THERAPIE CELLULAIRE POUR L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL

Olivier Detante

▶ **To cite this version:**

Olivier Detante. THERAPIE CELLULAIRE POUR L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL. Neurosciences. Université de Grenoble, 2013. tel-00905943

HAL Id: tel-00905943

https://theses.hal.science/tel-00905943

Submitted on 19 Nov 2013

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.

Université de Grenoble

ANNEE 2013

DIPLOME D'HABILITATION
A DIRIGER DES RECHERCHES

THERAPIE CELLULAIRE POUR L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL

Soutenu publiquement le 2 juillet 2013 par

M. Olivier DETANTE
Né le 29.01.1976

Composition du jury :

- **Pr Pierre-Yves BENHAMOU**
- **Pr Régis BORDET**
- **Pr Christian JORGENSEN**
- **Pr Jean-Louis MAS**
- **Mme Chantal REMY**

SOMMAIRE

I. MOTIVATION DE LA DEMANDE 3

II. POSITION ACTUELLE ET CURSUS 5

III. TITRES SCIENTIFIQUES JUSITIFIANT L'INSCRIPTION 7

IV. TRAVAUX SCIENTIFIQUES PUBLIES 8

V. BOURSES ET PRIX 17

VI. THEMATIQUE DE RECHERCHE 18

VI.1. ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL (AVC) ET TRAITEMENTS ACTUELS 19
VI.2. MECANISMES DE LA RECUPERATION SPONTANEE POST-AVC 21
VI.3. CELLULES SOUCHES ET THERAPIE CELLULAIRE POST-AVC 25
VI.4. TRAVAUX DE RECHERCHE EXPERIMENTALE EFFECTUES 29
VI.5. ESSAI CLINIQUE DE THERAPIE CELLULAIRE POST-AVC (ISIS-HERMES) 37

VII. PERSPECTIVES 39

VII.1. PERSPECTIVES ET RETOMBEES DE L'ESSAI CLINIQUE ISIS-HERMES 39
VII.2. COMPRENDRE LES MECANISMES D'ACTION DE LA THERAPIE CELLULAIRE 40
VII.3. OPTIMISER LA THERAPIE CELLULAIRE 41

VIII. LIEUX DE RECHERCHE 45

IX. ENSEIGNEMENT / ENCADREMENT 46

BIBLIOGRAPHIE 51

I. MOTIVATION DE LA DEMANDE

Je suis actuellement Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier de Neurologie au sein du pôle de Psychiatrie et Neurologie du CHU de Grenoble (Dr G. Besson, Pr T. Bougerol) depuis 2009, et médecin responsable de l'Unité Neuro-Vasculaire. Je fais également partie de l'équipe 5 du Grenoble Institut de Neurosciences (GIN) Inserm / UJF / CEA / CHU U 836 (Neuroimagerie métabolique et perfusion cérébrale, E. Barbier).

Titulaire du doctorat en Médecine/Neurologie (Pitié-Salpêtrière, 2004) et du DIU de Pathologie Neurovasculaire, je me suis orienté vers la prise en charge des accidents vasculaires cérébraux (AVC) en devenant Chef de Clinique – Assistant dans l'Unité Neuro-Vasculaire du CHU de Grenoble (Pr M. Hommel, Dr A. Jaillard).
Par la suite, à l'aide d'un poste d'accueil Inserm (2006-2008), j'ai effectué ma thèse de Neurosciences (ED Chimie et Sciences du Vivant) au sein de l'équipe 5 du GIN (ex-U594, C. Segebarth) sous la direction de Mme C. Rémy et du Pr M. Hommel. Ce travail translationnel concernait l'effet de la thérapie cellulaire par cellules souches mésenchymateuses humaines sur la récupération après ischémie cérébrale. Mes travaux expérimentaux ont été développés en parallèle de la mise en place d'un essai clinique de thérapie cellulaire autologue chez l'homme (PHRC ISIS, et PHRC HERMES). Cet essai innovant de médecine régénératrice post-AVC est actuellement en cours avec 20 patients inclus dans notre service.
Ces travaux nous ont permis d'être cette année parmi les porteurs, avec l'Unité Mixte de Thérapie Cellulaire du CHU (MJ. Richard, A. Moisan), de la plateforme nationale E-Cell France (ANR « Infrastructures Nationales en Biologie et Santé ») pour la médecine régénératrice basée sur les cellules souches mésenchymateuses adultes, avec un rôle de référent pour la Neurologie.

Concernant l'enseignement, je participe notamment à la formation médicale des premier et deuxième cycles, et au M2P de Biothérapies. A la faculté de médecine de Grenoble, j'ai encadré 2 thèses de médecine générale (2010-2011), un DIU de pathologies neurovasculaires (2009-2011) et une thèse de neurologie (2011). J'ai co-encadré depuis 2004 (avec C. Rémy, GIN Equipe 5) plusieurs étudiants : une licence professionnelle, un IUT de Génie Biologique, 5 Masters 2 Recherche, et 2 thèses de neurosciences dont une en cours.

L'ensemble de nos travaux sur la récupération post-AVC et la thérapie cellulaire a été valorisé par différents financements : bourses de l'université J. Fourier (Grenoble 1) « Vivier de la Recherche Médicale » (2006 et 2010), 2 projets hospitaliers de recherche clinique (PHRC ISIS 2007 et HERMES 2010), une subvention DHOS–Inserm de Recherche Clinique Translationnelle (2007-2008), et un prix de la Société Française de Neurologie (2011).
Comme année de mobilité de recherche, je suis accepté pour un an (2013-2014) à l'Institute for Frontier Medical Sciences de l'université de Kyoto (Japon). Ce centre a un niveau international d'expertise pour la thérapie cellulaire et la biologie des cellules souches (notamment embryonnaires et pluripotentes induites (iPS)), marquée par l'obtention du prix Nobel de Médecine 2012 par le Pr S. Yamanaka (pour ses travaux sur l'induction des iPS et la reprogrammation). Cet institut développe également l'utilisation de biomatériaux pour des applications cliniques notamment en Neurologie. Cette année à venir pourrait donc être mise à profit pour nos projets en cours à Grenoble, dans le but de promouvoir de nouvelles sources cellulaires « thérapeutiques » en Neurologie et en médecine régénératrice, avec l'association possible de la thérapie cellulaire et de biomatériaux innovants.

Je suis donc aujourd'hui candidat au diplôme d'habilitation à diriger des recherches (DHDR) afin de poursuivre ces travaux translationnels sur la récupération post-AVC et la thérapie cellulaire régénératrice, et afin de pouvoir encadrer directement ces recherches au sein du GIN et du CHU.

Je certifie l'exactitude des informations contenues dans ce dossier.

Le 20/05/2013
O. Detante

II. POSITION ACTUELLE ET CURSUS

Médecin – Neurologue / Neurologie (Pôle Psychiatrie Neurologie, CHU de Grenoble)
Maître de Conférences des Universités - Praticien hospitalier (Neurologie)

Docteur en Neurosciences-Neurobiologie

Conseil de l'Ordre de l'Isère : n° 38 / 8367
N° RPPS : 10003131397
N° Autorisation à expérimenter sur animaux vivants : 380806 du 31/01/2008

** Diplômes et cursus :*

1993-99 : Faculté de médecine de Grenoble
1996 : Certificat de Maîtrise C2 Méthodes en Pharmacologie clinique (Mémoire « Pharmacocinétique des antiépileptiques »)
1997 : Certificat de Maîtrise C1 Immunologie et Immunopathologie (Mémoire « Maladie résiduelle des hémopathies lymphoïdes »)
1999 : Concours de l'Internat en Médecine (Interne des Hôpitaux de Paris)
Maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales (MSBM)
2001 : **DU de Morphologie et Imagerie du système nerveux central,** Pr Baulac, Pitié-Salpêtrière, Paris VI
Mémoire DU : Anomalies de l'enroulement de l'hippocampe (étude biométrique par IRM), Dr D. Hasboun
2002 *:* Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Neurosciences, Université Claude Bernard Lyon 1 (mention TB)
Mémoire DEA : Effet thérapeutique de la stimulation pallidale dans le traitement des dystonies primaires généralisées (étude TEP), Pr E. Broussolle, Dr L. Vercueil, Pr P. Pollak
2004 : DIU de Pathologie Neurovasculaire, Faculté de Médecine de Grenoble
Mémoire DIU : Aphasie Handicap Score en Unité Neuro-Vasculaire, Pr M. Hommel, Pr Y. Samson
2004 : **Doctorat en Médecine**, Pitié-Salpêtrière, Paris VI
Thèse : Aphasie Handicap Score (AHS), Pr Y. Samson
Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES) de Neurologie
2004-06 : ***Chef de Clinique - Assistant des Hôpitaux*** : Unité Neuro-Vasculaire, Département de Neurologie (Pr M. Hommel), CHU de Grenoble
2006-08 : ***Poste d'accueil Inserm*** - U 594, Neuroimagerie fonctionnelle et métabolique / Grenoble Institut des Neurosciences U 836 (Equipe 5, C. Segebarth)
2007 : Formation Expérimentation Animale Niveau 1 - Université J. Fourier Grenoble 1
2008 : Autorisation à expérimenter sur animaux vivants (n° 380806)
2008-2009 : ***Praticien Hospitalier contractuel*** : Unité Neuro-Vasculaire, Clinique de Neurologie, CHU de Grenoble
2009-en cours : ***Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier*** **/** Médecin responsable de l'Unité Neuro-Vasculaire, Clinique de Neurologie, CHU de Grenoble / Grenoble Université
2010 : Doctorat en Chimie et Sciences du Vivant (Neurosciences) – Grenoble Université
Thèse : Thérapie cellulaire par cellules souches mésenchymateuses dans l'ischémie cérébrale, Pr M. Hommel, C. Rémy

**** Internat, Hôpitaux de Paris (AP-HP) :***

1999-00 : Rééducation Neurologique (Pr Pierrot-Deseiligny), Pitié-Salpêtrière
Neurologie (Pr Degos), Henri Mondor (Créteil)
2000-01 : Psychiatrie (Pr Consoli), Hôtel-Dieu
Neurologie (Pr Bousser), Lariboisière
2002-03 : Fédération de Neurologie (Pr Agid – Pr Lyon-Caen), Pitié-Salpêtrière
Urgences Cérébro-Vasculaires (Pr Samson), Pitié-Salpêtrière
2003-04 : Unité Neuro-Vasculaire (Pr Hommel), CHU Grenoble
Neuroradiologie (Pr Chiras), Pitié-Salpêtrière

III. TITRES SCIENTIFIQUES JUSITIFIANT L'INSCRIPTION

- **2002 Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Neurosciences,** Université Claude Bernard Lyon 1

- **2004 : Doctorat en Médecine**, Pitié-Salpêtrière, Paris VI

- **2004 : Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES) de Neurologie**

- **2010 : Doctorat en Neurosciences-Neurobiologie (EDCSV)** – Grenoble Université

IV. TRAVAUX SCIENTIFIQUES PUBLIES

** PUBLICATIONS – REVUES NATIONALES :*

1. O. Detante, F. Colle, P. Vu, P. Pradat-Diehl. *Infarctus protubérantiel et fracture de la base du crâne*. **Revue Neurologique** 2003 ; 159 (3) : 326-328 **(IF = 0,5)**

2. O. Detante, F. von Raison, P. Brugières, S. Palfi, C. Le Guerinel, M. Djindjian, J-D. Degos. *Diagnostic précoce des abcès cérébraux bactériens : intérêt de l'IRM en séquences de diffusion*. **Revue Neurologique** 2003 ; 159 (4) : 421-424 **(IF = 0,5)**

3. O. Detante, K. Garambois, O. Véran. *Quoi de neuf en Neurovasculaire ?* **La Revue des Samu – Médecine d'urgence** 2009 ; 31(5) : 447-450

4. O. Detante, C. Rémy, M. Hommel, MJ. Richard. *Thérapie cellulaire et accident vasculaire cérébral.* **Sang Thrombose Vaisseaux** 2010 ; 22(2) : 72-78

5. S. Marcel, **O. Detante**, W. Vadot. *Etat des filières AVC : Isère, Savoie, Haute Savoie.* **La Revue des Samu – Médecine d'urgence** 2010 ; 32(5) : 345-348

6. J. Grèze, P. Bouzat, S. Grand, JF. Payen, **O. Detante**. *Cerebral amyloid angiopathy is difficult to diagnose in the intensive care unit.* **Annales Françaises d'Anesthésie et Réanimation** 2011 ; 30(12) : 933-936 **(IF = 0,8)**

7. W. Vadot, **O. Detante.** *Registre AVC : Isère, Savoie, Haute Savoie.* **La Revue des Samu – Médecine d'urgence** 2011 ; 33 : 379-380

8. M. Barbieux, O. Véran, **O. Detante.** *Ischemic strokes in young adults and illegal drugs.* **Revue de Médecine Interne** 2012 ; 33(1): 35-40 **(IF = 0,6)**

9. O. Detante. *Actualités Neurovasculaires : hématome intraparenchymateux et Infarctus cérébraux* **La Revue des Samu – Médecine d'urgence** 2012;34: 415-7

10. A. Jaillard, **O. Detante,** B. Naegele, M. Hommel. *Troubles cognitifs après un AVC récent.* **Lettre du Neurologue** 2013 -*in press*

** PUBLICATIONS – REVUES INTERNATIONALES :*

1. O. Detante, P. Krack, L. Vercueil, S. Chabardes, AL. Benabid, P. Pollak. *Off-period dystonia in Parkinson's disease but not secondary and primary generalized dystonia is improved by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus.* **Advances in Neurology** 2004; 94: 309-314 **(IF = 1,1)**

2. L. Naccache, M. Obadia, S. Crozier, **O. Detante**, C. Guillerm, F. Bonneville, D. Dormont, JC Willer, Y. Samson. *Preserved auditory cognitive ERPs in severe akinetic mutism: a case report.* **Cognitive Brain Research** 2004; 19(2): 202-205 **(IF = 2,7)**

3. O. Detante, L. Vercueil, S. Thobois, E. Broussolle, N. Costes, F. Lavenne, D. Lebars, M. Vidailhet, AL. Benabid, P. Pollak. *GPi stimulation in primary generalized dystonia: a $H_2{}^{15}0$ PET study.* **Brain** 2004; 127: 1899-1908 **(IF = 9,5)**

4. M. Vidailhet, L. Vercueil, JL. Houeto, P. Krystkowiak, AL. Benabid, P. Cornu, C. Lagrange, S. Tézenas du Montcel, D. Dormont, S. Grand, S. Blond, **O. Detante**, B. Pillon, C. Ardouin, Y. Agid, A. Destée, P. Pollak for the French SPIDY Study Group. *Bilateral deep brain stimulation of the Globus Pallidus in primary generalized dystonia.* **New England Journal of Medicine** 2005; 352: 459-467 **(IF = 53,3)**

5. O. Detante, A. Moisan, J. Dimastromatteo, MJ. Richard, L. Riou, E. Grillon, E. Barbier, MD. Desruet, F. De Fraipont, C. Segebarth, A. Jaillard, M. Hommel, C. Ghezzi, C. Rémy. *Intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution.* **Cell Transplant** 2009; 18:1369-79 **(IF = 6,2)**

6. B. Guillebastre, P. Rougier, B. Sibille, A. Chrispin, **O. Detante**, D. Perennou. *When might a cane be necessary for walking following a stroke?* **Neurorehabilitation Neural Repair** 2012; 26(2): 173-177 **(IF = 4,5)**

7. A. Moisan, N. Pannetier, E. Grillon, MJ. Richard, F. De Fraipont, C. Rémy, E. Barbier, **O. Detante**. *Intracerebral injection of human mesenchymal stem cells impacts cerebral microvasculature after experimental stroke: MRI study.* **NMR in Biomedicine** 2012; 25(12): 1340-1348 **(IF = 3,2)**

8. O. Detante, S. Valable, F. De Fraipont, E. Grillon, EL. Barbier, A. Moisan, J. Arnaud, C. Moriscot, C. Segebarth, M. Hommel, C. Rémy, MJ. Richard. *MRI and fluorescence labeling of clinical grade mesenchymal stem cells without impacting their phenotype: study in a rat model of stroke.* **Stem Cells Translational Medicine** 2012; 1(4): 333-341 **(IF = ?)**

9. G. Barone-Rochette, G. Vanzetto, **O. Detante**, PY. Benhamou, S. Halimi, M. Hommel, JM. Mallion, JP. Baguet. *Metabolic disturbances after acute vascular events: A comparative study of acute coronary syndrome and ischaemic atherothrombotic stroke.* **Diabetes Metab** 2012;38(6): 544-549 **(IF = 2,4)**

10. B. Gory, M. Mazighi**, O. Detante,** G. Seizem Nakiri, JP. Saint-Maurice, K. Boubagra, E. Houdart. *Interest of platelet inhibition monitoring in intracranial arterial stenosis before endovascular procedure*. **Interventional Neurology** 2013 (accepted) **(IF = ?)**

11. A. Krainik, A. Attye, **O. Detante**, F. Tahon, M. Villien, J. Warnking. *Normalization of cerebral vasoreactivity using BOLD MRI after intravascular stenting*. **Human Brain Mapping** 2013 (accepted) **(IF = 5,9)**

** REDACTION D'OUVRAGES :*

1. Céphalées aiguës et chroniques**. 3ème édition du référentiel de Neurologie, Ed. Masson-Elsevier, 2011**

2. Migraine et algies de la face**. 3ème édition du référentiel de Neurologie, Ed. Masson-Elsevier, 2011**

** COMMUNICATIONS ORALES – POSTERS :*

1. D. Hasboun, **O. Detante**, L. Thivard, S. Lehéricy, D. Dormont, M. Baulac, C. Marsault. Anomalies de l'enroulement de la région hippocampique. **Communication orale : Séminaire Pôle Epilepsie Pitié-Salpêtrière** – Les Saisies, 2.2001

