160.

TAKAHASHI, Kazutoshi, TANABE, Koji, OHNUKI, Mari, NARITA, Megumi, ICHISAKA, Tomoko, TOMODA, Kiichiro et YAMANAKA, Shinya, 2007. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*. 30 novembre 2007. Vol. 131, n° 5, pp. 861-872. DOI 10.1016/j.cell.2007.11.019.

TAKAHASHI, Kazutoshi et YAMANAKA, Shinya, 2006. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 25 août 2006. Vol. 126, n° 4, pp. 663-676. DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024.

TAKEUCHI, Naoyuki et IZUMI, Shin-Ichi, 2012. Maladaptive plasticity for motor recovery after stroke: mechanisms and approaches. *Neural Plasticity*. 2012. Vol. 2012, pp. 359728. DOI 10.1155/2012/359728.

TARDIF, Suzette D., SMUCNY, Darlene A., ABBOTT, David H., MANSFIELD, Keith, SCHULTZ-DARKEN, Nancy et YAMAMOTO, Maria Emilia, 2003. Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Comparative Medicine*. août 2003. Vol. 53, n° 4, pp. 364-368.

TATA, Mathew, RUHRBERG, Christiana et FANTIN, Alessandro, 2015. Vascularisation of the central nervous system. *Mechanisms of Development*. 1 novembre 2015. Vol. 138, pp. 26-36. DOI 10.1016/j.mod.2015.07.001.

TEO, Leon et BOURNE, James A., 2014. A Reproducible and Translatable Model of Focal Ischemia in the Visual Cortex of Infant and Adult Marmoset Monkeys. *Brain Pathology*. 2014. Vol. 24, n° 5, pp. 459-474. DOI 10.1111/bpa.12129.

THAU, Lauren, REDDY, Vamsi et SINGH, Paramvir, 2025. Anatomy, Central Nervous System. In : *StatPearls* [en ligne]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. [Consulté le 12 février 2025]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542179/NBK542179>

THORED, Pär, ARVIDSSON, Andreas, CACCI, Emanuele, AHLENIUS, Henrik, KALLUR, Therése, DARSALIA, Vladimer, EKDAHL, Christine T., KOKAIA, Zaal et LINDVALL, Olle, 2006. Persistent Production of Neurons from Adult Brain Stem Cells During Recovery after Stroke. *Stem Cells*. 1 mars 2006. Vol. 24, n° 3, pp. 739-747. DOI 10.1634/stemcells.2005-0281.

TONG, F. C., ZHANG, X., KEMPF, D. J., YEPES, M. S., CONNOR-STROUD, F. R., ZOLA, S. et HOWELL, L., 2015. An Enhanced Model of Middle Cerebral Artery Occlusion in Nonhuman Primates Using an Endovascular Trapping Technique. *AJNR. American journal of neuroradiology*. décembre 2015. Vol. 36, n° 12, pp. 2354-2359. DOI 10.3174/ajnr.A4448.

TSUJI, Masahiro, OHSHIMA, Makiko, TAGUCHI, Akihiko, KASAHARA, Yukiko, IKEDA, Tomoaki et MATSUYAMA, Tomohiro, 2013. A novel reproducible model of neonatal stroke in mice: Comparison with a hypoxia-ischemia model. *Experimental Neurology*. 1 septembre 2013. Vol. 247, pp. 218-225. DOI 10.1016/j.expneurol.2013.04.015.

TULADHAR, Anup, OBERMEYER, Jaclyn M., PAYNE, Samantha L., SIU, Ricky C. W., ZAND, Sohrab, MORSHEAD, Cindi M. et SHOICHET, Molly S., 2020. Injectable hydrogel enables local and sustained co-delivery to the brain: Two clinically approved biomolecules, cyclosporine and erythropoietin, accelerate functional recovery in rat model of stroke. *Biomaterials*. mars 2020. Vol. 235, pp. 119794. DOI 10.1016/j.biomaterials.2020.119794.

TULADHAR, Anup, PAYNE, Samantha L. et SHOICHET, Molly S., 2018. Harnessing the Potential of Biomaterials for Brain Repair after Stroke. *Frontiers in Materials* [en ligne]. 12 mars 2018. Vol. 5. [Consulté le 1 mars 2025]. DOI 10.3389/fmats.2018.00014. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/materials/articles/10.3389/fmats.2018.00014/full>

UNNITHAN, Ajaya Kumar A., DAS, Joe M. et MEHTA, Parth, 2025. Hemorrhagic Stroke. In : *StatPearls* [en ligne]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing. [Consulté le 18 février 2025]. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559173/NBK559173>

VAYSSE, L., BEDUER, A., SOL, J. C., VIEU, C. et LOUBINOX, I., 2015. Micropatterned bioimplant with guided neuronal cells to promote tissue reconstruction and improve functional recovery after primary motor cortex insult. *Biomaterials*. 1 juillet 2015. Vol. 58, pp. 46-53. DOI 10.1016/j.biomaterials.2015.04.019.

VAYSSE, Laurence, CONCHOU, Fabrice, DEMAÏN, Boris, DAVOUST, Carole, PLAS, Benjamin, RUGGIERI, Cyrielle, BENKADDOUR, Mehdi, SIMONETTA-MOREAU, Marion et LOUBINOX, Isabelle, 2015. 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.

VIDAL, Berta, SANTELLA, Anthony, SERRANO-SALIZ, Esther, BAO, Zhirong, CHUANG, Chiou-Fen et HOBERT, Oliver, 2015. C. elegans SoxB genes are dispensable for embryonic neurogenesis but required for terminal differentiation of specific neuron types. *Development (Cambridge, England)*. 15 juillet 2015. Vol. 142, n° 14, pp. 2464-2477. DOI 10.1242/dev.125740.

VILLAPOL, Sonia, BYRNES, Kimberly R. et SYMES, Aviva J., 2014. Temporal Dynamics of Cerebral Blood Flow, Cortical Damage, Apoptosis, Astrocyte–Vasculature Interaction and Astroglialosis in the Pericontusional Region after Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Neurology*. 4 juin 2014. Vol. 5, pp. 82. DOI 10.3389/fneur.2014.00082.

VIRLEY, David, HADINGHAM, Sarah J., ROBERTS, Jenny C., FARNFIELD, Belinda, ELLIOTT, Heather, WHELAN, Greg, GOLDBERGER, Jackie, DAVID, Chris, PARSONS, Andrew A. et HUNTER, A. Jackie, 2004. 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*. 1 janvier 2004. Vol. 24, n° 1, pp. 24-41. DOI 10.1097/01.WCB.0000095801.98378.4A.

VON BARTHELD, Christopher S., 2018. Myths and truths about the cellular composition of the human brain: a review of influential concepts. *Journal of chemical neuroanatomy*. novembre 2018. Vol. 93, pp. 2-15. DOI 10.1016/j.jchemneu.2017.08.004.

VON BARTHELD, Christopher S., BAHNEY, Jami et HERCULANO-HOUZEL, Suzana, 2016. The Search for True Numbers of Neurons and Glial Cells in the Human Brain: A Review of 150 Years of Cell Counting. *The Journal of comparative neurology*. 15 décembre 2016. Vol. 524, n° 18, pp. 3865-3895. DOI 10.1002/cne.24040.

WALKER, Jeff, MACLEAN, Jason et HATSOPOULOS, Nicholas G., 2017. The marmoset as a model system for studying voluntary motor control. *Developmental Neurobiology*. mars 2017. Vol. 77, n° 3, pp. 273-285. DOI 10.1002/dneu.22461.

WANG, Xiaohong, 2013. Overview on Biocompatibilities of Implantable Biomaterials. In : PIGNATELLO, Rosario (éd.) [en ligne]. InTech. 27 mars 2013. [Consulté le 1 mars 2025]. ISBN 978-953-51-1051-4. Disponible à l'adresse : <http://www.intechopen.com/books/advances-in-biomaterials-science-and-biomedical-applications/overview-on-biocompatibilities-of-implantable-biomaterials>

WECHSLER, Lawrence R., BATES, Damien, STROEMER, Paul, ANDREWS-ZWILLING, Yaisa S. et AIZMAN, Irina, 2018. Cell Therapy for Chronic Stroke. *Stroke*. mai 2018. Vol. 49, n° 5, pp. 1066-1074. DOI 10.1161/STROKEAHA.117.018290.

WESTER, P., WATSON, B. D., PRADO, R. et DIETRICH, W. D., 1995. A photothrombotic « ring » model of rat stroke-in-evolution displaying putative penumbral inversion. *Stroke*. mars 1995. Vol. 26, n° 3, pp. 444-450. DOI 10.1161/01.str.26.3.444.

WIDIMSKY, Petr, SNYDER, Kenneth, SULZENKO, Jakub, HOPKINS, Leo Nelson et STETKAROVA, Ivana, 2023. Acute ischaemic stroke: recent advances in reperfusion treatment. *European Heart Journal*. 7 avril 2023. Vol. 44, n° 14, pp. 1205-1215. DOI 10.1093/eurheartj/ehac684.

WIEDENMANN, B, FRANKE, W W, KUHN, C, MOLL, R et GOULD, V E, 1986. Synaptophysin: a marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. mai 1986. Vol. 83, n° 10, pp. 3500-3504. DOI 10.1073/pnas.83.10.3500.

WINDLE, Victoria, SZYMANSKA, Aleksandra, GRANTER-BUTTON, Shirley, WHITE, Christopher, BUIST, Richard, PEELING, James et CORBETT, Dale, 2006. An analysis of four different methods of producing focal cerebral ischemia with endothelin-1 in the rat. *Experimental Neurology*. octobre 2006. Vol. 201, n° 2, pp. 324-334. DOI 10.1016/j.expneurol.2006.04.012.

WONG, Darice Y., KREBSBACH, Paul H. et HOLLISTER, Scott J., 2008. Brain cortex regeneration affected by scaffold architectures. [en ligne]. 1 octobre 2008. [Consulté le 18 mars 2025]. DOI 10.3171/JNS/2008/109/10/0715. Disponible à l'adresse : <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/109/4/article-p715.xml>

WU, Di, CHANDRA, Ankush, CHEN, Jian, DING, Yuchuan et JI, Xunming, 2018. Endovascular Ischemic Stroke Models in Nonhuman Primates. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. janvier 2018. Vol. 15, n° 1, pp. 146-155. DOI 10.1007/s13311-017-0586-z.

WU, Qiu Jing et TYMIANSKI, Michael, 2018. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. *Molecular Brain*. 13 mars 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 15. DOI 10.1186/s13041-018-0357-8.

XIONG, Xiao-Yi, LIU, Liang et YANG, Qing-Wu, 2018. Refocusing Neuroprotection in Cerebral Reperfusion Era: New Challenges and Strategies. *Frontiers in Neurology* [en ligne]. 23 avril 2018. Vol. 9. [Consulté le 19 février 2025]. DOI 10.3389/fneur.2018.00249. Disponible à l'adresse : <https://www.frontiersin.org/journals/neurology/articles/10.3389/fneur.2018.00249/full>

YANAGISAWA, Masashi, KURIHARA, Hiroki, KIMURA, Sadao, GOTO, Katsutoshi et MASAKI, Tomoh, 1988. A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *Journal of Hypertension*. décembre 1988. Vol. 6, n° 4, pp. S188.

YANG, Jia-Lei, FAN, Hong, FU, Fan-Fan, GUO, Bao-Lin, HUANG, Ying, SUN, Li, WANG, Wen-Ting, XING, Jun-Ling, HU, Xin-Tian, DING, Yu-Qiang, ZHANG, Kun, HU, Ying-Zhou et WANG, Ya-Zhou, 2023. Transient neurogenesis in ischemic cortex from Sox2⁺ astrocytes. *Neural Regeneration Research*. juillet 2023. Vol. 18, n° 7, pp. 1521-1526. DOI 10.4103/1673-5374.357910.

YANG, Li, SHAH, Kaushik K. et ABBRUSCATO, Thomas J., 2012. An In Vitro Model of Ischemic Stroke. In : MILNER, Richard (éd.), *Astrocytes: Methods and Protocols* [en ligne]. Totowa, NJ : Humana Press. pp. 451-466. [Consulté le 27 février 2025]. ISBN 978-1-61779-452-0. Disponible à l'adresse : https://doi.org/10.1007/978-1-61779-452-0_30

YELNIK, A., 2022. Récupération de la motricité après accident vasculaire cérébral. Facteurs pronostiques et rééducation. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. 1 mai 2022. Vol. 206, n° 5, pp. 594-603. DOI 10.1016/j.banm.2022.02.016.

YENARI, Midori A., KAUPPINEN, Tiina M. et SWANSON, Raymond A., 2010. Microglial Activation in Stroke: Therapeutic Targets. *Neurotherapeutics*. 1 octobre 2010. Vol. 7, n° 4, pp. 378-391. DOI 10.1016/j.nurt.2010.07.005.

YU, Hongwei, CAO, Bo, FENG, Meiyang, ZHOU, Qiang, SUN, Xiaodong, WU, Shuliang, JIN, Shizhu, LIU, Huiwen et LIANHONG, Jin, 2010. Combined Transplantation of Neural Stem Cells and Collagen Type I Promote Functional Recovery After Cerebral Ischemia in Rats. *The Anatomical Record*. 2010. Vol. 293, n° 5, pp. 911-917. DOI 10.1002/ar.20941.

YUAN, Jishan, MATURAVONGSADIT, Panita, METAVARAYUTH, Kamolrat, LUCKANAGUL, Jittima Amie et WANG, Qian, 2019. Enhanced Bone Defect Repair by Polymeric Substitute Fillers of MultiArm Polyethylene Glycol-Crosslinked Hyaluronic Acid Hydrogels. *Macromolecular Bioscience*. 2019. Vol. 19, n° 6, pp. 1900021. DOI 10.1002/mabi.201900021.

YUASA, Shigeki, NAKAMURA, Katsuki, KOHSAKA, Shinichi, YUASA, Shigeki, NAKAMURA, Katsuki et KOHSAKA, Shinichi, 2010. *Stereotaxic Atlas of the Marmoset Brain*. National Institute of Neuroscience (JP). ISBN 978-4-9905092-0-0.

ZAAIMI, Boubker, SOTEROPOULOS, Demetris S., FISHER, Karen M., RIDDLE, C. Nicholas et BAKER, Stuart N., 2018. Classification of Neurons in the Primate Reticular Formation and Changes after Recovery from Pyramidal Tract Lesion. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*. 4 juillet 2018. Vol. 38, n° 27, pp. 6190-6206. DOI 10.1523/JNEUROSCI.3371-17.2018.

ZAMANIAN, Jennifer L., XU, Lijun, FOO, Lynette C., NOURI, Navid, ZHOU, Lu, GIFFARD, Rona G. et BARRES, Ben A., 2012. Genomic Analysis of Reactive Astrogliosis. *The Journal of Neuroscience*. 2 mai 2012. Vol. 32, n° 18, pp. 6391-6410. DOI 10.1523/JNEUROSCI.6221-11.2012.

ZENG, Lang, HU, Shengqi, ZENG, Lingcheng, CHEN, Rudong, LI, Hua, YU, Jiasheng et YANG, Hongkuan, 2023. Animal Models of Ischemic Stroke with Different Forms of Middle Cerebral Artery Occlusion. *Brain Sciences*. juillet 2023. Vol. 13, n° 7, pp. 1007. DOI 10.3390/brainsci13071007.

ZHANG, Gui-Long, ZHU, Zhi-Han et WANG, Ye-Zhong, 2019. 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.

ZHANG, R. L., ZHANG, Z. G., ZHANG, L. et CHOPP, M., 2001. Proliferation and differentiation of progenitor cells in the cortex and the subventricular zone in the adult rat after focal cerebral ischemia. *Neuroscience*. 16 juillet 2001. Vol. 105, n° 1, pp. 33-41. DOI 10.1016/S0306-4522(01)00117-8.

ZHANG, Sheng, ZHU, Xiaoqing, GUI, Xuehong, CROTEAU, Christopher, SONG, Lanying, XU, Jie, WANG, Aijun, BANNERMAN, Peter et GUO, Fuzheng, 2018. Sox2 Is Essential for Oligodendroglial Proliferation and Differentiation during Postnatal Brain Myelination and CNS Remyelination. *The Journal of Neuroscience*. 14 février 2018. Vol. 38, n° 7, pp. 1802-1820. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1291-17.2018.

ZHANG, Tao, SHEN, Yixin, LU, Leilei, FAN, Zhihai et HUO, Weiwei, 2013. [Effect of chondroitinase ABC on axonal myelination and glial scar after spinal cord injury in rats]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi = Zhongguo Xiufu Chongjian Waike Zazhi = Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*. février 2013. Vol. 27, n° 2, pp. 145-150.

ZHANG, Xiaodong, TONG, Frank, LI, Chun-Xia, YAN, Yumei, KEMPF, Doty, NAIR, Govind, WANG, Silun, MULY, E. Chris, ZOLA, Stuart et HOWELL, Leonard, 2015. Temporal evolution of ischemic lesions in nonhuman primates: a diffusion and perfusion MRI study. *PloS One*. 2015. Vol. 10, n° 2, pp. e0117290. DOI 10.1371/journal.pone.0117290.

ZHAO, Chunmei, DENG, Wei et GAGE, Fred H., 2008. Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell*. 22 février 2008. Vol. 132, n° 4, pp. 645-660. DOI 10.1016/j.cell.2008.01.033.

ZHONG, Jin, CHAN, Albert, MORAD, Leeron, KORNBLUM, Harley I., FAN, Guoping et CARMICHAEL, S. Thomas, 2010. Hydrogel Matrix to Support Stem Cell Survival After Brain Transplantation in Stroke. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 1 septembre 2010. Vol. 24, n° 7, pp. 636-644. DOI 10.1177/1545968310361958.

Annexes

Annexe 1 :