2. O. Detante, P. Krack, L. Vercueil, S. Chabardes, AL. Benabid, P. Pollak. *Off-period dystonia in Parkinson's disease but not secondary and primary generalized dystonia is improved by high frequency stimulation of the subthalamic nucleus*. ***Oral presentation*: 4th International Dystonia Symposium -** Atlanta, 6.2002

Abstract in **Movement Disorders** 2002; 17(5): 1140

3. O. Detante, L. Vercueil, S. Thobois, E. Broussolle, N. Costes, F. Lavenne, D. Lebars, M. Vidailhet, AL. Benabid, P. Pollak. *GPi stimulation in primary generalized dystonia: a $H_2{}^{15}0$ PET study*. ***Poster*: 8th International congress of Parkinson's disease and Movement Disorders -** Rome, 6.2004. Abstract in **Movement Disorders** 2004; 19(S9) : S 104

4. W. Vadot, P. Rohr, **O. Detante**, L. Vercueil. *Spasme dystonique périodique, expression inhabituelle d'une épilepsie partielle continue d'origine vasculaire cérébrale.* ***Poster* : Journées de Neurologie de Langue Française -** Marseille, 4.2005

5. O. Detante, S. Valable, E. Barbier, F. De Fraipont, E. Grillon, J. Meo, C. Moriscot, K. Garambois, MJ. Richard, M. Favrot, C. Segebarth, M. Hommel, A. Jaillard, C. Rémy. *Intracerebral transplantation of human mesenchymal stem cells after cerebral ischemia in rats: a multiparametric study.* ***Poster*: Neuroscience SfN 2006** – Atlanta, 10.2006

6. O. Detante, S. Valable, E. Barbier, F. De Fraipont, E. Grillon, J. Meo, C. Moriscot, K. Garambois, MJ. Richard, M. Favrot, C. Segebarth, M. Hommel, A. Jaillard, C. Rémy. *Transplantation intracérébrale de cellules souches mésenchymateuses humaines après ischémie cérébrale chez le rat : récupération fonctionnelle, IRM in vivo et histologie.* ***Poster* : Journées de la Recherche Médicale** – Grenoble, 4.2007

7. W. Vadot, K. Garambois, **O. Detante**, A. Jaillard, M. Hommel. *Tolérance en pratique clinique du facteur VII recombinant dans l'hématome intracérébral primitif.* ***Poster* : Journées de Neurologie de Langue Française -** Paris, 4.2007

8. W. Vadot, A. Jaillard, P. Bedouch, C. Chevallier, K. Garambois, **O. Detante**, B. Hommel, M. Hommel. *Early pulmonary embolisms in patients treated with Factor VIIa for Intracerebral Hemorrhage. Chance or safety concern?* ***Poster* : European Stroke Conference** – Glasgow, 5.2007

9. A. Jaillard, B. Naegele, S. Trabucco-Miguel, **O. Detante**, W. Vadot, M. G. Hommel. *Working memory in subacute stroke: does it work?* ***Poster*: Neuroscience 2007 –** San Diego, 11.2007

10. O. Detante, A. Moisan, J. Dimastromatteo, MJ. Richard, L. Riou, E. Grillon, E. Barbier, MD. Desruet, MC. Favrot, A. Jaillard, M. Hommel, C. Ghezzi, C. Rémy. *Biodistribution des cellules souches mésenchymateuses injectées par voie intraveineuse après ischémie cérébrale chez le rat : étude par scintigraphie in vivo.* ***Communication orale* : Société Française de Neurologie Vasculaire** – Paris, 11.2007

11. A. Moisan, MD. Desruet, **O. Detante**, F. De Fraipont, MJ. Richard, J. Calop. *Optimisation of experimental conditions for human mesenchymal stem cell ^{99m}Tc-HMPAO labelling*. ***Poster :* European Symposium Radiopharmacy Radiopharmaceuticals** – Skopje, 4.2008

12. O. Detante, A. Moisan, J. Dimastromatteo, MJ. Richard, L. Riou, E. Grillon, E. Barbier, F. De Fraipont, A. Jaillard, M. Hommel, C. Ghezzi, C. Rémy. *Intravenous administration of ^{99m}Tc-HMPAO-labelled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution* .***Oral presentation:* European Stroke Conference** – Nice, 5.2008

13. T. Christen, B. Lemasson, N. Pannetier, **O. Detante**, R. Farion, E. Grillon, C. Segebarth, C. Rémy, EL. Barbier. *Application of a modified quantitative BOLD approach to monitor local Blood Oxygen Saturation in two glioma models and a stroke model in rat.* ***Poster:* International Society for Magnetic Resonance in Medecine ISMRM** – Honolulu, 4.2009

14. A. Moisan, **O. Detante**, MD. Desruet, L. Riou, MJ. Richard. *Etude des conditions expérimentales optimales pour le marquage de cellules souches mésenchymateuses humaines par le ^{99m}Tc-HMPAO et application préclinique.* ***Poster :*** **Journées de la Recherche Médicale** – Grenoble, 4.2009

15. M. Barbieux, O. Véran, **O. Detante.** *Toxiques et AVC ischémique du sujet jeune.* ***Poster :*** **Journées de la Recherche Médicale** – Grenoble, 4.2009

16. O. Detante, MJ. Richard, L. Riou, E. Grillon, E. Barbier, B. Naegele, MD. Desruet, F. De Fraipont, CE. Bulabois, JY. Cahn, A. Jaillard, M. Hommel, C. Rémy. *Thérapie cellulaire par cellules souches mésenchymateuses après accident vasculaire cérébral – ISIS.* ***Poster :*** **7ème Journée annuelle des CIC, Congrès P2T (Physiologie Pharmacologie et Thérapeutique) -** Marseille, 4.2009

17. M. Barbieux, O. Véran, L. Vercueil, G. Besson, **O. Detante**. *Pseudovascular centropontine myelinolysis.* ***Poster:*** **European Stroke Conference ESC** – Stockholm, 5.2009

18. A. Jaillard, O. Casez, W. Vadot, C. Delon-Martin, **O. Detante,** JF. Lebas, M. Hommel. *Representational role of superior temporal sulcus in mental state attribution: have or have not? a fMRI study.* ***Poster:*** **15th Annual meeting of the Organization for Human Brain Mapping –** San Francisco, 6.2009

19. A. Moisan, E. Grillon, E. Barbier, F. De Fraipont, C. Rémy, MJ. Richard, **O. Detante**. *Effet des cellules souches mésenchymateuses sur la microvascularisation cérébrale après ischémie cérébrale.* ***Communication orale :*** **Société Française de Bioingénierie Cellulaire et Tissulaire -** Grenoble, 9.2009

20. A. Moisan, E. Grillon, E. Barbier, F. De Fraipont, C. Rémy, MJ. Richard, **O. Detante**. *Effet des cellules souches mésenchymateuses sur la microvascularisation cérébrale après ischémie cérébrale focale.* ***Poster :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2009

21. M. Barbieux, O. Véran, A. Vasdev, M. Aya, P. Krack, **O. Detante**. *Infarctus carotidien sous-thalamique.* ***Poster :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2009

22. O. Detante, E. L. Barbier, V. Mayan, B. Naegele, A. Moisan, MJ. Richard, E. Grillon, H. Mathieu, F. De Fraipont, A. Jaillard, M. Hommel, C. Rémy**.** *Intravenous injection of clinical grade mesenchymal stem cells for experimental stroke.* ***Poster:*** **First Symposium on Stem Cells for Stroke - SC-STROKE -** Lille, 5.2010

23. A. Moisan, E. Grillon, E. L. Barbier, F. De Fraipont, C. Rémy, M-J. Richard, **O. Detante.** *Effect of Mesenchymal Stem Cells on the cerebral microvascularisation in a rat model of stroke: MRI study.* ***Poster (4496):*** **International Society for Magnetic Resonance in Medecine ISMRM** – Stockholm, 4.2010

24. A. Moisan, E. Grillon, EL. Barbier, F. De Fraipont, C. Rémy, MJ. Richard, **O. Detante.** Intracerebral administration of human mesenchymal stem cells modifies the cerebral microvasculature after stroke: a MRI study. ***Poster*****: Journées thématiques GDR Imagiv** - Marseille, 2010

25. G Barone-Rochette, G. Vanzetto, **O. Detante**, P-Y. Benhamou, M. Hommel, J-M. Mallion, J-P. Baguet. *Prevalence of metabolic syndrome and insulin resistance in atherothrombotic disease in two modes of acute clinical presentation.* ***Poster (JE11-0045) :*** **Journées Européennes de Cardiologie** – Paris, 1.2011

26. M. Barbieux, A. Moisan, E. Grillon, M-J. Richard, C. Rémy, E. Barbier, **O. Detante**. Effet de l'injection intraveineuse de cellules souches mésenchymateuses sur l'inflammation cérébrale après ischémie cérébrale expérimentale. ***Poster*** **: Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2010

27. C. Feuerstein, **O. Detante**, B. Naegele, E.L. Barbier, A. Moisan, N. Coquery, MJ. Richard, E. Grillon, F. de Fraipont, M. Hommel, C. Rémy. *Benefit of intravenous injection of clinical grade mesenchymal stem cells after experimental stroke.* ***Poster:*** **Neuroscience 2010 –** San Diego, 11.2010

28. M. Barbieux, A. Moisan, E. Grillon, M.J. Richard, C. Rémy, E. Barbier, **O. Detante.** *Effet de l'injection intraveineuse de cellules souches mésenchymateuses sur l'inflammation cérébrale après ischémie cérébrale expérimentale.* ***Poster (81) :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2010

29. A. Moisan, P. Bouzat, **O. Detante**, C. Rémy, EL. Barbier. *Local blood oxygen saturation and apparent water diffusion in acute ischemia.* ***Poster (4926):*** **International Society for Magnetic Resonance in Medicine ISMRM** – Montreal, 4.2011

30. J Y. Bouvier, I. Tropres, M. Villien, S. Grand, A. Jaillard, O. Eker, **O. Detante**, D. Chechin, J-F. Le Bas, A. Krainik, E.L. Barbier. *Evaluation of a new qBOLD approach to map local blood oxygen saturation in human brain***.** ***Poster (2695):*** **International Society for Magnetic Resonance in Medicine ISMRM** – Montreal, 4.2011

31. N. Morel, M. Barbieux, I. Favre, **O. Detante**. *Thrombolyse intraveineuse dans les infarctus cérébraux secondaires à une endocardite infectieuse: série de 3 cas.* ***Poster (R39)*** **: Journées de Neurologie de Langue Française -** Paris, 4.2011

32. D. Grosset-Janin, E. Barth, J. Guellerin, K. Garambois, B. Bertrand, **O. Detante**. *Occlusion percutanée de l'auricule gauche en prévention secondaire de l'infarctus cérébral d'origine cardio-embolique : 2 premiers cas.* ***Poster (R26)*** **: Journées de Neurologie de Langue Française -** Paris, 4.2011

33. JY. Bouvier, I. Tropres, M. Villien, S. Grand, A. Jaillard, O. Eker, **O. Detante**, D. Chechin, J-F. Le Bas, A. Krainik, E.L. Barbier. *Evaluation d'une nouvelle approche (qBOLD) pour la mesure de l'oxygénation cérébrale chez l'Homme.* ***Poster :*** **Groupe de Recherche sur les Applications du Magnétisme en Médecine GRAMM** – Rennes, 4.2011

34. A. Moisan, I. Favre, C. Rome, E. Barbier, C. Rémy, F. De Fraipont, MJ.Richard, **O. Detante**. *Thérapie cellulaire par cellules souches adultes dans l'accident vasculaire cérébral. Comprendre son mode d'action pour optimiser cette stratégie thérapeutique.* ***Poster*** **: Journée scientifique du médicament –** Grenoble, 6.2011

35. A. Moisan, I. Favre, C. Rome, B. Naegele, EL. Barbier, C. Rémy, F. De Fraipont, MJ. Richard, **O. Detante**. Comment les cellules souches mésenchymateuses améliorent-elles la microvascularisation après un accident vasculaire cérébral ? ***Poster et Communication orale*** **: Société Française de Biothérapie Cellulaire et Tissulaire –** Reims, 09.2011

36. J. Bouvier, M. Villien, S. Grand, A. Jaillard, **O. Detante**, D. Chechin, J.F Le Bas, A.Krainik, E. Barbier, I. Troprès. *Evaluation of a multiparametric quantitative BOLD approach to map local blood oxygen saturation in stroke patients.* ***Oral presentation*****: ESMRMB -** Leipzig, 10.2011

37. D. Grosset-Janin, K. Garambois**,** R. Marlu, F. Loizzo, C. Roncoroni, F. Tahon, **O. Detante.** *PROFIL AVC au Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble : 1ère photographie de diagnostic et plan d'actions*. ***Poster*** **: Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2011

38. M. Barbieux, F. Stanke-Labesque, K. Garambois, **O. Detante**. *AVC ischémique du sujet jeune et consommation de toxiques*. ***Communication orale :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2011 (*Prix SFNV)*

39. I. Favre, A. Moisan, C. Rome, B. Naegele, MJ. Richard, **O. Detante**. *Effets de l'injection de cellules souches mésenchymateuses sur la microcirculation cérébrale après ischémie cérébrale expérimentale*. ***Communication orale :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2011

40. D. Grosset-Janin, J. Guellerin, E. Barth, K. Garambois, B. Bertrand, **O. Detante.** *Occlusion percutanée de l'auricule gauche en prévention secondaire de l'infarctus cérébral d'origine cardio-embolique chez des patients contre-indiqués aux AVK : 3 premiers cas.* ***Poster :*** **Société Française de Neurologie Vasculaire –** Paris, 11.2011

41. I. Favre, A. Moisan, C. Rome, B. Naegele, MJ. Richard, **O. Detante**. *Effets de l'injection de cellules souches mésenchymateuses sur la microcirculation cérébrale après ischémie cérébrale expérimentale*. ***Communication orale :*** **Société Française de Neurologie – Journée Nationale des Internes –** Paris, 11.2011 (*Prix SFN)*

42. G. Barone-Rochette. *Different arterial damage after an ischemic atherothrombotic stroke or acute coronary syndrome.* ***Poster (JE12-0035) :*** **Journées Européennes de Cardiologie** – Paris, 1.2012

43. J. Bouvier, M. Villien, S. Grand, A. Jaillard, **O. Detante**, D. Chechin, JF. Le Bas, A. Krainik, E.L. Barbier, I. Tropres. *Evaluation of a multiparametric quantitative BOLD approach to map local blood oxygen saturation in stroke patients.* ***Poster:*** **ISMRM** 2012

44. A. Moisan, I. Favre, C. Rome, B. Naegele, E. Barbier, C. Rémy, F. De Fraipont, MJ. Richard, **O. Detante**. *Comment les cellules souches mésenchymateuses améliorent-elles la microvascularisation après un accident vasculaire cérébral ?* ***Poster :*** **Société Française de Résonnance Magnétique en Biologie et Médecine SFRMBM –** Marseille, 03.2012

45. M. Vaillant, M. Barbieux, I. Favre, F. Tahon, S. Grand, **O. Detante**. Un cas de syndrome de reperfusion cérébrale. ***Poster* : JNLF** – Nice, 04.2012

46. M. Barbieux, F. Stanke-Labesque, K. Garambois, **O. Detante.** Ischemic strokes in young adults and illegal drug use, a local french study. ***Poster (230):*** **European Stroke Conference** – Lisbon, Mai 2012

47. F. Marti, G. Barone-Rochette, **O. Detante**, S. Miguel, *Troubles de la mémoire de travail et anxiété après un AIT*. ***Poster* : SFNV** – Paris, 11.2012

48. O. Detante pour le groupe de recherche ISIS-HERMES. *Thérapie cellulaire par injection IV de cellules souches mésenchymateuses après infarctus cérébral : protocole et avancées*. ***Communication orale* : SFNV** – Paris, 11.2012

49. M. Barbieux, C. Voguet, F. Tahon, K. Garambois, F. Stanke-Labesque, **O. Detante**. *AVC ischémique du sujet jeune et toxiques : le mystère levé par l'imagerie.* ***Poster* : SFNV** – Paris, 11.2012

50. A. Moisan, P. Bouzat, N. Coquery, C. Rémy, EL. Barbier, **O. Detante**. *Prédiction de la pénombre ischémique par cartographie et quantification de la saturation locale en oxygène en IRM.* ***Communication orale* : SFNV** – Paris, 11.2012

51. A. Moisan, V. Persoons, F. De Fraipont, H. Egelhofer, **O. Detante**, MJ. Richard. Analyse de 10 productions de CSMh de grade clinique dans le cadre de l'essai clinique ISIS de phase II. ***Poster* : SFNV** – Paris, 11.2012

52. I. Favre, A. Jaillard, T. Zeffiro, A. Krainik, **O. Detante**, M. Hommel. *Réorganisation des aires motrices après un infarctus cerebral : méta-analyse des études de neuroimagerie fonctionnelle.* ***Poster* : SFNV** – Paris, 11.2012

53. H. De Boysson for the French COVAC group. *Primary angiitis of the central nervous system: description of the first 52 adult patients enrolled in the French COVAC Cohort*. ***Poster (1551)***: **ACR/ARHP Annual Meeting –** Washington DC, 11.2012

54. A. Krainik, A. Attye, **O. Detante**, F. Tahon, I. Tropres, L. Lamalle, J. Pietras, JL. Magne, JF. LeBas. *BOLD fMRI of vascular reserve in patients with severe arterial stenosis: a laterality index approach.* ***Oral communication***: **XXVIth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and function** - Shangai, 2013

55. J. Bouvier**, O. Detante,** I. Tropres, S. Grand, D. Chechin, JF. LeBas, A. Krainik, EL. Barbier**.** *Evaluation of a multiparametric qBOLD approach in acute stroke patients.* **ISMRM -** Salt Lake City, 2013(soumis)