Récupération motrice des rats avec neuro-implants

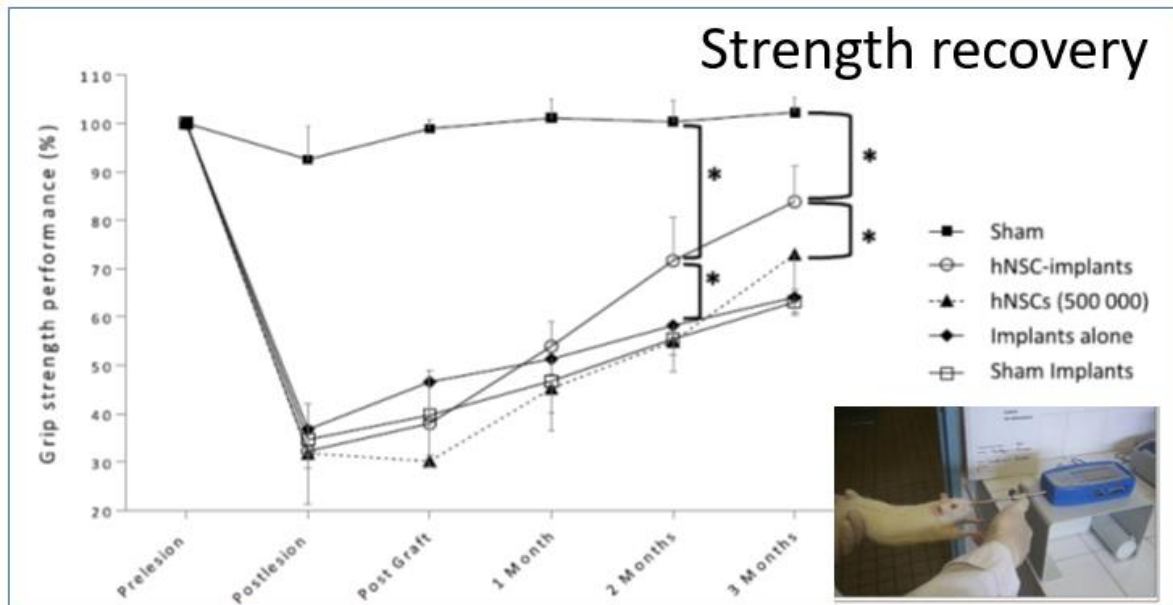


Figure 33 - Annexe 1. Graphique présentant les différences de récupération de force motrice entre les rats des différents groupes de l'étude. Graphique issu de l'article intitulé « Regenerative potential of primary adult human neural stem cells on micropatterned bio-implants boosts motor recovery » (Davoust et al. 2017) étudiant l'impact de la présence d'implants 2D avec ou sans cellules souches humaines sur la récupération motrice chez des rats cérébrolésés. La force de préhension a été mesurée à différents moments chez les rats de l'étude après transplantation d'implants 2D en PDMS préalablement ensemencés avec des cellules hNSCs (« human primary adult neural stem cells ») (« hNSC Implants group », n = 15), ou après implantation seule (« Implants Alone group », n = 8), ou encore après greffe seule de cellules neurales en suspension (« hNSCs group », 500,000 cells, n = 6). Les rats contrôles ont été « sham »-opérés pour la lésion (« Sham group », n = 8) ou pour l'implantation (« Sham Implants group », n = 10). Les analyses statistiques ont été effectuées avec un modèle linéaire à effet mixte (différences significatives reportées sur le graphique à 2 et 3 mois, *p < 0.05).

Annexe 2 :

Performances motrices des marmousets implantés et lésés

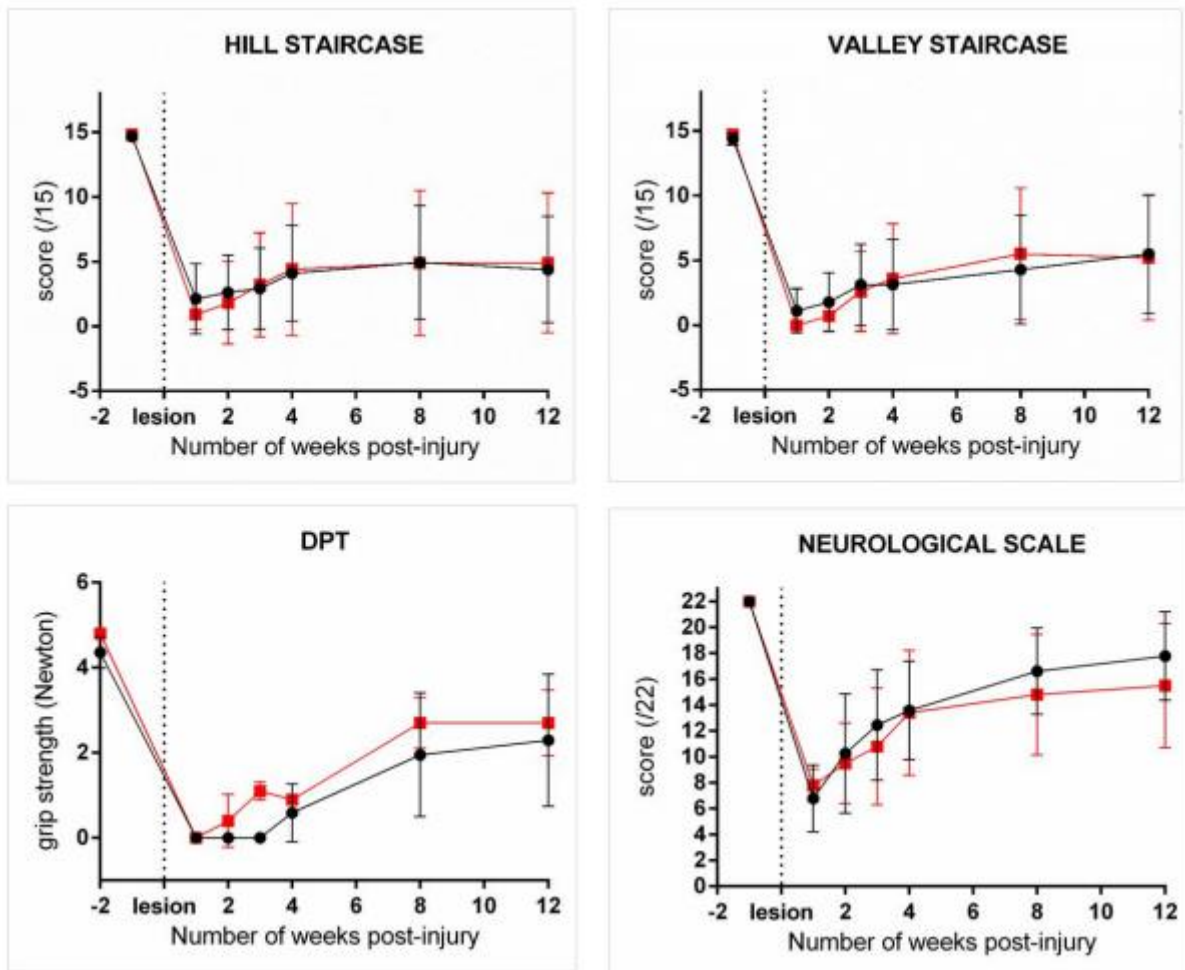


Figure 34 - Annexe 2. Graphiques présentant les performances motrices des marmousets implantés avec un biomatériau seul et des marmousets seulement lésés. Les performances du membre thoracique controlatéral chez les marmousets des groupes lésés (ronds noirs) et implantés (carrés rouges) sont illustrés avec la moyenne et l'écart-type. Il n'y avait pas de différence significative entre les scores des 2 groupes pour les tests comportementaux des « staircases » vallée et colline (n=11 lésés, n=4 implants), du « dynamometric pull test » ou DPT (n=5 lésés, n=2 implants, puisque seuls les animaux ayant été capables d'utiliser l'appareil sont illustrés) ou pour le score d'échelle neurologique (n=9 lésés, n=4 implants). La figure et les graphiques sont issus de la thèse d'Alice LeFric, 2020.

Annexe 3 :

Volumes lésionnels des marmousets implantés et lésés

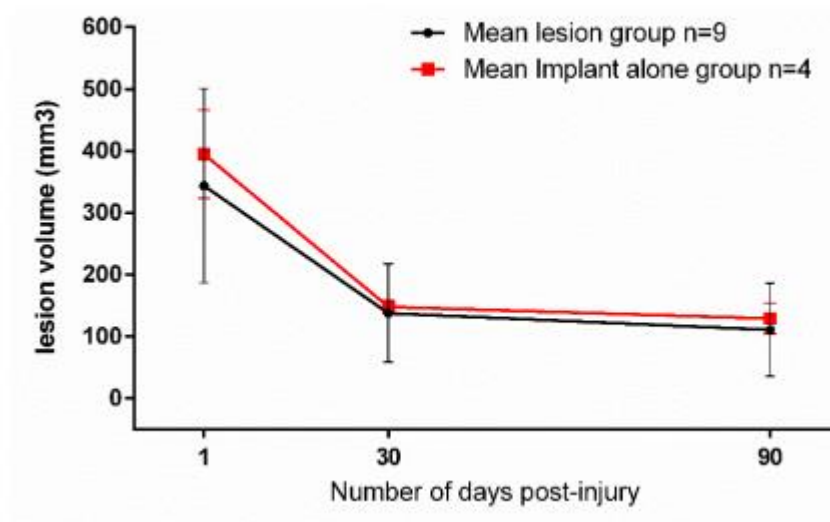


Figure 35 - Annexe 3. Courbes présentant l'évolution des volumes lésionnels (mm³) chez les marmousets implantés et lésés. Les volumes lésionnels à 24h, 30 jours et 90 jours après lésion des marmousets des groupes non implantés/lésés (ronds noirs) et implantés (carrés rouges) sont illustrés avec la moyenne et l'écart-type. Les biomatériaux ont été implantés 10 jours après la lésion. On peut voir ici que la présence d'implants ne semble pas avoir d'effet délétère sur la taille de la lésion. La figure et les graphiques sont issus de la thèse d'Alice LeFric, 2020.

Annexe 4 :

IRM fonctionnelle réalisée sur le marmouset implanté TooSpeed

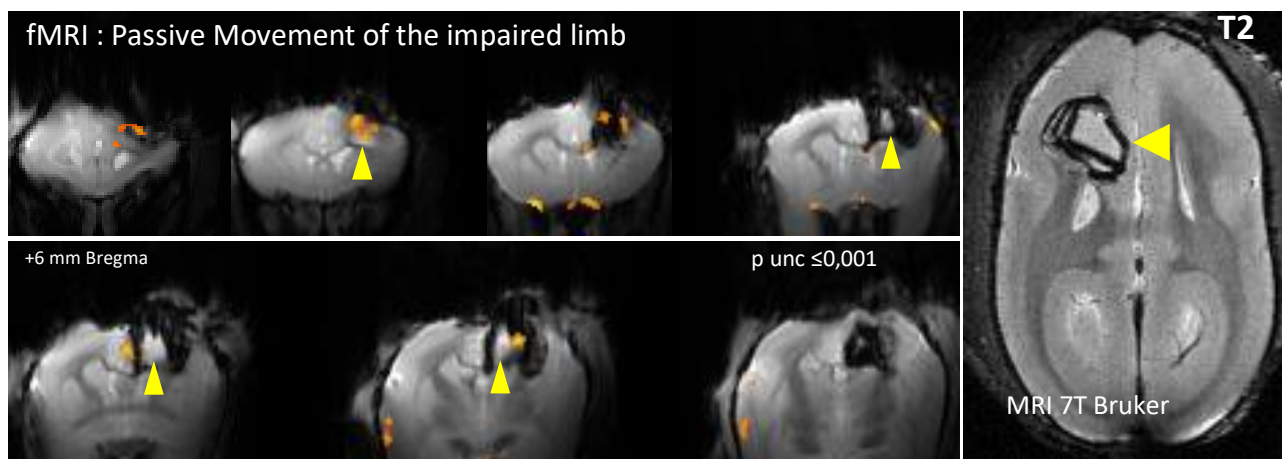


Figure 36 – Annexe 4. Images de l'IRM fonctionnelle réalisée sur le marmouset implanté TooSpeed. Réalisation de 5 cycles de 30s repos - 30s activation (avec environ 25 mouvements par bloc de 30s), pour chaque membre. Séquences EPI (Echo-Planar Imaging) acquises avec les paramètres suivants : TR/TE = 2000/15,81 ms, Flip angle = 90°, single shot, FOV = 40 x 40 mm, 28 coupes de 1 mm, résolution = 0,3 x 0,3 x 1 mm (voxels = 134 x 134 x 28 mm³), 150 volumes par séquence, temps acquisition = 300s (5 minutes). La flèche jaune pointe le tissu en reconstruction et les clusters oranges illustrent l'activation des zones lésées obtenue lors de la réalisation de mouvements passifs avec le membre déficitaire du marmouset. Le tissu en reconstruction apparaît en noir sur les images EPI. Les implants apparaissent en noirs sur l'image T2.

Annexe 5 :

Fiche suivi de la chirurgie lésionnelle au malonate des marmousets

DATE :	NOM :	N°PUCE :	HEMISPHERE lésé :	SEXE :	POIDS :
--------	-------	----------	----------------------	--------	---------

ATTENTION : La veille : Terramycine longue action (0.02 mg/kg) : _____ ml
(moyenne : 0.035 ml)

Lésion induite par : **malonate** Concentration : **3M**

Préparation → Pesée : **498.12 mg** Volume : **1 ml (PBS stérile) filtré 0.45µm**

Rq : Préparation du **Malonate 3M** (toujours le jour de l'opération, ne se conserve pas car cristallise) :

- Sodium malonate dibasic monohydrate #M4795 (Sigma)
- PM : 166.04 , Solution à 3M → 498.12 g/l
- Peser 498.12 mg à resuspendre dans 1 ml de PBS stérile, vortexer et filtrer à 0.45 µm

Vétergesic (25 µg/kg, analgésie) : _____ ml

Robinul (0.01 mg/kg, choc vagal) : _____ ml (moyenne : 0.017 ml)

Attendre 15 à 30 min, les laisser dans la caisse à chat.

Induction anesthésie : Alfaxan (7mg/kg) : _____ ml (moyenne : 0.3 ml)

Tonte du crâne + rasage (rasoir trempé dans bétadine rouge)

Installation du marmouset sur la table de chirurgie

Mise en place contrôle fréquence cardiaque, pO2, sonde anale + Tronathane (antalgique)

Couverture chauffante

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Injectons :

- Laocaïne sous-cutanée : 0.15 ml en deux injections de part et d'autre de l'incision cutanée
- Dexadreson (2 mg/kg) : _____ ml (moyenne : 0.35 ml)

Mise en place des barres d'oreilles + xylocaïne visqueuse ou chlorhydrate de promocaïne 1p100

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Anesthésie gazeuse (isoflurane à _____ %)

Débit 1 L/min concentrateur d'oxygène

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Mise en place des champs stériles

Habillage stérile (blouse, charlotte, gants)

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Incision cutanée + écartement de la galéa

Isoflurane : _____ %

Repérage au crayon à papier du lieu de forage : 6 mm en avant du Bregma, 4,5 mm en latéral Latéralité :

Fraisage ou nettoyage tissu cicatriciel

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Aspect de dure-mère / Cortex : _____

Placement du micro-injecteur

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Injection de 8 µL de Malonate 3M à 1 µL/min

Début :

Fin :

5 min d'attente puis aiguille retirée

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Suture peau, Vicryl 3-0, points à l'intérieur

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Coupure de l'isoflurane

Désinfection bétadine rouge

Ercefilm

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Retrait des champs, sondes, arrêt anesthésie gazeuse

Réveil, retour en cage

Si animal prostré dans l'après-midi : Dexadreson[®] (dose choc de 2mg/Kg) : 0.35 ml

24h post opération : Dexadreson[®] (0.5 mg/Kg BID) : 0.09 ml

48h post opération : Dexadreson[®] (0.5 mg/Kg BID) : 0.09 ml

Annexe 6 :

Fiche suivi de la chirurgie d'implantation des marmousets

DATE :	NOM :	N°PUCE :	HEMISPHERE lésé :	SEXE :	POIDS :
--------	-------	----------	----------------------	--------	---------

Implantation de : 5 implants en PDMS microstructurés, chacun aux dimensions 4mm*2mm*0,25mm, coatés polylysine + laminine, sans cellules

Volume de la lésion : _____ ; encombrement final microstructures : _____

AINS : Tolfedine (1 mg/kg) : _____ ml (vers 8h, **2h avant la chirurgie**) (moyenne : 0.035 ml)

Robinul (0.01 mg/kg, choc vagal) : _____ ml (moyenne : 0.017 ml)

Attendre 15 à 30 min, les laisser dans la caisse à chat.

Induction anesthésie : Alfaxan (7mg/kg) : _____ ml (moyenne : 0.3 ml)

Tonte du crâne + rasage (rasoir trempé dans bétadine rouge)

Installation du marmouset sur la table de chirurgie

Mise en place contrôle fréquence cardiaque, pO₂, sonde anale + Tronathane (antalgique)

Couverture chauffante

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Injection Dexadreson (0.5 mg/kg) : _____

Anesthésie gazeuse (isoflurane à _____ %)

Débit 1 l/min concentrateur d'oxygène

Mise en place des barres d'oreilles + xylocaïne visqueuse

Fréquence cardiaque : _____

pO₂ : _____

T° : _____

Nettoyage du crâne (bétadine/alcool 70° X3 + bétadine jaune)

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Mise en place des champs stériles

Habillage stérile (blouse, charlotte, gants)

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Incision cutanée + écartement de la galéa

Isoflurane : _____ %

Volet crânien : dimension :

*garder le volet crânien dans du NaCl stérile

Isoflurane _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Aspect de dure-mère / Cortex :

Cureter 0.5 mm³ **maximum** de tissu lésé/nécrotique pour faire de la place pour les implants

Implantation des implants seuls coâtés

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Ciment dentaire

Suture peau, Vicryl 3-0 BBplus, points à l'intérieur

Isoflurane : _____ %

Fréquence cardiaque : _____

pO2 : _____

T° : _____

Terramycine (0.02 mg/kg) : _ _ _ _ _ ml

Retrait des champs, sondes, arrêt anesthésie gazeuse

Coupure de l'isoflurane

Désinfection bétadine rouge

Ercefilm

Fréquence cardiaque : _ _ _ _ _

pO₂ : _ _ _ _ _

T° : _ _ _ _ _

Retour en cage

Si animal prostré dans l'après-midi : Dexadreson (dose choc 2 mg/kg) : 0.3 ml

24h post opération : Dexadreson (0.5 mg/kg BID) : 0.08 ml

48h post opération : Dexadreson (0.5 mg/kg BID) : 0.08 ml

ATTENTION : en cas d'arrêt respiratoire : Dopram (intranasal) : 2 gouttes dans le nez ou la bouche. Si insuffisant : 0.87 mg/ml soit 0.035 ml (voie : IV si possible, sinon sous-cutané ou intrapéritonéal).

Annexe 7 :

Protocole de perfusion intracardiaque par gravité chez le marmouset

Préparation des solutions

- NaOH 10N (=10M) : 40g NaOH (en pastille) qsp 100 ml ED

→ **A préparer sous sorbonne**, le NaOH est corrosif à cette concentration + réaction de dissolution exothermique, évaporation de gaz

- Tampon Hépariné : 9g NaCl (SIGMA #G-7653) dans 1 litre d'ED. Au moment de l'utilisation : ajouter 5000 UI (= 50 mg) d'héparine (SM : 5000UI/ml)

- Solution de sucrose : Préparer des solutions de sucrose à 10, 20 et 30% = 10, 20 ou 30g pour 100ml de Tampon PB 0.1M.

Pour conserver la solution de sucrose : 0.1 g d'Azide pour 100 ml de sucrose

- Tris 0.1M (150ml) : 19.8g Tris HCl, 2.9g Tris Base, qsp 150ml d'ED

- Solution cryoprotectrice (600ml) : 5.4g NaCl + 150 ml Tris 0.1M (soit 3.6% NaCl final).
Ajuster le pH à 7.4 avec du NaOH

Ajouter : 180 ml d'Éthylène Glycol + 180 ml de Glycérol + 90 ml d'ED

- Tampon Phosphate (PB) 0.2M pH7.2 :

* Préparer 1L de Solution A 0.2M : 28,392 g de Na_2HPO_4 (MW 141,96) dans 1 L d'ED

* Préparer 1L de Solution B 0.2M : 24 g de NaH_2PO_4 (MW 120) dans 1 L ED

* Mélange des solutions A et B en fonction du pH voulu (V_f : 50 ml) : soit pour 1 L de PB 0.2M pH7.2 : 720 ml de Solution A + 280 ml de solution B

- PFA 4% (Paraformaldéhyde) : Stockage à 4°C pour 48h max ; Stockage à long terme en aliquots à -20°C.

* Dilution au 1/9^e de formaldéhyde 36% en solution concentrée (VWR #20910.294 ; stabilisé avec 10% de Méthanol) avec du tampon PB 0.1M (*conseil : préparer le PB à pH 7.2*):

→ 111 ml de PFA 36% + 850 ml PB 0.1M (ou 425 ml PB 0.2M + 425 ml ED)

→ Ajuster le pH entre 6.9 et 7.4 (avec NaOH 10M, pas d'HCl !)