56. J. Bouvier**, O. Detante,** F. Tahon, I. Tropres, D. Chechin, JF. LeBas, EL. Barbier, A. Krainik. *Etude comparative de l'oxygénation et de la vasoréactivité cérébrale chez des patients présentant une sténose artérielle sévère.* **SFNR** – 2013

57. C. Rémy, A. Moisan, I. Favre, C. Rome, E. Grillon, B. Naegele, EL. Barbier, **O. Detante**. *Microvascular plasticity after cerebral ischemia: time window for angiogenic therapies.* **Société des Neurosciences** – Lyon 2013

** COMMUNICATIONS SUR INVITATION :*

1. *Effets de la stimulation du GPi dans la dystonie primaire*. 4èmes journées Activa Medtronic - **Villiers-le-Mahieu,** 2 et 3.04.2004
2. *Cellules souches mésenchymateuses et cerveau*. **Réunion annuelle du CIC de biothérapie Rhône-Alpes** – Lyon, 25.5.2007
3. *Utilisation des cellules souches mésenchymateuses dans les accidents vasculaires cérébraux.* **Nouvelles Technologies pour la Santé -** GRAVIT – Grenoble, 31.10.2007
4. *HTA et cerveau*. **1er Symposium HTA Rhône-Alpes « Des chiffres aux organes cibles » -** Voreppe, 24.04.2009
5. *Actualités sur les cellules souches*. **Ateliers Neuro-Vasculaires de la région Rhône-Alpes** – Talloires, 5.06.2009
6. *Cellules souches mésenchymateuses et accident vasculaire cérébral.* **Société Française de Bioingénierie Cellulaire et Tissulaire** - Grenoble, 1.10.2009
7. *Neuroanatomie fonctionnelle.* **Association Folaton, médecins généralistes** (Formation Médicale Continue) - Uriage les Bains, 5.09.2009
8. *Accidents vasculaires cérébraux*, **Association Française des Opérés du Cœur (AFDOC)** – Vif, 13.02.2010
9. *Résistance aux antiagrégants plaquettaires : mythe ou réalité ? Pathologie artérielle neurologique.* **Sanofi-Aventis** – Grenoble, 5.06.2010
10. *Urgences neurovasculaires - Quels malades doivent bénéficier d'une prise en charge neurovasculaire en urgence ? Comment l'organiser ?* **RéAlpes (FMC)** – Meylan, 24.06.2010
11. *Examen neurologique / Tremblements*. **Association Folaton, Médecins généralistes (FMC)** - Uriage les Bains, 11.09.2010
12. *Nouvelles perspectives en pathologie neurovasculaire*. **Société de Neurologie des Hôpitaux Non Universitaires de la Région Rhône-Alpes** – Annecy, 2.10.2010
13. *Prise en charge hospitalière des AVC aigus* ? **SAMU 38 –** Grenoble, 14.10.2010
14. *Programme National de Formation sur la prise en charge de l'AVC à la phase aiguë.* **SFNV - Takeda** – UNV de Grenoble, 16.10.2010
15. *CSM et AVC* – **VIème congrès de la Société Française de Bioingénierie Cellulaire et Tissulaire -** Reims, 30.09.2011
16. *ACFA et* AVC / Re-Solution **Boehringer** – Grenoble, 18.10.2011
17. *Quoi de neuf en Neurologie Vasculaire ?* – **FMC Médecins du travail** – Grenoble, 9.03.2012
18. *AVC-AIT / Sémiologie et prise en charge* – **FMC Médecins généralistes -** Voiron, 15.05.2012
19. *Actualités neurovasculaires* – **Réseau Nord-Alpin des Urgences (RENAU)** – Chambéry, 14.06.2012
20. *« AVC* : *vite et bien »* - **Association Arc Alpin Neurologie** – Annecy, 15.09.2012
21. *Table ronde « Thérapie cellulaire : perspectives et enjeux »* - Journée Biotechs – Ecole des biotechnologies – Grenoble Ecole de Management, 19.10.2012
22. *AVC "Grand Public"* - **CE Hewlett-Packard** - Grenoble, 12.11.2012
23. *AVC vertébro-basilaire en Réanimation* – **Actualités en Réanimation** – Lyon, 16.11.2012
24. *Médecine régénérative : de la réparation tissulaire à l'organogenèse. Thérapie cellulaire et neurologie* – **106ème congrès d'Urologie, Association française d'Urologie** – Paris, 22.11.2012
25. *Thérapie cellulaire* – **1ères rencontres des Unités Neuro-Vasculaires de la région Rhône-Alpes** – Lyon, 15.02.2013
26. *AVC « Grand Public »* - **Mutuelle Générale –** Grenoble, 14.03.2013

** ARTICLES DE PRESSE :*

- **Recherche et Santé,** janvier 2003 ; 93:26-27 : Un « pacemaker » contre la dystonie généralisée.

- **Isère Magazine**, juin 2009 ; 101:27 : Accident vasculaire cérébral : chaque minute compte !

- **L'Hospitalier** (CHU de Grenoble), novembre 2011 : L'Unité Neuro-Vasculaire : pour une prise en charge optimale de l'AVC.

V. BOURSES ET PRIX

1. Bourse de DEA de la **Fondation Recherche Médicale (FRM)**, 2001-02

2. Prix de la **Ligue Française contre la Dystonie**, 2002

3. Prix de la **Société Française Neuro-Vasculaire** (mémoire du DIU de Pathologie Neurovasculaire), 2004

4. Bourse **Université J. Fourier (Grenoble 1)** « Vivier de la Recherche Médicale », 2006

5. Projet Hospitalier de Recherche Clinique - **PHRC régional** (« Thérapie cellulaire par injection intraveineuse de cellules souches mésenchymateuses autologues après accident vasculaire cérébral – étude ISIS»), 2007

6. Subvention DHOS – Inserm Recherche Clinique Translationnelle (« Thérapie cellulaire par injection de cellules souches mésenchymateuses autologues après accident vasculaire cérébral (ISIS)»), 2007-2008

7. Grand Prix Editorial 2010 (Syndicat de la presse Médicale) : premier prix du meilleur article de formation en médecine spécialisée (Thérapie cellulaire et accident vasculaire cérébral, dans Sang Thrombose Vaisseaux 2010)

8. Projet Hospitalier de Recherche Clinique - **PHRC régional** (« Approche heuristique de l'étude multiparamétrique en IRMf dans la thérapie par cellules souches mésenchymateuses après un infarctus cérébral – HERMES»), 2010

9. Award-Winning F1000 posters (http://posters.f1000.com/PosterList?posterID=683) (Benefit of intravenous injection of clinical grade mesenchymal stem cells after experimental stroke; *Poster:* Neuroscience 2010 – San Diego), 2010

10. Bourse **Grenoble Université** « Vivier de la Recherche Médicale » (I. Favre), 2010

11. Prix de la Société Française Neuro-Vasculaire (M. Barbieux), 2011

12. Prix de la Société Française de Neurologie (I. Favre), 2011

VI. THEMATIQUE DE RECHERCHE

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) représentent la première cause de handicap acquis de l'adulte. En dehors de la prise en charge dans une structure de soins spécialisée, l'Unité Neuro-Vasculaire (UNV), le seul traitement efficace est la thrombolyse qui doit être administrée dans les premières heures suivant un AVC ischémique (ou infarctus cérébral). Favoriser la plasticité post-lésionnelle du cerveau représente une alternative thérapeutique majeure. C'est dans ce contexte que la thérapie cellulaire basée sur l'administration de cellules souches a émergé. Son action, fondée sur la « réparation » du tissu cérébral lésé, a montré un bénéfice sur la récupération dans des modèles d'ischémie cérébrale expérimentale. Cependant, de nombreuses questions restent en suspens concernant les mécanismes d'action de ce type de traitement. Par ailleurs, la transposition à l'homme reste à ce jour limitée à des études pilotes encourageantes mais avec de faibles effectifs.

L'objectif de mon travail de thèse au Grenoble Institut des Neurosciences GIN U 836, suivi de la thèse d'A. Moisan que j'ai co-encadré, a été d'évaluer les effets fonctionnels de l'administration de cellules souches mésenchymateuses (CSM) après ischémie cérébrale chez le rat, de préciser les modes d'action possibles et, en parallèle de ces travaux, de mettre en place un essai clinique pilote de tolérance chez l'homme (ISIS – HERMES). L'ensemble de ce travail de recherche translationnelle n'a été possible que grâce à une collaboration multidisciplinaire étroite entre le GIN Inserm U 836 UJF-CEA-CHU, l'UNV du CHU de Grenoble, l'Unité Mixte de Thérapie Cellulaire (UMTC, Etablissement Français du Sang Rhône-Alpes), et le laboratoire « Radiopharmaceutiques biocliniques » Inserm U 877.

VI.1. Accident vasculaire cérébral (AVC) et traitements actuels

*** L'AVC** est défini comme un déficit neurologique soudain fixe ou transitoire. On regroupe sous le terme « AVC » 4 pathologies neurovasculaires distinctes : les AVC ischémiques transitoires ou constitués (infarctus cérébral) qui représentent 80% des cas, les hématomes intraparenchymateux, les hémorragies sous-arachnoïdiennes, et les thromboses veineuses cérébrales. L'AVC est une maladie fréquente et grave qui atteint 120 000 à 140 000 personnes en France chaque année (16 millions dans le monde en 2005). Les AVC sont la principale cause de handicap acquis de l'adulte, la seconde cause de décès après l'infarctus du myocarde, la première cause de décès chez la femme, et la seconde cause de démence (Murray and Lopez 1997). L'âge moyen de survenue d'un premier AVC est de 69 ans pour les hommes et 73 ans pour les femmes (Appelros, Stegmayr et al. 2009), mais 25% des patients ont moins de 65 ans et sont en âge de travailler.

Les taux annuels de mortalité par AVC varient entre 28 à 60 décès pour 100 000 habitants. Au niveau mondial, l'AVC restera en 2030 la première ou la seconde cause de mortalité avec environ 10% des décès qui lui seront attribuables (Mathers and Loncar 2006).

Première cause de handicap acquis de l'adulte aujourd'hui, la part des AVC dans le handicap parmi les différentes maladies restera très importante : les AVC seraient en 2030 à la 6ème place évaluée en « Disability-Adjusted Life Year » (« poids » global d'une maladie : somme du nombre d'années de vie perdues et du nombre d'années vécues avec un handicap). Le handicap est lié aux déficits moteurs (paralysies) ou sensitifs, aux troubles du langage (aphasie) mais aussi aux troubles cognitifs, souvent sous-estimés. Environ 70% des patients survivants gardent des séquelles qui interfèrent de façon majeure avec leurs capacités fonctionnelles et cognitives.

*** Coût des AVC :**

La charge financière représentée par les AVC est très importante pour le système de santé français (8,3 milliards d'euros par an). La variable « handicap » explique 42% de ce coût. Un traitement « coûteux » tel que la thrombolyse ou la thérapie cellulaire permettant de réduire le handicap post-AVC, peut ainsi entraîner un bénéfice en terme de qualité de vie du patient mais également de coût global de santé publique (Svensson, Ghatnekar et al. 2012).

*** Thrombolyse(s) :**

Concernant l'ischémie cérébrale, la recanalisation de l'artère occluse est une urgence immédiate et permet d'améliorer le pronostic ultérieur (Rha and Saver 2007). Cette recanalisation doit être effective le plus précocement possible pour limiter la zone d'infarctus séquellaire. Ce concept « Time is brain » a pu être quantifié : le cerveau en situation d'ischémie perd chaque minute environ 1,9 millions de neurones

(Saver 2006). L'utilisation de la thrombolyse IV, recommandée dans les 4h30 suivant le début de l'ischémie (Wahlgren, Ahmed et al. 2007; Hacke, Kaste et al. 2008), permet une recanalisation dans 46% des cas, la thrombolyse intraartérielle (IA) dans 63% des cas, et la thrombectomie mécanique endovasculaire, encore à l'étude, dans 84% des cas. Cependant, la très courte fenêtre thérapeutique limite encore son application à une minorité de patients.

*** Neuroprotection :**

Alors que de très nombreuses études expérimentales chez l'animal ont démontré des effets bénéfiques de nombreux traitements neuroprotecteurs, les résultats restent malheureusement décevants chez l'homme (Sutherland, Minnerup et al. 2012). Un résultat encourageant a été suggéré par l'essai SAINT I portant sur l'administration d'un agent anti-radicaux libres (NXY059) à la phase aiguë de l'infarctus cérébral (Lees, Zivin et al. 2006). Malheureusement, ce bénéfice n'a pas pu être confirmé dans l'essai SAINT II (Shuaib, Lees et al. 2007).

Plus récemment, la Fluoxetine (serotininergique) a montré un intérêt sur la récupération motrice après un AVC (Chollet, Tardy et al. 2011) relançant ainsi l'intérêt pour les stratgies de neuroprotection post-AVC.

*** Rééducation neurologique :**

Dès les premiers jours suivant l'AVC, la rééducation neurologique spécifique est essentielle pour aider à la récupération. L'objectif de la rééducation après un AVC est de limiter les conséquences de la lésion cérébrale sur la vie quotidienne du patient en stimulant la récupération par la plasticité cérébrale (Nudo 2006) puis en développant des stratégies d'adaptation au handicap (Duncan, Zorowitz et al. 2005). Après une ischémie expérimentale, les rats soumis à un environnement favorable (activités variées, interactions avec d'autres rats) ont de meilleures performances que ceux maintenus dans l'environnement d'un laboratoire standard (Komitova, Mattsson et al. 2005). Ces résultats illustrent le rôle de la rééducation et de l'environnement dans la récupération après un infarctus cérébral.

La rééducation favorisant la plasticité cérébrale pourrait être optimisée par de nouvelles techniques telle que la stimulation magnétique transcrânienne répétée (Lefaucheur 2006), l'imagerie mentale, ou l'utilisation de réalités virtuelles. Ces innovations thérapeutiques doivent encore faire l'objet d'essais cliniques pour devenir applicables en routine.

VI.2. Mécanismes de la récupération spontanée post-AVC

Après un infarctus cérébral, on observe une récupération fonctionnelle liée à deux mécanismes principaux : 1) la restitution ou récupération des fonctions du tissu survivant, 2) la réorganisation des réseaux neuronaux lésés correspondant à un mécanisme de plasticité. La plasticité désigne la réorganisation d'un système fonctionnel consécutive à une lésion cérébrale ou à un apprentissage (Nudo 2006; Berlucchi and Buchtel 2009). Les principaux processus cellulaires impliqués dans cette plasticité cérébrale sont d'une part la neurogenèse et la synaptogenèse en relation avec les autres cellules cérébrales (glie, microglie et cellules endothéliales), et d'autre part le démasquage de connexions fonctionnellement inactives survenant dès les premières heures suivant la lésion (Chen, Cohen et al. 2002).

*** Synaptogenèse et hyperexcitabilité :**

La synaptogenèse se déroule sur une période de quelques jours à plusieurs semaines. L'augmentation de la densité synaptique est associée à la repousse dendritique autour de la lésion (Kolb, Brown et al. 2001). Une lésion limitée du cortex moteur permet une récupération basée sur une réorganisation locale proche de la restitution *ad integrum*. A l'inverse, les lésions corticales étendues induisent une réorganisation extensive des systèmes afférents et efférents à l'origine d'une récupération incomplète, reflétant un mécanisme de compensation.

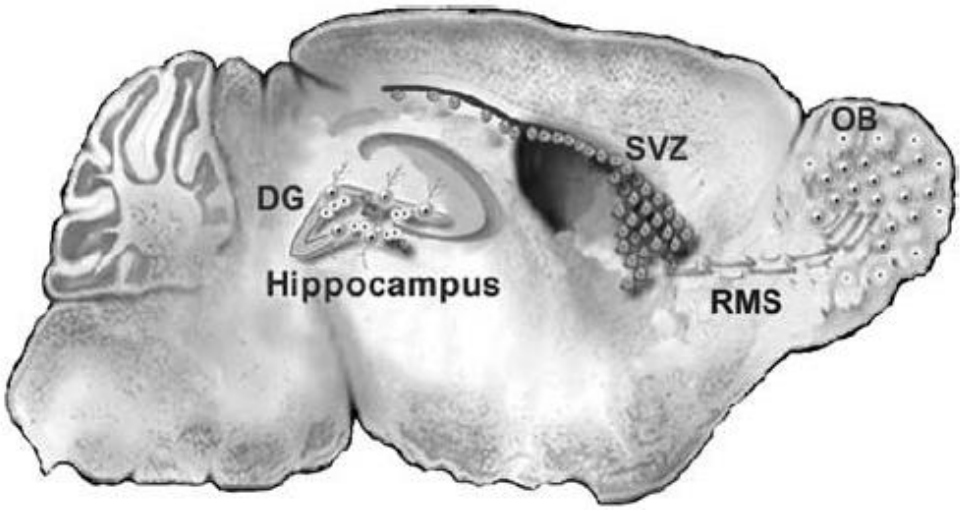
Chez le rat, une augmentation de l'activité neuronale corticale a été enregistrée à proximité du centre de l'infarctus dès les 24 premières heures, avec un maximum à une semaine, suivi d'une diminution progressive durant le premier mois puis le retour à des valeurs subnormales en 2 à 4 mois. Cette hyperexcitabilité est due à une diminution de la densité des récepteurs $GABA_A$ et AMPA, et à une augmentation de celle des récepteurs NMDA. Il en résulterait une diminution de l'inhibition GABA, corrélée à l'augmentation de l'inhibition dans les aires non lésées à distance de l'infarctus (Witte and Stoll 1997). Cette hyperexcitabilité peut également être reliée à l'hyper-activation des régions motrices de l'hémisphère sain (Jones and Schallert 1994).