→ Rajouter du PB 0.1M qsp 1L

(Correspond à 111 ml de PFA 36% et 889 ml de PB0.1M pH7.2)

Procédure

La veille :

- Préparer la salle de chirurgie et le petit matériel (grilles, attaches, EPI' stériles)
- Installer les poches à perfusion (une pour le tampon hépariné, une pour le PFA) à env. 1m40 de la surface prévue pour la perfusion (évier surmonté d'une grille) grâce aux cordes d'attaches et placer les tubulures et le robinet de contrôle.
- Préparer le PFA 4% et le stocker à 4°C pour qu'il soit froid le lendemain : par animal, prévoir 250 ml pour la perfusion et 35 ml pour la post-fixation
- Préparer 1 petit pot avec ~35 ml de PFA 4% par animal pour le bain de post-fixation (stocker à 4°C)
- Préparer le tampon le tampon NaCl (sans l'héparine) : prévoir 200 à 250 ml par animal
- Prévoir de l'eau désionisée pour rincer les poches et tubulures

Le jour même :

1) Préparation et Installation du plan de travail, en salle nécropsie :

- A l'avance : faire chauffer le tampon NaCl (étuve ou bain-marie) à 37°C
- Utilisation d'un système d'évier permettant de récupérer le sang et le PFA (en bidon), recouvert d'une grille pour la manipulation et d'un système d'aspiration permettant de manipuler le PFA
- Placer la grille au-dessus de l'évier
- Poser les instruments sur la grille : pince, ciseaux, clamp, instrument de maintien, cathéter
- Quand le tampon NaCl 9% est chaud, ajouter 1 ml d'Héparine pour 1L de tampon = tampon hépariné ; puis le transférer dans la 1^{ère} poche
- Transférer le PFA 4% dans la 2eme poche (sous l'extracteur et avec gants Nitriles !)
- Ouvrir le robinet de contrôle pour faire passer alternativement le tampon hépariné et le PFA dans les tubulures et supprimer les bulles
- La pression obtenue est dépendante de la hauteur entre les poches et la perfusion (l'animal) et le débit est réglé via les molettes des robinets de contrôle

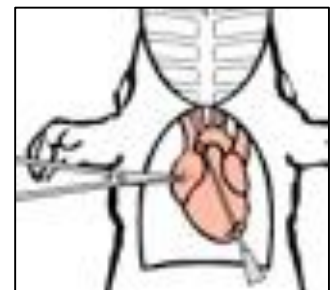
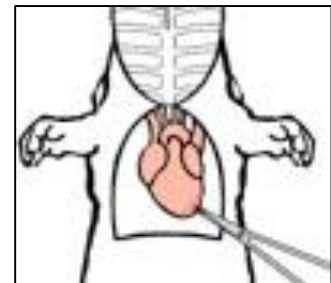
2) Anesthésie :

- Prévoir un antalgique (ex : Vétergesic ou pentobarbital (IP) 100mg/kg) sauf si prélèvements d'organes avant perfusion)
- Préparer l'anesthésique, Alfaxan 18mg/Kg (solution à 10mg/ml) : Préparer une première seringue d'Alfaxan avec 0.2ml et une deuxième avec le volume restant.

- Dans l'animalerie, avec un filet et des gants épais, attraper le marmouset. Le coincer à l'intérieur de la cage avec un filet, puis l'attraper en dessous des bras fermement.
- Passez dans la salle de soin de l'animalerie marmouset. Bien tendre une des pattes arrière et injecter en IM la 1^{ère} seringue d'Alfaxan (0.2ml)
- Passez dans la salle chirurgie, et injecter le reste de l'Alfaxan en IM.

3) Perfusion intracardiaque :

- Placer l'animal sur la grille en position dorsale
- Attacher les pattes avant à la grille avec une tubulure plastique
- Dissection pour accéder au cœur : couper la peau avec les gros ciseaux à bout rond, bien couper sous les côtes, attention à ne pas couper les poumons. Couper la membrane du sternum en dernier
- Repérer l'aorte longeant la colonne vertébrale et clamper (afin de garder la partie supérieure du corps en circuit-fermé) (1^{er} cran du clamp)
- Tenir le cœur avec les doigts ou une pince embout griffe
- Repérer l'apex (pointe en bas du cœur, légèrement orienté vers notre droite, tissu plus clair chez le marmouset)
- Faire une bonne incision verticale avec les petits ciseaux fins et pointus au niveau du ventricule gauche
- Passer le cathéter dans l'ouverture (le cœur doit encore battre !), traverser le cœur de façon à voir l'extrémité du cathéter au début de la crosse aortique
- Stabiliser le cathéter
- Ouvrir le robinet pour la perfusion de tampon hépariné
- Inciser l'oreillette droite
- Perfuser 150 à 250ml de tampon hépariné par animal (le sang s'écoule dans l'évier via l'oreillette droite incisée) : perfuser jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de sang qui s'écoule (seulement du tampon). RQ : durée moyenne de perfusion : 30 min
- Vérifier que l'on porte bien des gants nitrile avant la suite
- Positionner l'extracteur au-dessus de l'animal et l'allumer
- Modifier l'évacuation de l'évier pour la récupération en bidon
- Modifier les robinets de contrôle des poches à perfusion afin de perfuser le PFA 4%
- Perfuser environ 250 ml de PFA par animal (diminuer légèrement le débit) → les pattes et le visage blanchissent, et tout le haut du corps se raidit. RQ : durée moyenne de perfusion : 45 min à 1h
- Quand le haut du corps de l'animal est bien raide (bien perfusé), retirer le cathéter.



- Penser à bien rincer les poches et tubulures en faisant passer de l'eau désionisée (puis les faire sécher sous sorbonne)

4) Extraction du cerveau (sous sorbonne) :

- Inciser la peau et les muscles du cou avec un scalpel ou un ciseau
- Couper la tête du marmouset avec les très gros ciseaux
- Décoller la peau à partir du cou, la retourner au niveau du visage (pour faire une prise). Enlever les muscles autour et dégager la moelle
- Avec la pince à crochet/pince à os, à partir de la base du crâne (colonne vertébrale/moelle), casser progressivement les os du crâne jusqu'à découvrir entièrement le cerveau. Essayer de conserver les méninges (membrane) le temps de la dissection, pour protéger le cerveau des coups de pinces.
- Passer sous le cerveau pour sectionner plusieurs nerfs dont les nerfs optiques.
- A la fin, enlever les méninges.
- Mettre le cerveau dans un bain de post-fixation avec PFA 4% (~10 fois le volume du cerveau) et à 4°C pendant minimum 24h.

5) Passage du cerveau dans le sucrose :

- Mettre le cerveau dans plusieurs bains de PBS successifs, à 4°C pendant 24h, avec agitations régulières
- Faire plusieurs bains de sucrose : bain 1 à 10% de sucrose, bain 2 à 20% de sucrose, bain 3 à 30% de sucrose
- Les changements de bains s'effectuent lorsque le cerveau a coulé au fond du bain, signe qu'il est bien imbibé de sucrose
- Le cerveau peut ainsi rester 1 semaine maximum dans le sucrose 30% afin de réaliser des coupes
- Si on rajoute 0.1% d'azide dans le dernier bain de sucrose, le cerveau peut rester 6 mois à 4°C
- Eviter au max de congeler le cerveau. Sinon le mettre en solution cryoprotectrice et à -20°C.

Annexe 8 :

Réalisation de coupes de cerveau au cryomicrotome

Microtome à glissière Leica SM2010R

1- Préparation des solutions

Tampon TRIS 0.1M (pH7.4) :

Tris HCL (Sigma #T3253)	3,30 g (~83mM)	6,61 g	13,22 g	26,44 g
Tris Base (Sigma #T1503)	0,48 g (~16mM)	0,97 g	1,94 g	3,88 g
ED (eau désionisée)	250 ml	500 ml	1 L	2 L

Solution cryoprotectrice :

Pour 1 Litre :

- 9 g NaCl (Fluka #71378) + 250 ml de tampon TRIS 0.1M (pH7.4)
- Ajuster le pH à 7.4 (avec NaOH ou HCl)
- Ajouter : 300 ml de Glycérol (Promega #H5433) + 300 ml d'Éthylène Glycol (Honeywell #03750) + 150 ml d'ED

Tampon PB 0.1M :

- Phosphate Buffer Powder (Sigma #P7994-1EA) : dissoudre toute la poudre dans 950 ml d'ED = PB 0.4M
- 100 ml de PB 0.4M + 300 ml d'ED = 400 ml de PB 0.1M

Sucrose 10% et 30% :

- * 10% : 5 g de sucrose (Sigma #84097) dans 50 ml de tampon PB 0.1M
- * 30% : 30 g de sucrose (Sigma #84097) dans 100 ml de tampon PB 0.1M

2- Préparation du cerveau pour la coupe :

1) Si ce cerveau est à -20°C dans la solution cryoprotectrice :

- Transférer le cerveau dans un bain de PBS 1X ou PB 0.1M
- Faire 2 ou 3 bains de 24h pour éliminer le maximum de cryoprotectant (gênera lors de la coupe)
- Faire 2 ou 3 bains de sucrose 30% (changement des bains quand le cerveau a coulé)

2) Si le cerveau est dans du sucrose 30% à 4°C :

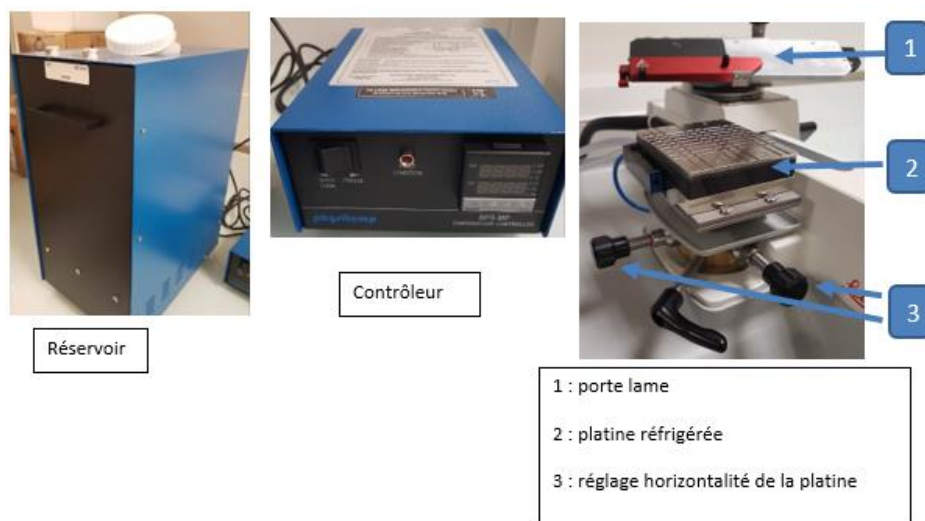
- si présence d'azide, faire un dernier bain de sucrose 30% sans azide
- Sinon, pas d'étape particulière

→ Le cerveau ne doit plus être imbibé de solution cryoprotectrice afin de congeler lors de la coupe. Le sucrose facilite la congélation et évite la formation de cristaux.

3- Préparation de la manipulation

- Annoter 14 falcons de 15 mL (numéro de tube ; marmouset ; numéro/nom ; date ; initiales manipulateur)
- Remplir le falcon n° 1 avec 10 mL de PB 0.1M ou PBS 1X
- Remplir les autres falcons avec 10 mL de solution cryoprotectrice
- Préparer ~50 mL de sucrose 10%
- Anticiper afin d'avoir assez de glace pour la coupe

4- Microtome



- Brancher les tubulures reliant le microtome au réservoir bleu
- Dans le réservoir : mettre de l'eau désionisée (ED) jusqu'au 1^{er} rebord, puis ajouter de la glace jusqu'au bas du 2^{eme} rebord, puis rajouter de l'ED jusqu'au milieu du 2^{eme} rebord
- Allumer le contrôleur de température et vérifier qu'il y a bien circulation d'eau dans les tubulures (de l'eau doit être rejetée dans le réservoir)
- Régler la température de la plateforme à -10°C
- Mettre une lame sur le microtome
- Vérifier l'angle d'inclinaison de la lame : 5° pour du tissu cérébral
- Mettre le cerveau dans le Brain Slicer et à l'aide d'une lame de microtome, supprimer les parties qui ne sont pas à couper (afin de limiter au maximum l'épaisseur du tissu) : couper l'arrière pour avoir une surface plane à poser sur la platine du microtome ; couper l'avant.

- Mettre le cerveau dans la boîte de pétri et faire une entaille au scalpel le long de l'hémisphère non lésé (afin de le repérer plus facilement sur les coupes)
- Avec la pipette-bulbe, faire un « pied » de sucrose 10% sur la platine réfrigérée et y positionner le cerveau. *RQ : placer la lésion ou la zone d'intérêt vers soi pour attaquer la coupe à l'opposé*
- Régler la température vers -30°C (nécessaire pour un cerveau entier de marmouset, température à adapter selon la taille de l'échantillon)
- Rajouter goutte à goutte du sucrose 10% sur le cerveau
- Quand le cerveau est entièrement inclus, remonter la température à -20°C et procéder à la coupe
- Régler l'épaisseur de coupe :
 - Epaisseur maximale (60 µm) pour dégrossir
 - Coupes coronales de 30 µm pour le marmouset
- Récupérer délicatement les coupes avec le pinceau et essuyer régulièrement le pinceau et la lame du microtome
- Mettre la 1ere coupe dans le tube 1 (PB 0.1M), la 2eme dans le tube 2 etc... jusqu'au dernier tube, puis recommencer. Noter le nombre de cycles afin d'estimer le nombre de coupes.

En fin de coupe :

- Stopper le contrôleur ou utiliser le bouton de dégel rapide avant d'éteindre
- Décoller le pied de sucrose délicatement
- Nettoyer la plateforme à l'ED avec un papier absorbant
- Puis nettoyer avec de l'éthanol absolu
- Débrancher les tubulures, débrancher puis vider le réservoir.
- Récupérer la lame du microtome (noter le nombre d'utilisation sur sa boîte protectrice).
- Remettre la housse du microtome.
- Stocker les falcons avec de la solution cryoprotectrice à -20°C.
- Stocker les falcons n°1 avec PB 0.1M à 4°C → Monter rapidement les coupes (3 jours max) sur lames gélatinées, pour une future coloration au Crésyl Violet. Sinon, les mettre à -20°C dans de la solution cryoprotectrice.

RQ : pour le montage des coupes, par convention mettre l'hémisphère lésé à droite sur la lame.

Annexe 9 :

Protocole de la coloration au crésyl violet (Nissl)

1- Montage des lames

Matériel :

- Lames gélatinées (à préparer à l'avance) - PBS 1X (tablettes Gibco #18912-014)
- Récipient plat - Pinceaux

- Les coupes à monter doivent être exemptes de solution cryoprotectrice
- Numéroter les lames avec un crayon à papier
- Dans un grand récipient plat, faire un bain de PBS 1X (peut-être remplacé par du NaCl 0.9% ou du PB 0.1M), y déposer les coupes à monter, immerger une lame
- Avec le pinceau, utiliser le système « eau-sec » pour amener la coupe sur la lame
- Le nombre de coupes par lame dépend de la taille des coupes
- Attention aux structures : monter toutes les coupes dans le même sens.
- Par convention, mettre l'hémisphère lésé à droite sur la coupe
- Laisser sécher les lames la nuit, verticalement sur un porte-lame, sans poussière

2- Préparation de la solution de Crésyl *A préparer sous sorbonne !*

Matériel :

- Acide Acétique 100% - Crésyl violet (poudre) - Eau Désionisée (ED)

Solution mère 0,5% et 0,3% acide acétique :

- 5 g poudre Crésyl (Sigma #C5042 Cresyl Violet Acetate - PM : 321.3)
- 3 ml d'acide acétique et qsp 1L ED
- Agiter 1 à 2h et filtrer avant utilisation, peut-être réutilisée plusieurs fois

3- Tannage de la gélatine et dégraissage des coupes *Sous sorbonne*

- Permet de la rendre neutre et évite la coloration de toute la lame
- Etape de dégraissage du tissu

Matériel :

- Plusieurs bacs et portoirs en verre pour coloration
- Eau désionisée
- Formol (= forme liquide du formaldéhyde ou aldéhyde formique)
- Ether diéthylique (= Diethyl ether ou diethyle oxyde)
- Ethanol 100%, 95% et 50%
- Chloroforme

- Toluène
- Acide acétique
- Milieu de montage résineux (DPX Mountant for histology SIGMA #44581 ; #06522)

Procédure :

- Mettre les lames dans un portoir en verre
- Préparer les différents bains : minimum 200 ml par bain pour bien recouvrir les lames
- Il est nécessaire de faire quelques aller-retour des lames dans les bains, la simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

- 1- Bain de formol (50ml)/ Ethanol 95% (200ml) - - - - - → **5 minutes**
- 2- Bain d'Ethanol 95% - - - - - → **2 minutes**
- 3- Bain de Chloroforme (200ml)/ Ether (25ml)/ Ethanol 95% (25ml) - - - - - → **10 minutes**
- 4- Bain d'Ethanol 95% - - - - - → **2 minutes**
- 5- Bain d'Ethanol 100% - - - - - → **2 minutes**
- 6- Bain de Toluène - - - - - → **5 minutes**
- 7- Bain d'Ethanol 100% - - - - - → **2 minutes**
- 8- Bain d'Ethanol 95%- - - - - → **2 minutes**

(Les lames peuvent rester dans le dernier bain en attendant la coloration)

4- Crésyl Violet

- 9- Bain d'Eau distillée - - - - - → **10 à 20 minutes**
- 10- Bain de Crésyl Violet - - - - - → **20 à 40 minutes**
- 11- Bain d'eau Distillée - - - - - → **5 minutes**
- 12- Bain d'Ethanol 50% + 4 gouttes d'Acide Acétique - - - - - → **2 minutes 30**
- 13- Bain d'Ethanol 95% - - - - - → **2 minutes**
- 14- Bain d'Ethanol 100% - - - - - → **2 minutes**
- 15- Bain d'Ethanol 100% - - - - - → **2 minutes**
- 16- Bain de Toluène - - - - - → **5 minutes**
- 17- Bain de Toluène - - - - - → **5 minutes**
- 18- Bain de Toluène - - - - - → **5 minutes**

- Monter directement entre lame et lamelle avec le milieu résineux (éviter les bulles)
- Laisser sécher 24h sous la sorbonne
- Gratter avec une lame de rasoir pour enlever l'excès de colle sur les bords et sur la lamelle et nettoyer à l'éthanol 70%
- Identifier les lames (numéro de lame ; marmouset ; date de coloration ; initiales du manipulateur)

Annexe 10 :

Protocole de la coloration de Gram (ENVT)

La coloration de Gram sur tissu est réalisée à l'aide du Kit SIGMA-ALDRICHT selon le protocole ci-dessous :

Réactifs	Temps d'incubation
Toluène	5 min
Ethanol 99°	5 min
Ethanol 96°	5 min
Eau courante	5 min
Cristal violet	1 min
Eau distillée	rinçage
Iode de gram	5 min
Eau distillée	Rinçage + absorber l'eau avec un papier buvard
Acétone	Différenciation jusqu'à décoloration
Eau distillée	rinçage
Safranine O	30 à 60 sec
Eau distillée	Rinçage + absorber l'eau avec un papier buvard
Solution de tartrazine	5 à 10 sec
Absorber l'excès de colorant avec un papier buvard	
Ethanol 96°	30 sec
Ethanol 99°	30 sec
Toluène	Jusqu'au montage

Annexe 11 :

Protocole de la coloration Hématoxyline-Eosine (H & E)

PREPARATION DES BAINS :

- Helamun ou Hematoxyline de Mayer (ou de Harris) : acheté tout prêt, stockage à 4°C
- Eosine, à partir des poudres :

* Orange G : faire une solution à 1% (stockage à 4°C)

* Eosine : faire une solution à 1% (stockage à 4°C) (poudre = Erythrosine B)

Pour 1L : mélanger 240 ml d'éosine 1%

+ 60 ml d'Orange G à 1%

+ 700 ml d'alcool 100

+ 3 ml d'acide acétique

Stocker à 4°C. Pas forcément besoin de filtrer sauf si dépôt.