A la phase chronique de la récupération motrice, 2 mécanismes ont été mis en évidence : le recrutement des aires corticales motrices de l'hémisphère non lésé (Chollet, DiPiero et al. 1991), et l'implication des aires fonctionnelles adjacentes à la lésion (Jaillard, Martin et al. 2005). Les études portant sur la récupération motrice rapportent également le recrutement d'aires extra-motrices (notamment les aires pariétales postérieures) à la phase subaiguë (Loubinoux, Carel et al. 2003).

*** Neurogenèse :**

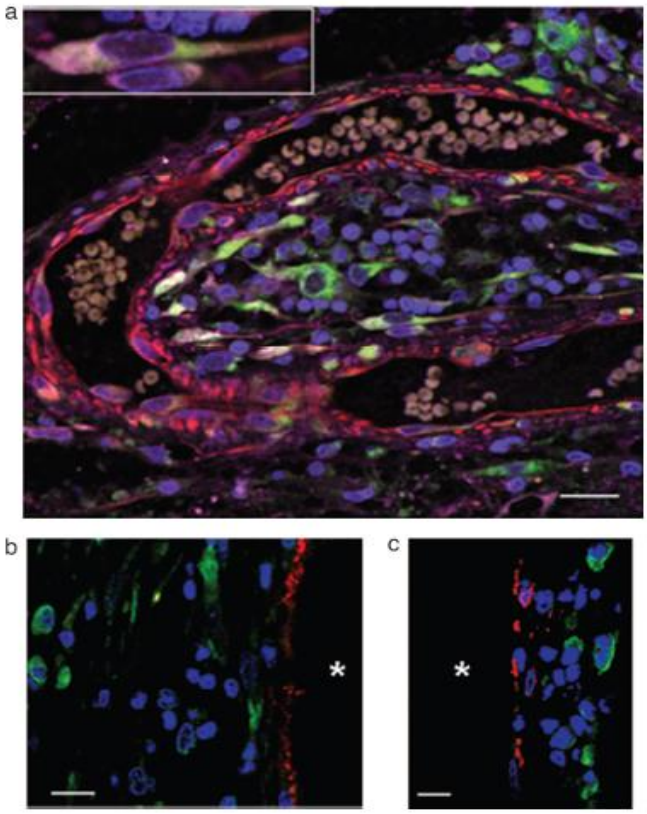
Une neurogenèse endogène active persiste dans le cerveau adulte en l'absence de lésion notamment dans le gyrus denté de l'hippocampe (renouvellement des cellules en grain) et au sein de la zone sous-ventriculaire chez l'animal (**Figure 1**) (Lichtenwalner and Parent 2006). Cette neurogenèse hippocampique dans le gyrus denté existe et persiste au cours de la vie également dans le cerveau humain adulte (Eriksson, Perfilieva et al. 1998).

Figure 1. Cerveau de rat adulte. Les deux régions présentant une neurogenèse persistante sont le gyrus denté (DG) hippocampique et la zone sous-ventriculaire (SVZ). Les progéniteurs neuraux situés sous la couche des cellules en grain au niveau de l'hippocampe prolifèrent et renouvellent les cellules en grain tout au long de la vie. Les progéniteurs de la SVZ prolifèrent et donnent des neuroblastes qui migrent le long de « tubes » astrocytaires définissant le courant migratoire rostral (RMS) vers le bulbe olfactif (OB). Au niveau de ce dernier, les neuroblastes se différencient en neurones granulaires et periglomérulaires (Lichtenwalner & Parent, 2006).



L'ischémie cérébrale augmente cette neurogenèse endogène en activant la prolifération des précurseurs neuraux et leur différenciation en neuroblastes qui vont migrer de la zone sous-ventriculaire vers la lésion (Zhang, Chen et al. 2005). Cette capacité de régénération neurale post-ischémie persiste dans la zone sous-ventriculaire et les hippocampes (zone sous-granulaire) chez des rats âgés (Darsalia, Allison et al. 2011). Chez l'homme, une telle neurogenèse induite par l'ischémie et pouvant persister plusieurs mois (Thored, Arvidsson et al. 2006) a été observée au sein de la pénombre ischémique où les neurones néoformés et les neuroblastes se localisent particulièrement en périphérie des vaisseaux soulignant le rôle prépondérant de la « niche » neuro-vasculaire (Jin, Wang et al. 2006) (**Figure 2**).

Figure 2. Niche neurovasculaire pour la neurogenèse induite par l'ischémie cérébrale dans le cortex humain.(Jin *et al.*, 2006). **a :** Neurones identifiés par les anticorps anti-double-cortin (vert), anti-TUC-4 (violet) et anti-nestin (rouge). Ces neurones, notamment à forme allongée (neurones en migration) (encart), apparaissent en amas à proximité des capillaires contenant les érythrocytes (*Barre d'échelle = 20 µm*). Les cellules neurales double-cortin positifs (vert) se distinguent des cellules endothéliales (facteur VIII, rouge) (**b**) et des cellules musculaires lisses (actine, rouge) (**c**) (*Barre d'échelle = 15 µm*). ** : lumière du vaisseau*.



*** Angiogenèse :**

Le microenvironnement cérébral est essentiel à cette régénération neuronale. Venant de la zone sous-ventriculaire, les neuroblastes et neurones néoformés migrent particulièrement dans des zones périphériques à l'infarctus au sein de « niches » (ou unités) neurovasculaires spécifiques. Dans ces niches, les neurones immatures sont étroitement associés au remodelage microvasculaire (Ohab, Fleming et al. 2006). Neurogenèse et angiogenèse sont reliés entre autre par la production du Stromal-derived factor 1 (Thored, Arvidsson et al. 2006) et de l'Angiopoiétine 1 (Ang1) favorisant la migration neuroblastique et la récupération fonctionnelle. A la phase aiguë, cette interaction neurone/vaisseau est marquée par la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, et à la phase plus tardive par l'interaction angiogenèse/neurogenèse inversant les signaux délétères de la phase aiguë en signaux de réparation tissulaire (Arai, Jin et al. 2009). Chez l'homme, Jin *et al.* ont montré, sur 6 patients, cette localisation préférentielle de la neurogenèse, notamment des neurones immatures en cours de migration, autour des capillaires (Jin, Wang et al. 2006).

*** Influence de la réaction inflammatoire post-ischémique :**

L'inflammation cérébrale consécutive à l'ischémie peut s'accompagner d'une détérioration neurologique dans les premiers jours alors que, dans les semaines suivantes, les cellules médiatrices de l'inflammation participent au remodelage et à la reconstruction des tissus au niveau de la lésion (Nighoghossian, Wiart et al. 2008). Cette intéraction entre le système nerveux central et le système immunitaire est complexe (Dirnagl and Schwab 2009). Outre les lésions inflammatoires surajoutées localement à la lésion ischémique, il existe une véritable immunodépression après un AVC. Cette immunodépression a un effet délétère en exposant à un risque infectieux élevé pouvant justifier d'une antibiothérapie préventive (Dirnagl, Klehmet et al. 2007). A l'inverse, cette réaction inflammatoire pourrait également avoir un rôle bénéfique en limitant des réactions immunitaires trop importantes au niveau du cerveau lésé et exposé au système immun par la perméabilisation de la barrière hémato-encéphalique.

VI.3. Cellules souches et thérapie cellulaire post-AVC

*** Cellules souches :**

Les cellules souches sont des cellules avec un potentiel de différenciation en différents types cellulaires durant le développement embryonnaire et fœtal puis durant la croissance. Au sein de nombreux tissus différenciés, elles existent en tant que système de « réparation » interne (Vats, Bielby et al. 2005). Ces cellules indifférenciées qui peuvent restées inactives durant de longues périodes se caractérisent par trois propriétés spécifiques :

- Division asymétrique : une cellule souche « mère » peut se diviser en une cellule souche « fille » et une cellule différenciée.
- Autorenouvellement : les cellules « filles » permettent l'autorenouvellement à long terme de la population cellulaire initiale.
- Différenciation : une cellule souche peut, dans certaines conditions, se différencier en une cellule plus spécialisée (musculaire, globule rouge, neurones…). Les cellules souches adultes se différencient habituellement en cellules du tissu dans lequel elles résident, soulignant ainsi l'importance du microenvironnement dans ce processus de différenciation.

On distingue aujourd'hui les cellules souches embryonnaires, les cellules souches somatiques ou adultes, et plus récemment les cellules souches pluripotentes induites à partir de cellules adultes différenciées « reprogrammées » (Takahashi and Yamanaka 2006; Okita, Ichisaka et al. 2007; Takahashi, Tanabe et al. 2007; Wernig, Meissner et al. 2007).

Les cellules souches adultes se trouvent dans différents tissus (moelle osseuse, cordon ombilical, tissu adipeux, cœur, cerveau…) dont elles permettent l'entretien et la « réparation » endogène au cours de la vie. Elles résident dans des sites spécifiques de chaque tissu : microenvironnement particulier constituant une « niche » cellulaire. Elles peuvent rester quiescentes durant de longues périodes. Leur capacité de différenciation reste limitée à certains types cellulaires : elles ne sont pas pluripotentes, comme les cellules souches embryonnaires, mais multipotentes (capables de se différencier en certains types de cellules habituellement spécifiques de leur microenvironnement de résidence). On distingue ainsi les cellules souches hématopoiétiques (CSH dans la moelle osseuse notamment), les cellules stromales de la moelle osseuse (ou cellules souches mésenchymateuses, CSM), les cellules souches neurales, les cellules souches épithéliales (système digestif), et les cellules souches cutanées. Ces cellules adultes possèdent une propriété de transdifférenciation leur permettant de se différencier, dans certaines conditions encore mal identifiées, en cellules spécifiques différentes de celles de leur tissu d'origine (ex. : cellules souches neurales pouvant se différencier en globules rouges). Elles ne sont pas immortelles et ne semblent pas induire de tumeurs.

Parmi ces cellules souches adultes, les cellules stromales ont été largement étudiées en expérimentations animales et semblent prometteuses pour des applications cliniques. Ces cellules adhérentes de type fibroblastiques peuvent être isolées de nombreux tissus : la moelle osseuse (CSM : 1/100 000 à 1/1 000 000 de cellules de moelle), le sang placentaire, le tissu adipeux, la membrane amniotique ou encore la membrane synoviale (Jiang, Jahagirdar et al. 2002; Chamberlain, Fox et al. 2007; Pittenger 2008).
Les CSM, issues de la moelle osseuse, sont intéressantes en vue d'applications cliniques car elles peuvent être prélevées chez le patient lui-même ce qui permet une utilisation autologue. Elles sont facilement obtenues par aspiration au niveau de la crête iliaque sous anesthésie locale. Elles sont séparées des CSH et peuvent être amplifiées par culture *in vitro*. Elles ont l'avantage d'être ni tumorigènes ni immunogènes, et de ne pas soulever de questions éthiques liées au clonage thérapeutique ou à l'utilisation des cellules souches embryonnaires.

*** Thérapie cellulaire post-AVC :**

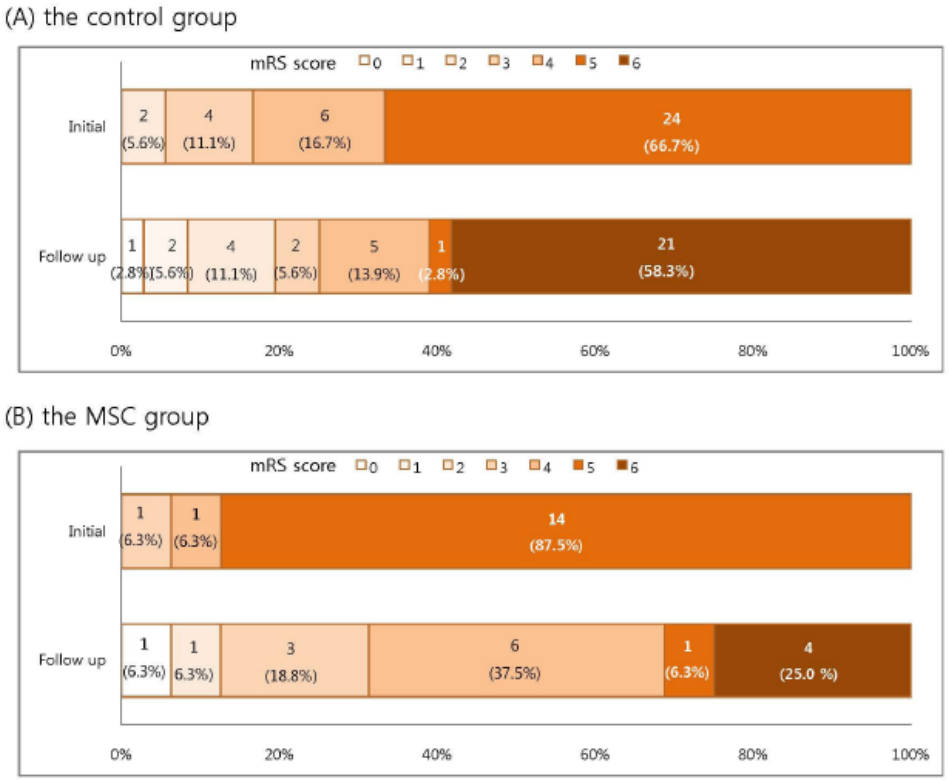
En médecine régénérative, la faisabilité et la sécurité de la thérapie cellulaire par cellules souches issues de moelle osseuse ont été rapportées dans des essais cliniques notamment de cardiologie. L'injection intracoronaire ou IV de cellules souches autologues issues de la moelle osseuse est bien tolérée et semble bénéfique après infarctus du myocarde. Dans une étude sur l'utilisation de CSM pour le traitement de la réaction du greffon contre l'hôte (Le Blanc, Frassoni et al. 2008)**,** 55 patients ont été traités par injection IV de CSM. Aucun effet indésirable n'a été rapporté et plus de la moitié des patients ont répondu favorablement au traitement.

En Neurologie, des essais cliniques de thérapies cellulaire ont déjà été menés dans d'autres pathologies que l'AVC (Lindvall and Kokaia 2010) tel que la maladie de Huntington, la maladie de Parkinson, les lésions médullaires, la sclérose en plaques, ou la sclérose latérale amyotrophique. Cependant, les résultats ont été variables selon les patients malgré une survie correcte du greffon.

Concernant l'AVC, la thérapie cellulaire a émergé ces 10 dernières années (Savitz, Chopp et al. 2011; Sinden and Muir 2012). Contrairement aux pathologies inflammatoires ou neurodégénératives, l'AVC représente un bon modèle physiopathologique pour évaluer une thérapie régénératrice puisque la lésion focale survient sur un tissu cérébral sain sans processus dégénératif chronique sous-jacent. La thérapie régénératrice a un intérêt particulier après un AVC puisque les capacités d'autoréparation spontanées du cerveau sont limitées. Favorisant la plasticité et la neurogenèse post-lésionnelles, la thérapie cellulaire permettrait une récupération tissulaire et fonctionnelle par le remplacement des cellules détruites (neurones, glie, cellules endothéliales) et/ou un effet trophique du greffon sur le tissu cérébral épargné (Hermann and Chopp 2012). Ce traitement de « réparation » du tissu cérébral détruit a montré un bénéfice sur la récupération dans des modèles d'ischémie cérébrale expérimentale (Chen and Chopp 2006).

Cependant, la transposition de ce traitement à l'homme est restée à ce jour limitée à des études pilotes (Kondziolka, Wechsler et al. 2000; Bang, Lee et al. 2005; Kondziolka, Steinberg et al. 2005; Savitz, Dinsmore et al. 2005; Lee, Hong et al. 2010; Honmou, Houkin et al. 2011; Savitz, Misra et al. 2011; Bhasin, Padma Srivastava et al. 2012; Moniche, Gonzalez et al. 2012)**.** Elles comportent de faibles effectifs de patients souvent âgés et ont des limitations méthodologiques importantes. Le délai, la voie optimale d'administration des cellules (IV, IA, ou intracérébrale) ainsi que la source cellulaire à utiliser restent encore controversés : neurones dérivés de neuroteratocarcinome humain (LBS-hNT), CSM (**Figure 3**), cellules mononucléées de moelle osseuse, cellules souches hématopoiétiques…

Figure 3. **Effet bénéfique de l'injection IV de CSM autologues après infarctus cérébral** chez 16 patients (*vs* 36 contrôles)(score de Rankin mRS évaluant le handicap) (Lee, Hong et al. 2010)



Actuellement, environ 20 essais cliniques internationaux en cours sont répertoriés concernant l'utilisation de la thérapie cellulaire après un AVC (*clinicaltrials.gov*).

*** Thérapie cellulaire dans les modèles animaux d'ischémie cérébrale :**

Depuis 1992, de nombreuses études expérimentales de thérapie cellulaire ont été rapportées (Hicks, Schallert et al. 2009; Glover, Tajiri et al. 2012). Les sources cellulaires utilisées sont variées et incluent entre autres : des cellules fœtales, des cellules souches embryonnaires, des cellules souches puripotentes induites (iPS), des cellules souches neurales issues du système nerveux central humain, des cellules de sang de cordon ombilical, des extraits de glande pinéale, de plexus choroïdes, des neurones dérivés de neurotératocarcinome ou de neuroepithelium, des CMN de moelle osseuse, et des CSM.

Depuis 2001, 70 études se sont intéressées à la récupération post-ischémie (suivi de 3 jours à 1 an) après une thérapie cellulaire (Hicks, Schallert et al. 2009). La voie IV a été utilisée dans 47% de ces études, la voie intra-cérébrale dans 41% et la voie IA dans 10%. Des cellules d'origine humaine ont été utilisées dans 46% de ces études. Cependant, la survie cellulaire, rapportée dans une étude sur deux, est très faible ainsi que la différenciation neurale. Il n'est pas possible d'identifier dans toutes ces études, montrant pour la plupart des effets bénéfiques, la voie d'administration et/ou le type cellulaire les plus efficaces.