- Carbonate de lithium : mettre de la poudre dans l'ED jusqu'à saturation (= quand la poudre ne se dissout plus, mais il doit y avoir de la poudre au fond du bain)

Stockage à RT.

PROTOCOLE pour coupes 20-50µm issues de tissus fixés PFA et congelés :

Rq : Si les coupes sont en solution cryoprotectrice, les rincer 3X 10 min dans du PBS (sous agitation et à RT) avant de les monter sur lames gélatinées.

- Filtrer le colorant Hématoxyline
- **Réhydrater le tissu dans un bain d'ED : ~2min**
- **Faire un bain d'Hématoxyline : 7min**

Le bain de colorant peut être utilisé plusieurs fois mais le filtrer à chaque passage

- **Rincer à l'eau courante : 4 à 5min + mouvements**

Dans lavabo, dans un bac en verre, robinet ouvert pour le renouvellement de l'eau

- **Faire un bain de carbonate de Lithium : ~10 passages d'1 sec**

Pour contre colorer les noyaux : ils deviennent bleus. Le carbonate de Lithium doit être saturé : il doit y avoir de la poudre au fond du bac.

- **Rincer à l'eau courante : 4 à 5min + mouvements**
- **Faire un bain d'éosine : environ 5min**

A adapter selon âge du colorant ; le bain de colorant peut être utilisé plusieurs fois

- **Rincer rapidement à l'Ethanol 100%**

Si une seule lame, utiliser une pissette, si plusieurs lames faire 2 à 3 bains rapides

Déshydratation et montage :

- Faire un bain de 2 à 3 minutes dans Toluène ou Xylène
- Montage : sortir lame, sans sécher (il doit rester un peu de xylène/toluène dessus), rajouter une goutte de milieu de montage et une lamelle.
- Laisser sécher sous la sorbonne

Conseils :

- Bien rincer les lames entre les différentes étapes
- Pas besoin d'éthanol pour réhydrater, l'eau suffit.

Résultat :

Noyaux → bleu-violet

Cytoplasmes → rose

Hématies → rouge clair à jaune

Fibres de collagènes → en rose-orangé

Annexe 12 :

Protocole de l'ImmunoHistoChimie-ImmunoFluorescence (IHC-IF) sur coupes flottantes semi-épaisses (30µm)

Matériel et Réactifs :

Coupes Marmouset 30 µm :

- Lavages et perm/sat en 12 puits (2 ml)
- Autres étapes en 24 puits (500 à 750 µl)

- Plaques multi-puits (12 ou 24)

Volumes : plaques 12 puits : 2 à 2.5 ml/puits ; plaques 24 puits : 1 à 1.5 ml/puits

- Agitateur
- Papier aluminium
- Lames SuperFrost et lamelles
- Pinceau pour déplacer les coupes dans les différents bains (puits)
- Tampon PB 0.1M (Sigma #P7994-1EA) ou Tampon PBS 1X (Gibco #18912-014)
- Détergent* : Tween-20 (Sigma #P1379) ou Triton X-100 (Sigma #T8787), à 4°C
- Sérum pour blocage (Goat, Donkey...), aliquots stockés à -20°C
- DAPI (Sigma #D9542) stocké à -20°C
- Milieu de montage Fluo DAKO #S3023, stocké à 4°C

* Tween-20 : utilisé pour révéler les épitopes cytoplasmiques

* Triton X-100 : pour perméabiliser noyau et mitochondries, pour épitopes nucléaires

Procédure :

** Tous les bains se font si possible sous agitation moyenne. S'il n'y a pas possibilité d'agiter à 4°C, les incubations se font sous agitation à température ambiante la journée, et sans agitation à 4°C la nuit.*

** Les temps des bains de lavage peuvent être allongés pour s'adapter aux disponibilités.*

** Utiliser un pinceau pour déplacer délicatement les coupes d'un puits à l'autre.*

** Penser à faire des lames contrôles :*

> Contrôle négatif : même protocole mais sans anticorps Ir (incubation dans PBS)

> Contrôle positif : sur des coupes que l'on sait positives aux anticorps utilisés.

Blocking Buffer :

- PBS 1X → à utiliser à température ambiante pour la bonne dissolution du détergent
- 0.1% Triton X-100 → remplacer par Tween-20 pour épitopes situés sur la MCE
- 4 % Serum → choix du sérum : celui de l'espèce dans laquelle l'anticorps Ir a été fabriqué

JOUR 1 :

- **Rinçage** des coupes : bains de PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 3 X 10 min à RT
Si coupes en solution cryoprotectrice.
- **Lavage** des coupes : bains de PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 1 X 5 min à RT
- **Perméabilisation/Saturation** : dans blocking buffer - - - - - 2 h à RT
Pas de Triton pour les anticorps dirigés contre des épitopes de la membrane cytoplasmique externe.
- **Anticorps Ir** : dilué dans du blocking buffer - - - - - 20 à 24h à RT ou 4°C
L'idéal est à 4°C sous agitation. Si impossible, alterner les incubations à RT sous agitation et à 4°C sans agitation.

JOUR 2 :

- **Lavages** : bains de PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 3 X 10 min à RT
→ A partir de cette étape : maximum d'obscurité
- **Anticorps IIr** : dilué dans blocking buffer - - - - - 2h RT + obscurité
- **Lavages** : bains de PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 3 X 10 min à RT
- **DAPI** : dilué au 1/4000^e dans du PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 8 min RT
- **Lavages** : bains de PBS 1X ou PB 0.1M - - - - - 3 X 10 min à RT
- Montage des coupes sur lames Superfrost. Les laisser un peu sécher puis déposer une lamelle avec du milieu de montage : Mounting Fluo DAKO. Séchage des lames à RT et à l'obscurité
- Puis stockage des lames à 4°C

Rq : RT = « Room Temperature » = température ambiante.

Annexe 13 :

Analyses d'immunofluorescence sur les implants en PDMS

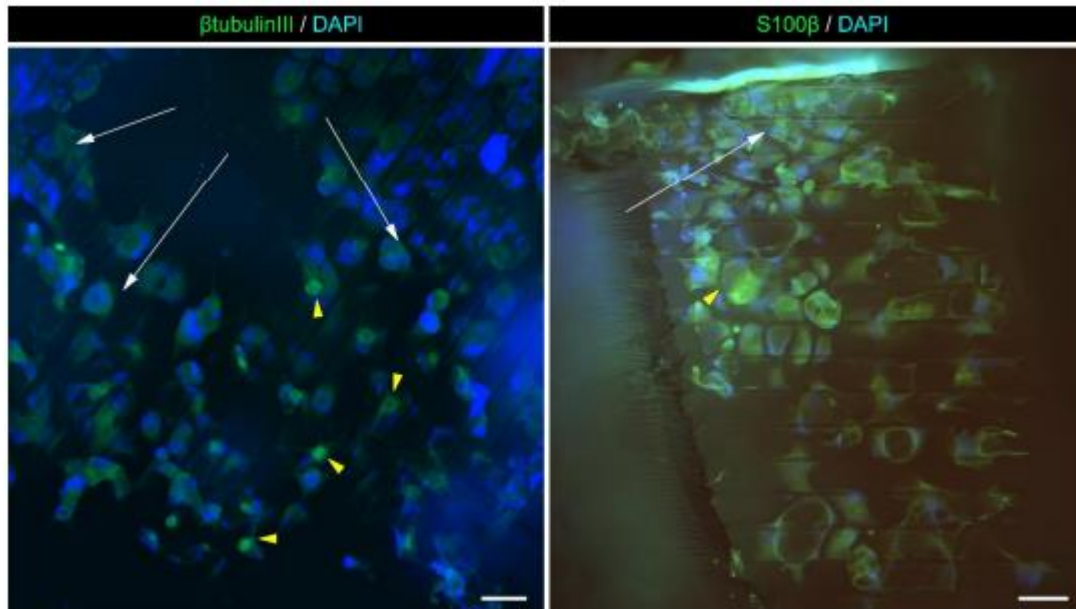


Figure 37 - Annexe 13. Images microscopiques des cellules hôtes présentes sur les biomatériaux en PDMS.

Ces images représentent les cellules positives (têtes de flèches jaunes) aux marquages β 3tubuline (image de gauche) et S100 β (image de droite) présentes sur les biomatériaux en PDMS greffés dans la cavité lésionnelle des 4 marmousets implants. Les flèches blanches montrent la présence de cellules et de tissus auto-fluorescents (visibles dans tous les canaux lasers), potentiellement dus à la présence de fibroblastes méningés. Barre d'échelle = 100 μ m. Images acquises avec un microscope Axiozoom et issues de la thèse d'Alice LeFric publiée en 2020.

Annexe 14 :

Analyses d'immunofluorescence sur les implants en PDMS – Microscopie confocale

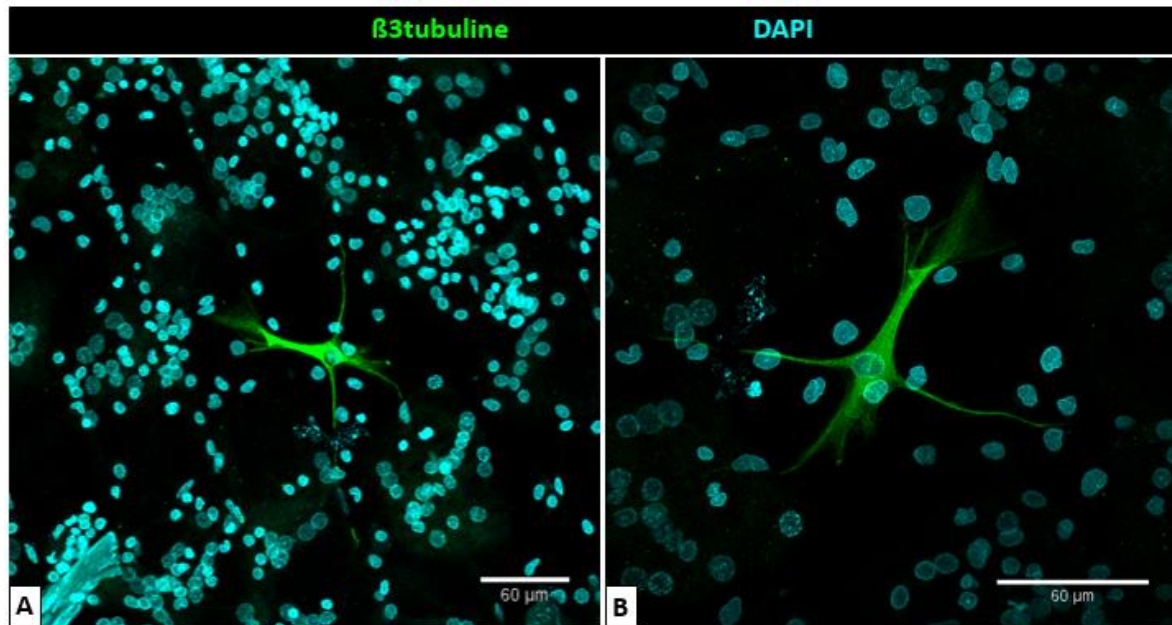


Figure 38 - Annexe 14. Images prises au microscope confocal d'une cellule hôte β3tubuline positive présente sur les biomatériaux en PDMS. Ces images représentent une cellule positive au marquage β3tubuline révélée par immunofluorescence et localisée sur un des biomatériaux en PDMS greffé dans la cavité lésionnelle du marmouset Gollum. L'image **A** a été prise au grossissement 20X, tandis que l'image **B** a été prise au grossissement 63X, sur la même zone observée et sur la même cellule positive. Barre d'échelle = 60 µm. Images acquises avec un microscope confocal.

Annexe 15 :

Suivi lésionnel longitudinal par IRM T2 du marmouset implanté TooSpeed

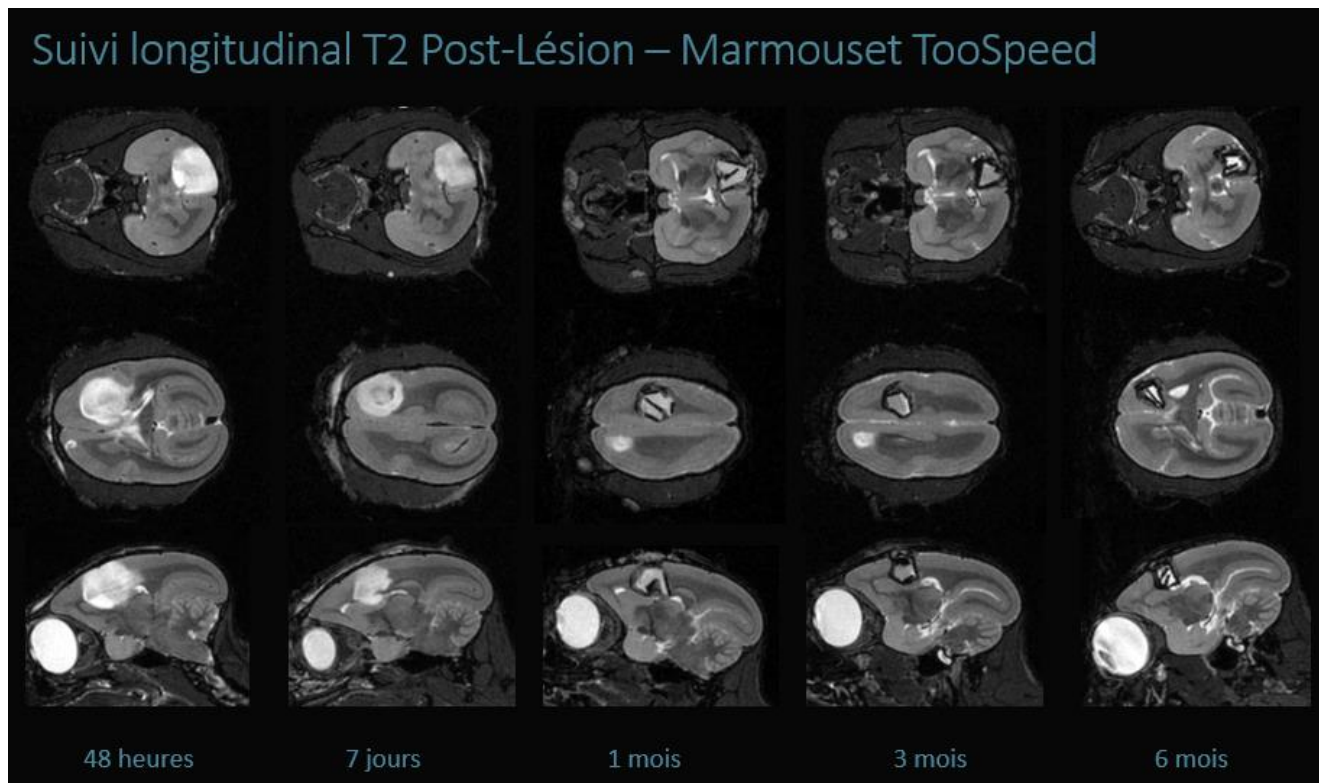


Figure 39 - Annexe 15. Images IRM T2 montrant le suivi longitudinal post-lésion et post-implantation du marmouset TooSpeed. Ces images représentent des coupes coronales, axiales et sagittales du cerveau du marmouset implanté TooSpeed prises à l'IRM 7T en T2 48 heures, 7 jours, 1, 3 et 6 mois post-lésion. Les images ont été prises relativement à la même localisation, de manière à pouvoir comparer l'aspect du site lésionnel aux différentes phases post-lésionnelles et post-implantation. L'acquisition réalisée sur les 3 plans à chaque temps permet également d'avoir une vision en 3 dimensions de la zone lésionnelle. On peut remarquer une diminution macroscopique progressive de la taille de la lésion, ainsi qu'un remaniement du tissu présent au cœur. En effet, à 48h et 7 jours post-lésion, la lésion est large, étendue, et le contenu est plutôt blanchâtre, compatible avec un matériel liquidien oedémateux, supposé inflammatoire à nécrotique en début d'évolution. Ce contenu se fonce et tend à devenir plutôt grisâtre à 1 mois, puis à 3 mois, signe d'un matériel plutôt tissulaire occupant la cavité lésionnelle. La lésion a déjà fortement diminué en taille, et les implants sont visibles au cœur et en bord de lésion (bandes noires). Un léger halo blanchâtre est visible en péri-lésionnel à 3 mois sur la coupe axiale. Or, à 6 mois, bien que la lésion ait encore diminué et que les implants soient toujours visibles, le contenu de la cavité lésionnelle semble avoir blanchi, témoignant plutôt là encore de la présence d'un matériel à tendance liquidienne, supposé lésionnel chronique. Cette information confrontée aux résultats des colorations histologiques, il est suspecté qu'une infection se soit développée chez le marmouset implanté TooSpeed entre 3 et 6 mois, pour des raisons non connues et qu'elle ait dégradé le tissu en reconstruction.

Titre : « Implants régénératifs en silicone dans un modèle de lésion cérébrale aiguë chez le marmouset : caractérisation de la reconstruction tissulaire. »

Résumé :

L'accident vasculaire cérébral (AVC) représente la première cause de handicap physique acquis de l'adulte. L'AVC ischémique est le plus fréquent et souvent causé par l'occlusion d'une artère cérébrale par un caillot sanguin. Différents axes thérapeutiques ont déjà été explorés sans résultat probant en phase subaiguë à chronique. La greffe d'implants dans les zones cérébrales lésées représente un des axes thérapeutiques possible.

Dans cette étude, l'effet de l'implantation de biomatériaux en silicone sur la reconstruction tissulaire (neuro-, glio- et angiogenèse) est étudié dans un modèle d'AVC par injection de malonate dans le cortex moteur primaire chez le marmouset (*Callithrix jacchus*). Les implants semblent augmenter la régénération dans la lésion et n'altèrent pas les caractéristiques du tissu en reconstruction sur les marqueurs neuronaux, gliaux, vasculaires et microgliaux. Les implants en silicone semblent être une stratégie thérapeutique encourageante en médecine régénérative.

Mots-clés : Accident vasculaire cérébral (AVC), Marmouset, Lésion cérébrale, Cortex moteur primaire, Malonate, Greffe, Implants, Biomatériaux, PDMS, Reconstruction tissulaire, Immunofluorescence, Neurogenèse, Gliogenèse, Angiogenèse

Title: "Regenerative silicone implants in a marmoset model of acute brain injury: tissue reconstruction characterization."

Summary:

Stroke is the main cause of acquired physical disability in adults. Ischemic stroke is the most common, often caused by a cerebral artery occlusion due to a blood clot. Various therapeutic strategies have already been explored, none showing convincing results in the subacute and chronic phases. Inserting biomaterial implants into damaged brain areas could represent a possible therapeutic approach to be further explored.

In this study, the effect on tissue reconstruction (neuro-, glio- and angiogenesis) of silicone biomaterials implantation in a stroke model with malonate injection into the primary motor cortex of marmosets (*Callithrix jacchus*) was investigated. Implants seem to increase regeneration within the lesion. Reconstructed tissue characteristics on neuronal, glial, vascular and microglial markers are not altered by implants. Silicone implants appear to be an encouraging therapeutic strategy in regenerative medicine.

Keywords: Stroke, Marmoset, Brain injury, Primary motor cortex, Malonate, Graft, Implants, Biomaterials, PDMS, Tissue reconstruction, Immunofluorescence, Neurogenesis, Gliogenesis, Angiogenesis