Concernant les CSM, celles-ci ont un effet bénéfique après une ischémie expérimentale que ce soit après une administration IV (Shen, Li et al. 2007; De Vasconcelos Dos Santos, da Costa Reis et al. 2010), IA (Shen, Li et al. 2007), ou intra-cérébrale (Borlongan, Lind et al. 2004). Concernant les CSMh (d'origine humaine), Zhao *et al.* ont montré que des CSMh injectées au sein de l'infarctus, une semaine après celui-ci, avaient un effet bénéfique sur la récupération durant 6 semaines (Zhao, Duan et al. 2002). Malgré la différenciation possible de ces CSMh en neurones, astrocytes, ou oligodendrocytes, l'effet fonctionnel observé serait plutôt attribuable à la stimulation de la plasticité endogène du cerveau et à la diminution de la mort des cellules issues des cellules souches neurales de l'hôte notamment au sein de la zone sous-ventriculaire (Yoo, Kim et al. 2008). Des résultats similaires, en terme de bénéfice fonctionnel, ont été obtenus avec une injection IA de CSMh (24 heures après ischémie) avec 21% de cellules survivantes, deux semaines après, et des différenciations neurale (1%) et astrocytaire (10%) possibles (Li, Chen et al. 2001).

L'injection IV de CSMh, plus adaptable en pratique clinique, semble également intéressante. Zhang *et al.* (Zhang, Li et al. 2004) ont montré qu'un effet bénéfique sur un mois pouvait être obtenu par l'injection IV de 3.10^6 CSMh 24 heures après une ischémie permanente. Cet effet serait en partie lié à l'augmentation de l'IGF-1, impliqué dans les processus de neurogenèse. En plus d'un effet bénéfique, les CSMh immortalisées injectées en IV (12h après ischémie) permettent une réduction du volume lésionnel avec une différenciation neurale (9%) et astrocytaire (8%) des CSMh (Honma, Honmou et al. 2006). L'effet bénéfique sur la plasticité cérébrale des CSMh injectées par voie IV peut être potentialisé soit par la combinaison à un donneur de NO (avec 10^6 CSMh, 24 heures après ischémie) (Chen, Li et al. 2004), soit par une modification des CSMh les faisant surexprimées le GDNF (glial cell line derived neurotropic factor) (Horita, Honmou et al. 2006).

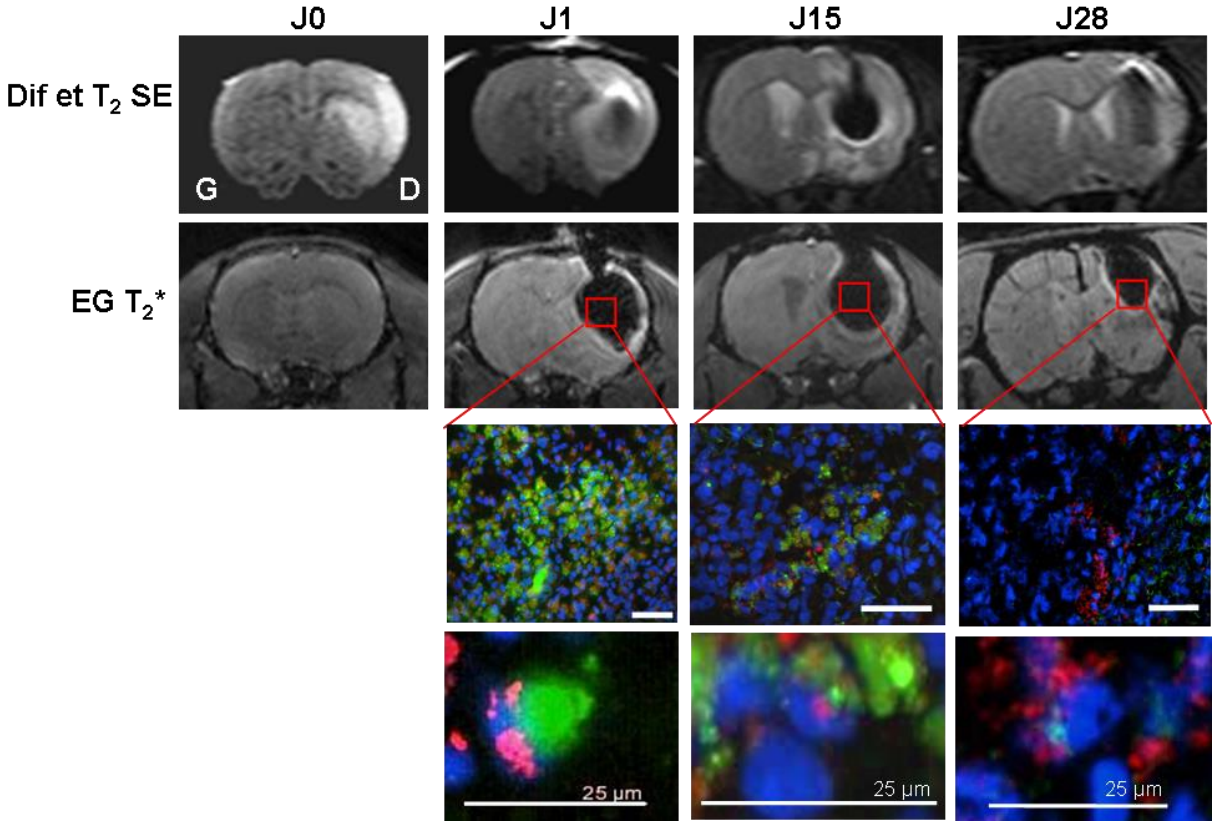
VI.4. Travaux de recherche expérimentale effectués

L'objectif général de notre travail a été d'évaluer le potentiel thérapeutique des CSMh après une ischémie cérébrale focale chez le rat, afin de préparer un essai clinique de tolérance et de faisabilité chez l'homme.
Le modèle expérimental d'ischémie focale transitoire (occlusion de l'artère cérébrale moyenne, oACM ; 90 min) par voie endoluminale, largement utilisé chez le rat, a été choisi ici comme étant le plus représentatif d'un infarctus cérébral focal chez l'homme. Le choix de l'utilisation de CSM humaines de grade clinique issues de la moelle osseuse (fournies par l'Unité de Thérapie Cellulaire du CHU ; autorisation TCG/04/O/008/AA) a été fait avec l'idée d'utiliser une source, bien caractérisée, reproductible, et directement transposable dans un essai clinique. L'utilisation de CSMh chez le rat est réaliste, sans utilisation d'immunosuppresseurs.
Nous avons principalement axé nos travaux, toujours dans l'idée d'une évaluation préclinique, sur l'injection IV de CSMh. Le choix de la voie IV et de l'injection à la phase subaiguë a été fait en tenant compte des contraintes inhérentes à l'utilisation clinique en condition autologue des CSMh : une voie d'injection la moins invasive possible et un délai de culture « *ex vivo* » des CSMh autologues incompressible.

*** Marquage cellulaire des CSMh et greffe intra-cérébrale :**

La première étape a été la mise au point d'un marquage cellulaire, par microparticules fluorescentes et ferromagnétiques (M-SPIO), des CSMh afin de les rendre détectables *in vivo* par IRM et *ex vivo* par microscopie à fluorescence. Ce marquage a été effectué sans agent de transfection pour éviter les effets cellulaires délétères de ceux-ci. Nous avons montré qu'un tel marquage n'influençait ni la viabilité ni la différenciation des CSMh de grade clinique, et pouvait avoir un intérêt expérimental dans les suivis longitudinaux *in vivo*.
Comme étude pilote de thérapie cellulaire après ischémie cérébrale, nous avons montré que l'injection intra-cérébrale de 400 000 CSMh directement au sein de la lésion avait un effet bénéfique sur la récupération fonctionnelle sur un suivi de 4 semaines (**Figure 4**) (Detante, Valable et al. 2012).

Figure 4. Détection de CSMh marquées par IRM *in vivo* et histologie.
Immédiatement après l'oACM (J0), on observe la lésion cortico-striatale droite (Dif) sans hémorragie sur la séquence EG-T_2*. Après l'injection intracérébrale, des M-SPIO sont identifiées *in vivo* à J1, J15 et J28, dans les deux sites de greffe (cortex et striatum lésés). Un artefact de susceptibilité magnétique est visualisé comme un large hyposignal particulièrement sur les images EG-T_2* lié à la présence des particules de fer. Les images sont issues de rats différents du groupe traité, représentatifs de chaque temps.
Par microscopie à fluorescence dans la lésion après la greffe, tous les noyaux cellulaires sont visualisés par la coloration de Hoechst (bleue). Les particules M-SPIO fluorescentes sont directement observées (en vert) et colocalisées au marquage par anticorps anti-noyaux humains (rouge) pour identifier des cellules dérivées des CSMh marquées. Les images au plus fort grossissement (en bas) authentifient la survie de cellules humaines ayant gardé un marquage M-SPIO intracytoplasmique jusqu'à 28 jours. La quantité de M-SPIO au site de greffe décroit au cours du temps mais reste détectable par IRM juqu'à au moins 28 jours. *Echelle = 50 µm (ou 25 µm notée)*. (Detante, Valable et al. 2012)



Bien que les différenciations *in vivo* des CSMh en neurones ou astrocytes soient observables chez tous les rats à des temps différents, nous avons noté, un taux très faible (~ 1%) de différenciation en cellules spécifiques.

Dans une étude complémentaire, nous avons pu identifier par IRM (index de taille des vaisseaux) un effet rapide mais transitoire sur la microvascularisation de cette injection intra-cérébrale de CSMh (Moisan, Pannetier et al. 2012). Cet effet microvasculaire pourrait participer à l'effet bénéfique des CSMh, via le lien angiogenèse/neurogenèse, plus qu'une différenciation cellulaire directe qui semble très limitée (Navaratna, Guo et al. 2009). Chez l'homme, Krupinski *et al.* ont montré que cette angiogenèse (prédominant dans la zone de pénombre ischémique) était corrélée à une meilleure survie (Krupinski, Kaluza et al. 1994).

La bonne tolérance de ce traitement intracérébral, dans ces essais pilotes, nous a incités à poursuivre nos essais précliniques en étudiant les effets de l'injection IV des CSMh applicable en clinique.

*** Etudes précliniques : injection IV de CSMh à la phase sub-aiguë de l'infarctus cérébral :**

L'application de la thérapie cellulaire à la phase subaiguë n'avait pas été précédemment étudiée dans les essais se focalisant sur des administrations de CSM dans les premières heures après la lésion.

- La **biodistribution générale des CSMh injectées par voie IV** après un infarctus cérébral n'avait jamais été étudiée. Ces données sont pourtant nécessaires pour évaluer le risque général de ce traitement par voie systémique et/ou son potentiel thérapeutique, en quantifiant la migration des CSMh vers la lésion cérébrale. Nous avons donc effectué une étude de biodistribution « corps entier » des CSMh radiomarquées par ^{99m}Tc-HMPAO et injectées, par voie IV, 8 jours après un infarctus cérébral (Detante, Moisan et al. 2009).

Brièvement, nos résultats ont montré que : 1) les CSMh étaient capables de migrer vers la lésion cérébrale malgré un piégeage transitoire dans les poumons ; 2) après 20 heures, plus de CSMh étaient retrouvées dans la lésion que dans le tissu sain ; 3) les CSMh pouvaient être séquestrées dans la rate et éliminées principalement par voie rénale. Nos résultats de comptage sur cerveau isolé et d'histologie suggèrent que les deux hémisphères cérébraux (principalement celui lésé) peuvent attirer les CSMh après une ischémie cérébrale focale. Cependant, nous avons montré que peu de CSMh injectées sont retrouvées dans le cerveau (1 / 10 000 dans l'hémisphère lésé). Cette proportion correspond aux résultats histologiques précédents qui montrent une faible survie cellulaire au sein d'un infarctus cérébral (1 à 4 / 10 000) 4 jours après une injection IV de cellules CD133+ de moelle osseuse (Borlongan, Evans et al. 2005).

L'injection de CSMh à la phase aiguë d'un AVC pourrait induire la migration d'un plus grand nombre de cellules vers la lésion, avec les taux élevés de la plupart des agents chimioattractifs (cytokines, chemokines, et molécules d'adhésion) (Yan, Sailor et al. 2007). Les autres voies d'administration (IA ou intra-cérébrale), peuvent éviter le piégeage pulmonaire et permettre une augmentation du nombre de cellules au sein du tissu visé. Cependant, la voie IA pourrait exposer à un risque important d'occlusion artérielle après injection avec une surmortalité (Walczak, Zhang et al. 2008). Bien que cette injection IA par l'artère carotide (Correa, Mesquita et al. 2007; Moniche, Gonzalez et al. 2012) ou les greffes intra-cérébrales (Kondziolka, Steinberg et al. 2005) soient faisables après un AVC chez l'homme, l'administration IV est moins invasive, et techniquement plus « facile » dans le cadre des premiers essais cliniques (Lee, Hong et al. 2010). De plus, cette injection IV permet une distribution des cellules dans les régions vascularisées et viables du cerveau et pas seulement dans un site de greffe localisé.

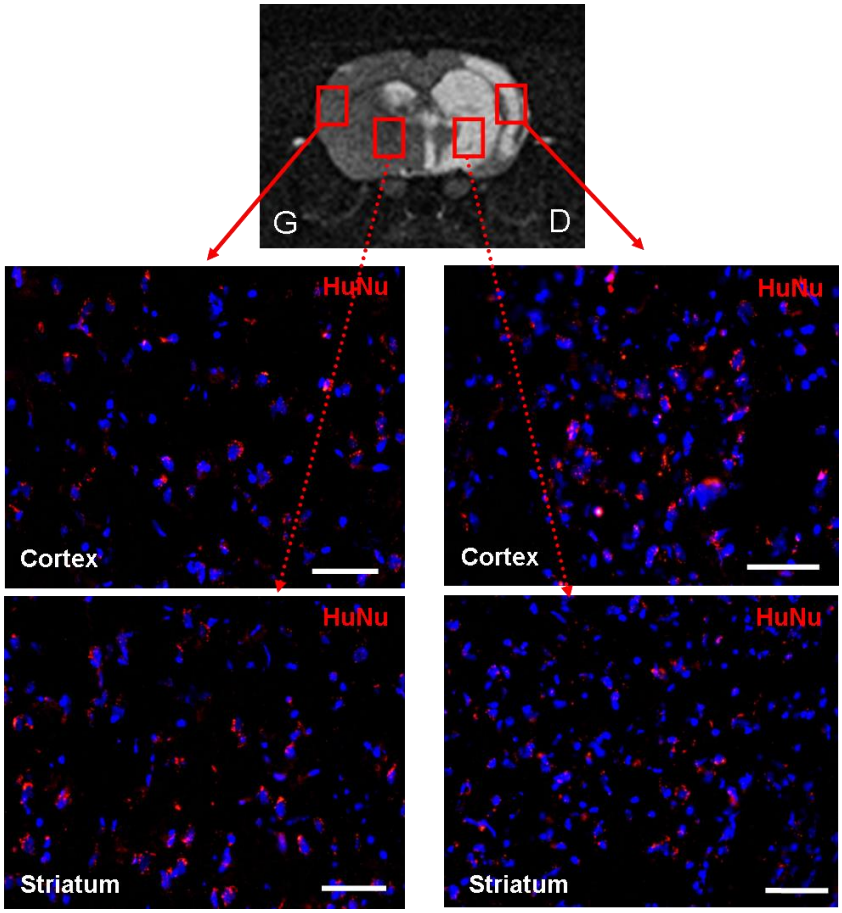
- Nous avons ensuite étudié les **effets fonctionnels et microvasculaires par IRM *in vivo* (mesure de l'index de taille des vaisseaux) de l'injection IV de CSMh** à la phase subaiguë (Moisan, Favre et al. 2013 *in progress*) sur un suivi de 7 semaines.

Aucun effet secondaire n'a été observé avec la persistance de CSMh dans différents organes (rate, foie, poumons, muscles). Cette thérapie cellulaire IV s'est avérée bénéfique sur la récupération sensitivo-motrice et cognitive (mémoire spatiale sur labyrinthe) à partir d'un mois de suivi.

A l'issue des 7 semaines de suivi, le marquage HuNu des noyaux humains a permis d'observer la présence de cellules humaines au sein du cerveau chez tous les rats traités par CSMh IV. D'un point de vue qualitatif, des cellules humaines ont été retrouvées groupées dans des zones limitées du cerveau, avec une prédominance striatale, témoignant d'une répartition hétérogène au sein de chaque hémisphère.

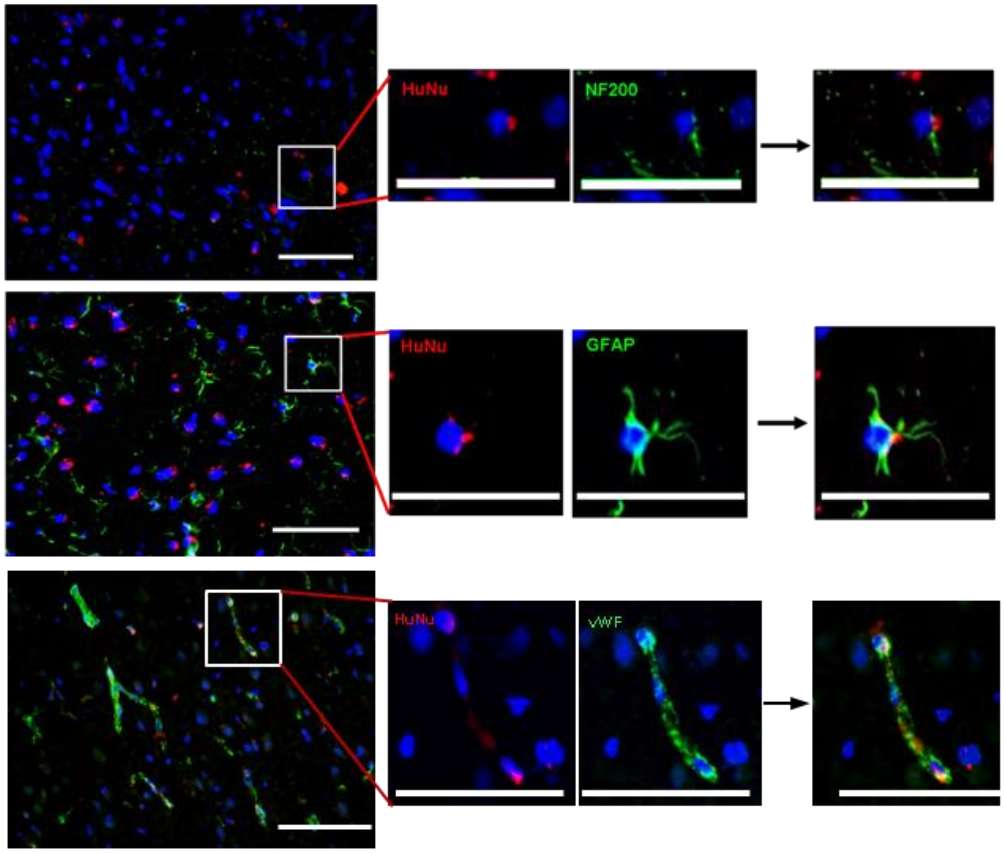
D'un point de vue quantitatif, aucune différence entre les 4 régions d'intérêt (striatum et zone sous-corticale des deux hémisphères) n'a été observée (**Figure 6**).

Figure 6. Répartition des cellules humaines HuNu-positives dans le cerveau, 6 semaines après l'injection intraveineuse de CSMh (effectuée 8 jours après une ischémie cérébrale droite). Aucune différence significative n'a été observée entre les deux hémisphères. Marquage des noyaux humains par anticorps anti-HuNu (rouge) avec une coloration de l'ensemble des noyaux par le milieu de Hoechst (bleu). *D : droite ; G : gauche. Echelle = 50 µm.*



Nous avons pu observer une différenciation de quelques cellules humaines en neurones, astrocytes et cellules endothéliales (**Figure 7**).

Figure 7. Différenciation des CSMh (anticorps anti-noyaux humains, rouge) en neurone (NF200), astrocytes (GFAP), et cellules endotheliales (facteur VIII de Von Willebrand), 6 semaines après injection IV. *Echelle = 50 µm.*



Au sein de la lésion, nous avons montré que les CSMh favorisaient la production de facteurs angiogéniques endogènes (notamment Ang-1 et TGFβ1, en RT-qPCR) (**Figure 8**), et ainsi augmentaient la densité microvasculaire une et 2 semaines après l'injection (en IRM *in vivo*) (**Figure 9**). Ce traitement par CSMh IV semble donc favoriser l'angiogenèse au sein de l'infarctus cérébral. Dans la littérature, l'injection IV de CSMh augmente la production de VEGF, bénéfique sur le remodelage tissulaire (Wang, Kilic et al. 2005; Hermann and Zechariah 2009), et du récepteur 2 au VEGF avec l'induction d'une angiogenèse dans la périphérie de l'infarctus. L'injection IV (précoce) de CSMh surexprimant Ang-1 semble plus efficace sur la néovascularisation et le débit sanguin en périphérie de l'infarctus que l'injection de CSMh « natives » (Onda, Honmou et al. 2008). Cet effet est encore majoré par l'injection IV (6h après l'ischémie) de CSM surexprimant à la fois Ang-1 et VEGF (Toyama, Honmou et al. 2009). Cependant, les mécanismes par lesquels les CSMh induisent cette angiogenèse restent controversés. Par la sécrétion de facteurs trophiques « pro-angiogéniques », les CSMh pourraient augmenter la prolifération des cellules endothéliales et/ou la migration de progéniteurs vers la zone lésée et améliorer ainsi la formation d'une vascularisation collatérale (Shyu, Lin et al. 2008).

Figure 8. RT-qPCR. Suivi des facteurs impliqués dans l'angiogenèse après injection IV de CSMh 8 jours après ischémie cérébrale (MCAo-hMSC).

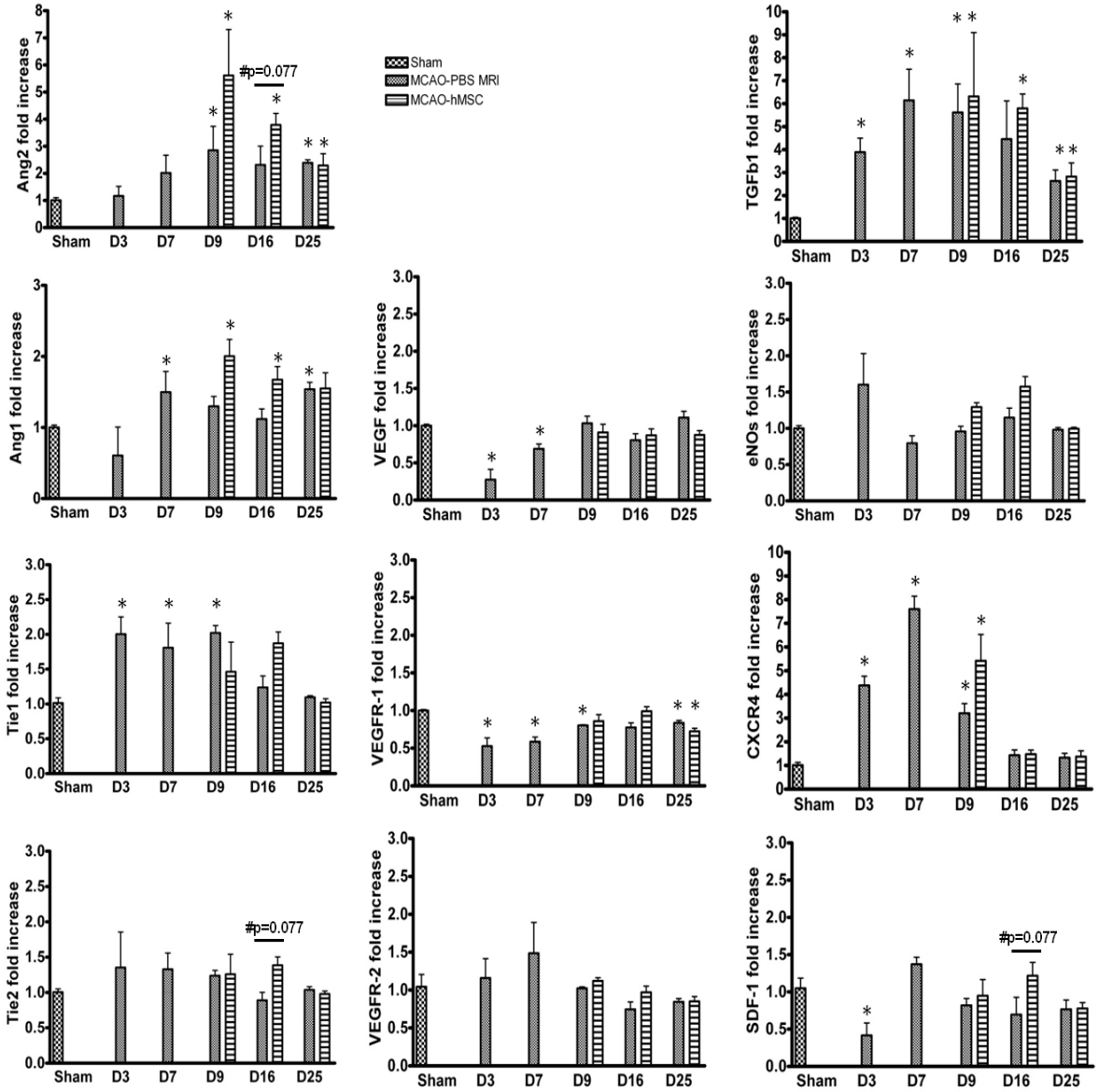
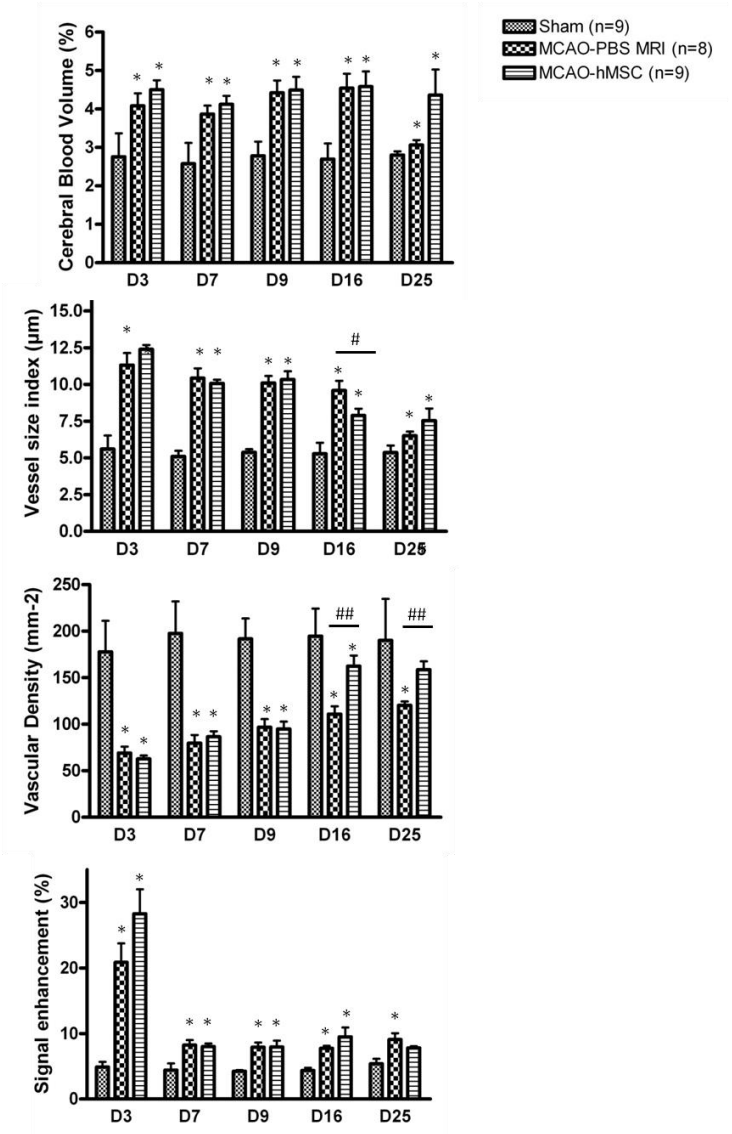


Figure 9. IRM *in vivo.* Suivi des paramètres vasculaires après injection IV de CSMh, 8 jous après ischémie cérébrale (MCAo-hMSC).



En plus de cet effet bénéfique pro-angiogénique, la thérapie cellulaire par CSM pourrait avoir des effets sur la stimulation de la neurogenèse et synaptogenèse endogènes. Dans le cerveau humain en l'absence de lésion, des cellules de moelle osseuse injectées par voie systémique peuvent entrer et générer des neurones (Mezey, Key et al. 2003). Après une ischémie cérébrale, nous avons montré ici qu'il existait un bénéfice de l'injection IV de CSMh par la différenciation faible mais possible de ces CSMh en neurones. Ces résultats confirment les données de la littérature. Chen *et al.(Chen, Li et al. 2003)* ont montré que des CSM, transplantées de la lésion, peuvent survivre, se différencier en neurones et améliorer ainsi la récupération. Ces auteurs ont également reproduit cet effet bénéfique après une administration IV de CSM avec une différenciation de celles-ci en cellules neurales (Chen, Li et al. 2001). Cette différenciation directe des CSM en neurones, bien que possible, reste limitée en quantité et semble insuffisante pour expliquer seule le bénéfice fonctionnel observé. Comme nous l'avons décrit, il a été

observé que la lésion ischémique pouvait stimuler la neurogenèse par l'intermédiaire des précurseurs neuraux endogènes (Ohab, Fleming et al. 2006). Chez l'homme, une telle neurogenèse induite par l'ischémie peut persister plusieurs mois (Thored, Arvidsson et al. 2006). Cette neurogenèse endogène induite par l'ischémie pourrait être amplifiée par la présence de CSM au sein du cerveau. La présence de cellules neurales et de cellules gliales a été observée dans les régions périventriculaires après injection de CSM, suggérant que les CSM, même en faible quantité, peuvent stimuler les cellules souches neurales endogènes et induire ainsi une neurogenèse efficace responsable de la récupération fonctionnelle (Shen, Li et al. 2007). Cet effet bénéfique sur la neurogenèse endogène viendrait ainsi s'ajouter à la différenciation directe des CSM en neurones.

La synaptogenèse induite par les CSM est un élément complémentaire de la restauration cellulaire, le bourgeonnement dendritique et la formation de nouvelles synapses favorisant le remodelage glial et axonal qui sous-tend les phénomènes de plasticité cérébrale (Liu, Zhang et al. 2007). La synaptogenèse pourrait avoir un effet bénéfique non seulement sur le tissu lésé mais aussi sur l'ensemble de l'encéphale en favorisant la plasticité du tissu sain.

Les CSMh pourraient avoir un rôle favorable additionnel par le biais de leur activité immunomodulatrice sur l'inflammation post-ischémique. Les CSM ont des propriétés immunomodulatrices *in vitro* : inhibition de la prolifération, de la différenciation et du chimiotactisme des lymphocytes B, et inhibition de la prolifération des lymphocytes T (Aggarwal and Pittenger 2005; Plumas, Chaperot et al. 2005). L'activation de la microglie avec notamment l'expression d'IGF-1 au sein de la zone sous-ventriculaire est corrélée à la prolifération et la migration des neuroblastes (maximale 6 semaines après l'ischémie). Cette accumulation de la microglie avec un phénotype « proneurogénique » aurait donc un effet bénéfique sur la continuité de la neurogenèse après une ischémie cérébrale (Thored, Heldmann et al. 2009). L'effet bénéfique des CSM est retrouvé après une ischémie cérébrale focale traitée, un jour après, par une injection IV de CSMh induisant une prolifération lymphocytaire sans induction de lymphocytes T cytotoxiques avec une limitation des phénomènes d'apoptose (Li, Chen et al. 2002).

VI.5. Essai clinique de thérapie cellulaire post-AVC (ISIS-HERMES)

Au cours de nos essais précliniques, nous avons étudié la tolérance et la biodistribution de CSM injectées par voie IV après une ischémie cérébrale chez le rat (Detante, Moisan et al. 2009) et identifié des effets « pro-angiogéniques » de cette thérapie (Moisan, Pannetier et al. 2012). Aujourd'hui, une vingtaine d'essais cliniques internationaux de thérapie cellulaire post-AVC sont en cours.

Notre projet translationnel s'intègre parfaitement au projet médical d'établissement du CHU de Grenoble et est en accord avec le plan ministériel AVC 2010-2014 dans lequel les AVC sont une des priorités sanitaires. Il est aujourd'hui indispensable de proposer des projets d'innovation thérapeutique dans cette maladie. Le projet que nous menons est réalisable au CHU de Grenoble et dans les formations Inserm associées. En effet, sur le même site hospitalier se regroupent toutes les compétences pour un essai de thérapie cellulaire dans l'AVC, de manière parallèle expérimentalement chez l'animal et cliniquement chez l'homme. Cette spécificité de notre centre est tout à fait exceptionnelle en France et au niveau international.

*** Méthodologie :**

Notre étude clinique ISIS « Thérapie cellulaire par injection IV de CSM autologues après accident vasculaire cérébral » (PHRC 2007, NCT 00875654) est un essai régional (recrutement multicentrique) de faisabilité et tolérance (phase II) de la thérapie cellulaire par CSM autologues (issues de la moelle osseuse) injectées par voie IV, un mois après un infarctus cérébral sévère (patients de 18-65 ans, NIHSS > 11).

Il s'agit d'un essai randomisé (allocation dynamique de traitement), contrôlé, ouvert, à 3 groupes parallèles avec un suivi de 2 ans : groupe traité « faible dose » (100 millions de CSM, n=10), groupe traité « haute dose » (300 millions de CSM, n=10), et groupe « contrôle » (n=10).

L'étude ancillaire HERMES menée par le Dr A. Jaillard (PHRC 2010) permet le suivi de la récupération post-AVC par IRM multimodale de ces patients : IRM morphologique, vasoréactivité cérébrale, IRM fonctionnelle d'activation, connectivité fonctionnelle et structurale.

L'**objectif principal** de cette étude est d'évaluer la faisabilité et la tolérance de l'injection IV de CSM autologues chez des patients ayant présenté un infarctus carotidien récent et qui gardent un déficit neurologique sévère. Les critères de jugement de cet objectif principal sont :

- La faisabilité de la procédure de thérapie cellulaire sera évaluée par l'inclusion et le suivi de 30 patients (20 greffés *vs* 10 contrôles), la réalisation du prélèvement de moelle osseuse, la production de CSMh, la réalisation dans les délais de l'injection IV des CSM autologues dans l'UNV.

- La tolérance de la procédure de thérapie cellulaire sera évaluée par les complications liées au prélèvement de moelle, les données de l'examen clinique au cours du suivi de chaque patient,

l'aggravation du déficit neurologique lié à l'AVC initial, la survenue d'un nouvel AVC, les complications neurologiques non-vasculaires, les complications non neurologiques, la mortalité.

Les **objectifs secondaires** sont de rechercher un effet dose et définir la dose de CSM la plus efficace, et d'évaluer l'efficacité de la thérapie cellulaire :

- Amélioration du déficit et du handicap secondaire à l'AVC (scores neurologiques évaluant la sévérité du déficit, score de Fugl-Meyer coté par un kinésithérapeute, évaluation neuropsychologique)
- Modification du volume lésionnel mesuré par IRM
- Récupération motrice et sensitive évaluée par IRM fonctionnelle d'activation.

Ces objectifs secondaires permettront de définir les meilleurs critères intermédiaires d'efficacité pour un futur essai de phase 3 et la meilleure population cible.

* **Résultats et avancées :**

Vingt patients ont été inclus depuis 2010 : 7 patients dans le groupe « traité - faible dose » qui ont effectivement reçu 100 millions de CSM, 3 patients dans le groupe « traité - faible dose » qui n'ont pas pu recevoir l'injection de CSM en raison d'anomalies durant la culture cellulaire, 3 patients dans le groupe « traité - haute dose » qui ont reçu 300 millions de CSM, et 7 patients « contrôles ».

Un patient du groupe « contrôle » s'est retiré de l'essai. Le Comité Indépendant de Surveillance, en l'absence d'effets indésirables imputables au traitement durant la première phase (« faible dose »), a validé la poursuite de l'étude dans sa deuxième phase).

Selon les résultats de cet essai de phase II, nous souhaitons mettre en place un essai multicentrique de phase III pour évaluer l'efficacité de cette thérapie cellulaire post-AVC.

VII. PERSPECTIVES

VII.1. Perspectives et retombées de l'essai clinique ISIS-HERMES

*** Bénéfice pour les patients de l'étude :**

Les patients inclus dans cette étude bénéficient d'un suivi neurologique, neuropsychologique et d'imagerie particulièrement poussé. En outre, dans l'hypothèse d'un effet bénéfique de l'administration de CSM, on peut espérer réduire le handicap et améliorer l'autonomie des patients traités.

*** Améliorer les connaissances scientifiques :**

La thérapie cellulaire émerge comme une innovation thérapeutique majeure en médecine. L'évaluation des différentes techniques de thérapie cellulaire par des essais cliniques fiables est indispensable. Notre projet, en parallèle des travaux expérimentaux chez l'animal, est tout à fait original. Par l'aller-retour entre le laboratoire et la clinique, nous différons des plans de développement habituels qui sont linéaires (expérimentation en laboratoire puis essai clinique). Nous espérons aller ainsi plus vite dans le développement des connaissances (doses, modalités d'injection, délai, modes d'action…), et préparer de futurs essais cliniques sur des bases solides. Sous réserve des résultats de cette étude, un essai plus large de phase 3 multicentrique sera envisagé (demande de PHRC national).

Au niveau de la population générale, la thérapie cellulaire pourrait être très prometteuse pour limiter le handicap et améliorer l'autonomie des patients ayant présenté un AVC. Elle pourrait ainsi permettre de limiter le coût important de cette pathologie, justifiant ainsi le surcoût de ce traitement et de son évaluation (Svensson, Ghatnekar et al. 2012).

Plus largement, ces connaissances acquises pourront servir de bases pour le développement de la médecine régénérative dans d'autres pathologies notamment en Neurologie (maladie de Parkinson, épilepsie, sclérose en plaques, maladie d'Alzeihmer…). Cet objectif est clairement celui de la plateforme nationale « E-Cell France » pour la promotion de la médécine régénérative basée sur les cellules souches adultes.

VII.2. Comprendre les mécanismes d'action de la thérapie cellulaire

La compréhension des mécanismes d'action de la thérapie cellulaire passe obligatoirement par des travaux complémentaires de physiopathologie de l'ischémie cérébrale et la récupération. L'IRM, comme méthode de suivi « transposable » de l'animal à l'homme, représente un de nos outils majeur pour cela. Comme nous l'avons vu, les effets des CSM sur le tissu cérébral lésé par une ischémie sont loin d'être limités à la seule différenciation directe de cellules souches exogènes en cellules d'intérêt comme les neurones. La restauration cellulaire par les CSM inclut une restauration neurale mais également gliale et endothéliale. Dans le cadre de l'ischémie cérébrale, l'interaction des progéniteurs neuraux avec les cellules gliales et le remodelage microvasculaire (Liu, Chopp et al. 2009; Zhang, Chopp et al. 2009), la formation de « niches » neurovasculaires comme lieux privilégiés de restauration tissulaire, la genèse d'interneurones permettant des connexions locales, la restructuration de la substance blanche (myéline et axones) (Zhang and Chopp 2009), l'activation ciblée de la microglie et l'immunomodulation, sont autant de phénomènes sur lesquels la thérapie cellulaire pourrait avoir un effet bénéfique.

Favoriser ces mécanismes de restauration ne passe pas forcément par la persistance, à long terme, de cellules greffées au sein de la lésion. Un effet « trophique » initial, tel que nous l'avons observé sur la microvascularisation le lendemain de la greffe de CSMh, pourrait déclencher une cascade d'évènements conduisant à une neurogenèse endogène efficace et plus prolongée.

Un autre mécanisme d'action, qui méritera de l'attention à l'avenir, est la fusion cellulaire possible des CSM greffées avec des neurones. Un tel phénomène de fusion cellulaire spontanée (sans transdifférenciation) a été rapporté entre des cellules de moelle osseuse exogènes et des progéniteurs neuraux ou des neurones de Purkinje (Alvarez-Dolado, Pardal et al. 2003; Alvarez-Dolado 2007). Cela n'a pas encore été exploré dans le cadre de l'ischémie cérébrale.

La compréhension de l'ensemble de ces mécanismes devrait permettre d'optimiser à l'avenir la thérapie cellulaire après un AVC en précisant la cible du traitement. Par exemple, des cogreffes de cellules souches avec des facteurs de croissance tels que le GCSF (Granulocyte colony stimulating factor) (Todo, Kitagawa et al. 2008), des facteurs proangiogéniques (VEGF, Ang-1…), de l'érythropoiétine (Esneault, Pacary et al. 2008) pourraient avoir un intérêt thérapeutique. L'utilisation de cellules génétiquement modifiées, comme les CSM surexprimant le VEGF, l'Ang-1 ou le BDNF pose aujourd'hui un problème de sécurité du produit cellulaire après une transfection virale, pour le transfert clinique.

En parallèle, la compréhension des mécanismes d'action et du devenir au long cours des cellules greffées permettra d'identifier certains risques de la thérapie cellulaire comme la localisation ectopique d'une greffe, le développement induit d'une plasticité anormale comme cela a pu être identifié dans la moelle

épinière (Hofstetter, Holmström et al. 2005), voire la formation de lésions tumorales insidieuses à partir de rares cellules souches quiescentes.
Malgré ces questions fondamentales en suspens, il semble tout à fait possible aujourd'hui de poursuivre les essais cliniques dans le cadre de l'AVC. Cependant ceux-ci doivent absolument être menés en parallèle d'études expérimentales chez l'animal pour optimiser le traitement et répondre aux interrogations.

VII.3. Optimiser la thérapie cellulaire

Le délai, la voie optimale d'administration des cellules ainsi que la source cellulaire à utiliser restent encore très controversés dans le cadre du traitement des AVC. Ces questions fondamentales doivent être explorées avec une meilleure connaissance de l'histoire naturelle de l'ischémie cérébrale. Ces 2 axes de recherche (physiopathologie de l'ischémie cérébrale et thérapie régénératrice) sont indissociables pour utiliser la « bonne source cellulaire » et viser la « bonne cible » au « bon moment » après un AVC.

*** Concernant le délai**, il semble que l'administration de CSM soit aussi bénéfique à la phase aiguë que subaiguë notamment par voie IV (Chen, Li et al. 2001). L'effet de l'injection IV à un temps plus tardif (1 mois) reste controversé (De Vasconcelos Dos Santos, da Costa Reis et al. 2010). Il semble que la phase aiguë ou subaiguë de l'infarctus constitue une fenêtre thérapeutique rationnelle dans laquelle il existe encore des phénomènes actifs de plasticité cérébrale qui peuvent se prolonger pendant des mois chez l'homme après un AVC.

*** Concernant la voie d'administration**, il n'existe pas actuellement d'argument formel sur la meilleure voie d'administration à utiliser. L'injection IV est moins invasive et doit probablement être privilégiée pour les premiers essais cliniques. Elle permet la distribution des cellules dans des zones irriguées potentiellement intéressantes en termes de plasticité post-ischémique (zone de pénombre et zone périlésionnelle). L'injection IA peut procurer une biodistribution cérébrale plus directe mais présente un risque authentifié d'occlusion artérielle voire de surmortalité chez l'animal. L'injection intra-cérébrale quant à elle nécessite une procédure chirurgicale « invasive » qui limite pour l'instant son application clinique. Elle reste cependant intéressante en permettant de s'affranchir de la biodistribution générale, et dans le cadre de traitements neurochirurgicaux post-AVC (hémicrâniectomie d'urgence par exemple).

*** Concernant les sources cellulaires**, au-delà des cogreffes et des cellules souches modifiées non applicables en clinique pour l'instant, beaucoup de cellules sont candidates à une application de médecine régénérative. Elles doivent aujourd'hui répondre aux pré-requis suivants :

- une source cellulaire fiable et reproductible,
- une prolifération *ex vivo* compatible avec une amplification dans des délais acceptables, permettant d'éviter (dans le cas de CSM) une diminution d'efficacité sur la neurogenèse après des cultures trop longues (Li, Choi et al. 2008).
- une différenciation possible en différents types de cellules d'intérêt (pas de différenciation unique) avec des cellules « filles » restant indifférenciées et assurant un autorenouvellement de la population « mère »,
- la migration possible vers le site de lésion,
- une viabilité *in vivo* prolongée sans rejet immunitaire,
- l'absence de carcinogénicité.

Comme nous l'avons montré dans l'ensemble de ce travail, ces différents pré-requis sont remplis par les CSM qui semblent aujourd'hui une source cellulaire fiable pour débuter des essais cliniques. Nous n'avons étudié ici que les CSMh issues de la moelle osseuse (source fréquemment utilisée en thérapie cellulaire). D'autres tissus, accessibles chez l'adulte, pourraient également permettre l'obtention de CSM: le tissu adipeux (Kubis, Tomita et al. 2007), le sang périphérique, ou encore le sang menstruel (Borlongan, Kaneko et al. 2010), CSM placentaires (Chen, Shehadah et al. 2012). Ces « tissus » en tant que source de CSM doivent être encore évalués sur leur capacité à fournir des CSM de qualité en quantité suffisante.

A l'avenir, les CSM pourraient être différenciées *ex vivo*, pendant la culture, en progéniteurs neuraux qui semblent avoir une efficacité prometteuse après une ischémie cérébrale (Hayase, Kitada et al. 2009).

D'autres sources que les CSM ont déjà été utilisées dans les études expérimentales et dans les premiers essais cliniques. Parmi celles-ci, les neurones hNT qui ont été utilisés chez l'homme pourraient avoir un potentiel tumorigène (Newman, Misiuta et al. 2005). Des précurseurs neuraux d'origine embryonnaire pourrait également présenter un intérêt thérapeutique (Takahashi, Yasuhara et al. 2008).

Les CMN issues de la moelle osseuse présentent l'intérêt de ne pas nécessiter une amplification *ex vivo* et donc de pouvoir être injectées immédiatement après leur prélèvement. Les essais cliniques utilisant cette source pourront ainsi évaluer l'efficacité de cette thérapie à la phase aiguë de l'AVC (Barbosa da Fonseca, Gutfilen et al. 2010; Savitz, Misra et al. 2011).

L'utilisation clinique des cellules souches embryonnaires (Seminatore, Polentes et al. 2010) ou des cellules souches pluripotentes induites (iPS) (Takahashi *et al.*, 2007) reste pour l'instant impossible à l'état natif, en raison d'une tumorigénicité inhérente à leur immortalité. Par contre, la maîtrise du développement *in vitro* de ces cellules, et de leur interaction avec le tissu hôte (Seminatore, Polentes et

al. 2010) devrait permettre d'utiliser leur important potentiel régénératif (lié à leur pluripotence) dans de bonnes conditions de sécurité (Jensen, Yan et al. 2011; Polentes, Jendelova et al. 2012). Les progrès de la culture cellulaire et de la biologie de ces cellules souches (embryonnaires et surtout iPS) permettent aujourd'hui de les voir comme des sources très prometteuses en médecine régénérative (Yamanaka 2012; Okano, Nakamura et al. 2013).
Afin de comparer les CSM issues de la moelle osseuse et les CSM dérivées d'iPS après ischémie cérébrale, nous participons à un **projet ANR « STEMMED »** avec Mme B. Onteniente (I-Stem – Evry) et Mme le Pr N. Kubis (Physiologie, Lariboisisère).

Enfin, le développement des biomatériaux pourrait avoir un intérêt en thérapie cellulaire tel que la greffe de cellules souches sur une matrice biocompatible. De telles matrices permettent la différentiation de CSM (Wang, Wang et al. 2009) et semblent améliorer la restauration tissulaire après un infarctus cérébral (Jin, Jeong et al. 2009). Ce type de traitement novateur nécessite encore des évaluations expérimentales chez l'animal avant d'envisager une application clinique. A l'avenir, il sera utile d'étudier l'utilisation de ces biomatériaux comme « porteurs » de cellules souches d'intérêt telles que des précurseurs neuraux issus de cellules embryonnaires (Jin, Mao et al. 2009) ou de facteurs trophiques tels que le VEGF (Yamashita, Deguchi et al. 2011).

Pour évaluer la sécurité de ces nouvelles sources et d'éventuels biomatériaux, le travail collaboratif de recherche avec l'Unité de Thérapie Cellulaire CHU/EFS et la plateforme nationale E-Cell France sera essentiel.

*** Améliorer les essais précliniques :**
Il convient de garder à l'esprit les échecs de la recherche sur les traitements neuroprotecteurs dans le cadre de l'AVC. De nombreuses réflexions se sont engagées pour améliorer la qualité des études précliniques et ainsi assurer le maximum de chance de succès à l'application clinique. La complexité de la thérapie cellulaire après un AVC (Savitz 2009) nécessite une collaboration étroite entre chercheurs et cliniciens pour développer en parallèle des études expérimentales de qualité et les premiers essais cliniques. Les études de physiopathologie sont nécessaires en plus des études thérapeutiques.
Certaines règles ont été proposées (Steps 2009) pour améliorer les études précliniques de thérapie cellulaire après un AVC :

- L'hétérogénéité des AVC chez l'homme nécessite l'utilisation d'au moins 2 modèles d'ischémie focale sur différentes souches de rats, de sexe et d'âge différents. La modélisation *in vivo* des lésions de la substance blanche et de l'unité neuro-vasculaire pourrait nécessiter des études chez le primate.

- La source cellulaire doit être bien caractérisée et répondre aux pré-requis, surtout pour l'utilisation de cellules modifiées génétiquement.
- Le suivi comportemental doit être effectué à l'aide de tests multiples sensori-moteurs et cognitifs, sur des périodes d'au moins un mois. Ces tests doivent être fiables et reproductibles entre différentes équipes.
- Les objectifs précliniques doivent être réalistes en termes d'application clinique : par exemple, ne pas utiliser des doses trop élevées ou des voies invasives à la phase aiguë.
- Dans le cadre de l'utilisation de cellules modifiées génétiquement, le suivi des animaux devrait se faire à vie (sans euthanasie programmée).
- Les études d'effet/dose doivent être privilégiées pour démontrer l'effet de la thérapie cellulaire.
- La qualité méthodologique du protocole expérimental doit être le plus proche possible de celle des essais cliniques (Dirnagl 2006) : utilisation d'une randomisation, d'une évaluation et d'un suivi « aveugles », la mise en place de contrôle qualité ainsi que la publication des résultats négatifs et des biais.

Dans ces conditions, on peut espérer un transfert réussi des résultats expérimentaux encourageants vers l'application clinique de la thérapie cellulaire. L'approche expérimentale, qui doit continuer en parallèle des essais cliniques, devra répondre à de futures interrogations pouvant émerger lors de ces essais, et permettre le développement et l'optimisation de ce traitement prometteur en Neurologie.

En pratique, ces projets translationnels ambitieux devraient nous permettre d'encadrer des travaux de Master et de thèse tant à la faculté de médecine (Master recherche, thèse de médecine), qu'au GIN U 836 pour la part expérimentale. Ainsi, je suis candidat ici au diplôme d'habilitation à diriger des recherches (DHDR) pour poursuivre et encadrer ces travaux translationnels.

VIII. LIEUX DE RECHERCHE

- **Hôpital Pitié-Salpêtrière (Paris VI) / Laboratoire d'Anatomie** : 2000-01 : DU de Morphologie et Imagerie du système nerveux central (Anomalies de l'enroulement de l'hippocampe / étude IRM, Dr D. Hasboun)

- **CERMEP - Unité Cyclotron**, **Hôpital Neurologique Pierre Wertheimer (Université Claude Bernard Lyon 1) et CHU de Grenoble** : 2001-02 : DEA de Neurosciences (Stimulation pallidale dans le traitement des dystonies primaires / étude TEP, Pr E. Broussolle, Dr L. Vercueil, Pr P. Pollak)

- **Hôpital Pitié-Salpêtrière (Paris VI) et CHU de Grenoble** : 2002-04 : DIU de Pathologie Neurovasculaire (Aphasie Handicap Score en Unité Neuro-Vasculaire, Pr M. Hommel, Pr Y. Samson)

- **Hôpital Pitié-Salpêtrière (Paris VI) / Neurologie** : 2004 : Doctorat en Médecine (Aphasie Handicap Score (AHS), Pr Y. Samson)

- **Inserm U 594, Neuroimagerie fonctionnelle et métabolique** (C. Segebarth) : 2006-08 : Poste accueil Inserm

- **Grenoble Institut des Neurosciences GIN - Inserm U 836 UJF/CEA/CHU** (Equipe 5, E. Barbier) : 2010- en cours : Doctorat en Neurosciences – Neurobiologie (Thérapie cellulaire par cellules souches mésenchymateuses dans l'ischémie cérébrale, Pr M. Hommel, C. Rémy)

- ***Institute for Frontier Medical Sciences*** *(Pr Iwata), Université de Kyoto, Japon : 2013-2014 (en projet) : Mobilité de recherche – Fellowship*

IX. ENSEIGNEMENT / ENCADREMENT

- ***HOPITAUX DE PARIS (internat) :***

- Accidents vasculaires cérébraux thalamiques
- Sémiologie des mouvements anormaux involontaires
- Démences
- Syndrome frontal
- Dissections artérielles cervico-encéphaliques
- Antithrombotiques et thrombolyse en urgence dans les accidents ischémiques

- ***FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE :***

- Douleurs des membres et des extrémités (*orientation diagnostique)* : FIHU
- Neuropathies périphériques et syndromes canalaires : FIHU
- Polyradiculonévrites aiguës inflammatoires : FIHU
- Accident vasculaires cérébraux : FIHU
- Apprentissage au Raisonnement Clinique (ARC)
- Apprentissage par Problème (APP)
- Conférence Préparation ECN DCEM3
- DU Contraception-IVG-Sexualité : Neurologie et contraception
- DESC Médecine d'urgence : Gestes à éviter aux urgences devant un AVC
- DU Thérapeutique en médecine d'urgence : Prise en charge des AVC / AVC de la personne âgée

- ***DES DE NEUROLOGIE :***

- Physiopathologie de l'ischémie cérébrale
- AVC du jeune et de l'enfant
- Sténoses intracrâniennes

- ***ECOLE DE KINESITHERAPIE :***

- Coma
- Pathologies neuro-musculaires
- Etiologies en Neurologie
- Syndrome pyramidal – Hémiplégie – Paraplégie – AVC
- Sémiologie neurologique

- ***ECOLE D'INFIRMIERES (IFSI St Egrève, IFSI CHU Grenoble, IFSI St Martin) :***

- Neurologie : physiologie, anatomie et sémiologie
- Fonctions cognitives
- Accidents vasculaires cérébraux
- Cellule nerveuse / Contraction musculaire

- ***M2R SCIENCES CHIRURGICALES – Option Neurosciences :*** Thérapie cellulaire et Neurologie

- ***M2P BIOTHERAPIES TRS (technologies / règlementation / sécurité) :*** CSM et ischémie cérébrale

- ***DIU Urgences et soins intensifs cardiologiques :*** AVC et USIC
- ***DIU Neuroréanimation :*** Physiopathologie de l'ischémie-reperfusion cérébrale

- ***Université Inter-Age de Grenoble :*** AVC « Le cerveau vasculaire »

- ***DIU HTA – risque vasculaire et rénal :*** HTA – AVC et cognition

*** ENCADREMENTS D'ETUDIANTS :**

- **Licence professionnelle** Technologies en Physiologie et Physiopathologie / Application à la Pharmacologie, Université Joseph Fourier Grenoble 1 (D. Dorchene, 2004-05)

- **IUT Génie Biologie** (Analyses biologiques et biochimiques), IUT Université d'Auvergne Clermont 1 (R. Dalmann, 2006-07)

- **M2R Ecologie et Ethologie Appliquée**, Université Jean Monet St Etienne (V. Mayan, 2007-08)

- **M2R Physiologie et Neurosciences**, Université Claude Bernard Lyon 1 (A. Moisan, 2008-09)

- **M2R Physiologie et Neurosciences**, Université Claude Bernard Lyon 1 (M. Barbieux, 2009-10)

- **M2R Physiologie et Neurosciences**, Université Claude Bernard Lyon 1 (I. Favre, 2010-11)

- **Doctorat en Médecine Générale**, Faculté de Médecine de Grenoble (C. Clément, J. Broussard, 2010-11)

- **DIU Pathologies Neurovasculaires** (M. Barbieux, 2009-2011)

- **Doctorat en Neurologie,** Faculté de Médecine de Grenoble (M. Barbieux, 2010-2011)

- **DIU Pathologies Neurovasculaires** (I. Favre, 2010-2012)

- **DIU Pathologies Neurovasculaires** (B. Gory, 2011-2013)

- **M2P Sciences Humaines et Sociales,** Université Lumière Lyon 2 (F. Marti, 2011-2012)

- **Doctorat Neurosciences EDISCE**, Grenoble Université (A. Moisan, 2009-2012)

- **M2R** Neurobiologie, Grenoble Université (V. Hubert, 2012-2013)

- **DIU Pathologies Neurovasculaires** (A. Ieremie, 2012-2013)

- **Doctorat Neurosciences EDISCE**, Grenoble Université (M. Barbieux, 2012-en cours)

X. EXPERTISE / COLLABORATIONS / JURY DE THESE / ACTIVITES INSTITUTIONNELLES

*** Expertise :**

- Revues d'articles :

Revue Neurologique (Paris), Journal of Neuroscience Methods, BMC Neuroscience

- Organisation de congrés :

Société Française de Neurologie Vasculaire (Paris 2008) - Jury posters
Journées de Neurologie de Langue Française (Lyon 2010) – Modérateur
XVIIème congrès de l'Association Posture et Equilibre (APE) : « Equilibre et locomotion » (Grenoble 2010) - Comité d'organisation
Réseau Nord-Alpin des Urgences (RENAU) - Journée des filières / AVC (Janvier 2013) – Organisateur et Modérateur

- Membre des sociétés :

Société Française de Neurologie (SFN)
Société Française de Neurologie Vasculaire (SFNV)
Réseau Nord Alpin des Urgences (RENAU)
Société Française de Bioingénierie Cellulaire et Tissulaire (SFBCT)
Réseau Strokavenir
Plateforme E-Cell France

*** Collaborations :**

- Unités Neuro-Vasculaires : CH Annecy, CH Chambéry, CHU St Etienne
- Médecine Physique et Réadaptation – CHU de Grenoble
- Onco-Hématologie – CHU de Grenoble
- Neuroradiologie / IRM 3T Recherche – CHU de Grenoble
- Unité Mixte de Thérapie Cellulaire – UMTC – CHU de Grenoble – EFS
- Centre d'Investigation Clinique – CIC – CHU de Grenoble
- Grenoble Institut Neurosciences – GIN U 836 Inserm-UJF-CEA
- Inserm U 877, Radiopharmaceutiques Biocliniques
- GIPSA-lab, CNRS UMR 5216
- Inserm U 823, Institut Albert Bonniot
- I-Stem – Evry (B. Onteniente)
- Laboratoire de Physiologie et Explorations Fonctionnelles – Hôpital Lariboisière (Pr N. Kubis)
- Martinos Center, Massachussets General Hospital, Harvard University, Boston US
- Neurorehabilitation and Recovery National Stroke Research Institute, Melbourne, Australie
- *Instiute for Frontier Medical Sciences (University of Kyoto) – en projet (2013-2014)*

*** Participation aux études cliniques :**

- **ECASS-3** (Boehringer Ingelheim, 2003) : The European Cooperative Acute Stroke Study, efficacité et sécurité de la thrombolyse IV par rtPA 3h à 4h30 après infarctus cérébral.
- **FLAME** (Pr Chollet, Neurologie Vasculaire, CHU Toulouse, 2006) : Fluoxétine dans les Accidents vasculaires cérébraux avec déficit MotEur.
- **CLOSE** (Pr Mas, Neurologie Vasculaire, Hôpital Ste Anne, Paris, 2007) : Fermeture percutanée du foramen ovale perméable (vs antiagrégant ou anticoagulant) après infarctus cérébral.
- **ARCADIA-PROFILE** (Pr Plouin / Pr Touzé, Unité d'hypertension artérielle, HEGP/Ste Anne, PHRC 2009) : Etude transversale et suivi de cohorte chez les patients porteurs d'une dysplasie fibromusculaire rénale ou cervicale.
- **THRACE** (Pr Bracard, Neuroradiologie, CHU de Nancy, STIC 2009) : Apport des systèmes de thrombectomie intra-artérielle à la phase aiguë d'un accident ischémique cérébral chez les patients traités par thrombolyse intraveineuse.
- **AMOBES** (Pr Yelnik, Rééducation, GH Lariboisière – Fernand Widal, PHRC 2010) : Quelle doit être la kinésithérapie dans les premiers jours après AVC ?
- **AVC II** (Pr Gueugniaud, Urgences et Réanimation médicale, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, 2010) : Impact d'une formation sur la prise en charge des AVC à la phase aiguë.
- **COVAC** (Pr Guillevin, Médecine Interne, Hôpital Cochin, Paris, 2010): Registre national des vascularites cérébrales primitives.
- **TELOS** (Dr Crozier, Neurologie Vasculaire, Pitié Salpêtrière, Paris, 2010) : Etude de la prise en charge aiguë des AVC graves (en particulier palliative).
- **PROFIL AVC** (Boehringer Ingelheim, 2011) : Projet Régional d'Organisation de la Filière AVC.
- **TVC** (Dr Le Cam-Duchez, Hémostase Vasculaire, CHU de Rouen, PHRC 2010) : Etude de la génération de thrombine et de la dégradation du thrombus dans la thrombose veineuse cérébrale.
- **OPHELIE** (Pr Leys, Neurologie Vasculaire, CHU Lille, PHRC 2012) : Devenir des patients traités par rtPA IV pour une ischémie cérébrale en fonction du rapport sc-tPA / tc-tPA contenu du thrombolytique administré.
- **LIFE** (Pierre Fabre, Pr Chollet, Neurologie Vasculaire, CHU Toulouse, 2012) : Effect of 3-month treatment with F2695 (75mg OD) on improving functional recovery of patients with ischemic stroke.
- **SAS AVC** (Dr Cochen De Cock, Pneumologie, CHU Montpellier, 2012) : Conséquences du syndrome d'apnées obstructives du sommeil sur la récupération fonctionnelle et la survie après un infarctus cérébral sus-tentoriel et impact du traitement par pression positive continue.

*** Jury de thèse :**

- **Radiologie,** 2010, B. Gory : « Angioplastie des sténoses athéromateuses intracrâniennes symptomatiques ».
- **Médecine Générale**, 2011, C. Dornier et C. Gasseur : « Filière SOS AIT, gérer l'urgence en confiance »
- **Neurologie,** 2011, M. Barbieux : « AVC ischémique du sujet jeune et consommation de toxiques »
- **Médecine Générale**, 2011, C. Clément et J. Broussard : « Etude et Analyse des besoins pour l'élaboration d'un outil de Suivi et d'Information après un AVC : EASI-AVC »
- **Médecine Générale**, 2012, A. Garnier : « Etat des lieux des connaissances des consultants au cabinet de soins primaires sur les principales questions de santé publique »
- **Sciences-Santé (Neurosciences, UCBL Lyon 1),** 2012, A. Riou : « Evaluation IRM d'une stratégie de thérapie cellulaire dans un modèle d'ischémie cérébrale transitoire chez le rat »
- **Neurologie,** 2012, I. Favre : « Réorganisation des aires motrices après un infarctus cérébral : metanalyse des études de neuro-imagerie fonctionnelle »
- **Médecine Générale**, 2012, M. Popier : « Prise en charge de la migraine de l'adulte en médecine générale »
- **Médecine Générale**, 2012, T. Chanvillard : « Evaluation de la connaissance de la maladie et de l'observance thérapeutique des patients après un accident vasculaire cérébral »

*** Activités institutionnelles :**

- Vice-président du syndicat des CCA (CHU de Grenoble, 2004-2006)
- Médecin responsable d'UF « Pathologies Neuro-Vasculaires » du CHU Grenoble (2009 - en cours)
- Médecin référent du CREX (Comité de retour d'expérience) du Pôle de Psychiatrie et de Neurologie (CHU de Grenoble, 2010 – 2012)
- Médecin responsable de la garde de neurologie et de la continuité des soins (2009 – en cours)
- Médecin référent auprès de la Commission de Continuité des Soins et de la Permanence Pharmaceutique (CCOSPP) (CHU de Grenoble, 2010 - en cours)
- Membre du comité de pilotage de la plateforme IRM CHU-GIN (Grenoble Institut des Neurosciences) (2010 – en cours)
- Comité Scientifiques FRAES /ARS « Campagne AVC – grand public » (2012)
- E-Cell France (ANR « Infrastructures Nationales en Biologie et Santé », Plateforme Nationale pour la médecine régénératrice basée sur les cellules souches mésenchymateuses adultes) : comité scientifique et de pilotage / études précliniques et cliniques de thérapie cellulaire post-AVC et en Neurologie (2012 - en cours)
- Centre de référence national « AVC de l'enfant » (CHU de St Etienne) (2012- en cours)
- Conseil pédagogique de l'école de kinésithérapie du CHU (2012- en cours)

BIBLIOGRAPHIE

Aggarwal, S. and M. F. Pittenger (2005). "Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses." Blood 105(4): 1815-1822.

Alvarez-Dolado, M. (2007). "Cell fusion: biological perspectives and potential for regenerative medicine." Front Biosci 12: 1-12.

Alvarez-Dolado, M., R. Pardal, et al. (2003). "Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes." Nature 425(6961): 968-973.

Appelros, P., B. Stegmayr, et al. (2009). "Sex differences in stroke epidemiology: a systematic review." Stroke 40(4): 1082-1090.

Arai, K., G. Jin, et al. (2009). "Brain angiogenesis in developmental and pathological processes: neurovascular injury and angiogenic recovery after stroke." FEBS J 276(17): 4644-4652.

Bang, O. Y., J. S. Lee, et al. (2005). "Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients." Ann Neurol 57(6): 874-882.

Barbosa da Fonseca, L. M., B. Gutfilen, et al. (2010). "Migration and homing of bone-marrow mononuclear cells in chronic ischemic stroke after intra-arterial injection." Exp Neurol 221(1): 122-128.

Berlucchi, G. and H. A. Buchtel (2009). "Neuronal plasticity: historical roots and evolution of meaning." Exp Brain Res 192(3): 307-319.

Bhasin, A., M. V. Padma Srivastava, et al. (2012). "Stem cell therapy: A clinical trial of stroke." Clin Neurol Neurosurg.

Borlongan, C. V., A. Evans, et al. (2005). "Limitations of intravenous human bone marrow CD133+ cell grafts in stroke rats." Brain Res 1048(1-2): 116-122.

Borlongan, C. V., Y. Kaneko, et al. (2010). "Menstrual blood cells display stem cell-like phenotypic markers and exert neuroprotection following transplantation in experimental stroke." Stem Cells Dev 19(4): 439-452.

Borlongan, C. V., J. G. Lind, et al. (2004). "Bone marrow grafts restore cerebral blood flow and blood brain barrier in stroke rats." Brain Res 1010(1-2): 108-116.

Chamberlain, G., J. Fox, et al. (2007). "Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing." Stem Cells 25(11): 2739-2749.

Chen, J. and M. Chopp (2006). "Neurorestorative treatment of stroke: cell and pharmacological approaches." NeuroRx 3(4): 466-473.

Chen, J., Y. Li, et al. (2003). "Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat." J Neurosci Res 73(6): 778-786.

Chen, J., Y. Li, et al. (2001). "Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats." Stroke 32(4): 1005-1011.

Chen, J., Y. Li, et al. (2004). "Combination therapy of stroke in rats with a nitric oxide donor and human bone marrow stromal cells enhances angiogenesis and neurogenesis." Brain Res 1005(1-2): 21-28.

Chen, J., A. Shehadah, et al. (2012). "Neuroprotective Effect of Human Placenta-derived Cell Treatment of Stroke in Rats." Cell Transplant.

Chen, R., L. G. Cohen, et al. (2002). "Nervous system reorganization following injury." Neuroscience 111(4): 761-773.

Chollet, F., V. DiPiero, et al. (1991). "The functional anatomy of motor recovery after stroke in humans: a study with positron emission tomography." Ann Neurol 29(1): 63-71.

Chollet, F., J. Tardy, et al. (2011). "Fluoxetine for motor recovery after acute ischaemic stroke (FLAME): a randomised placebo-controlled trial." Lancet Neurol 10(2): 123-130.

Correa, P. L., C. T. Mesquita, et al. (2007). "Assessment of intra-arterial injected autologous bone marrow mononuclear cell distribution by radioactive labeling in acute ischemic stroke." Clin Nucl Med 32(11): 839-841.

Darsalia, V., S. J. Allison, et al. (2011). "Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain." J Cereb Blood Flow Metab 31(1): 235-242.

De Vasconcelos Dos Santos, A., J. da Costa Reis, et al. (2010). "Therapeutic window for treatment of cortical ischemia with bone marrow-derived cells in rats." Brain Res 1306: 149-158.

Detante, O., A. Moisan, et al. (2009). "Intravenous administration of 99mTc-HMPAO-labeled human mesenchymal stem cells after stroke: in vivo imaging and biodistribution." Cell Transplant 18(12): 1369-1379.

Detante, O., S. Valable, et al. (2012). "Magnetic resonance imaging and fluorescence labeling of clinical-grade mesenchymal stem cells without impacting their phenotype: study in a rat model of stroke." Stem Cells Transl Med 1(4): 333-341.

Dirnagl, U. (2006). "Bench to bedside: the quest for quality in experimental stroke research." J Cereb Blood Flow Metab 26(12): 1465-1478.

Dirnagl, U., J. Klehmet, et al. (2007). "Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance." Stroke 38(2 Suppl): 770-773.

Dirnagl, U. and J. M. Schwab (2009). "Brain-immune interactions in acute and chronic brain disorders." Neuroscience 158(3): 969-971.

Duncan, P. W., R. Zorowitz, et al. (2005). "Management of Adult Stroke Rehabilitation Care: a clinical practice guideline." Stroke 36(9): e100-143.

Eriksson, P. S., E. Perfilieva, et al. (1998). "Neurogenesis in the adult human hippocampus." Nat Med 4(11): 1313-1317.
Esneault, E., E. Pacary, et al. (2008). "Combined therapeutic strategy using erythropoietin and mesenchymal stem cells potentiates neurogenesis after transient focal cerebral ischemia in rats." J Cereb Blood Flow Metab 28(9): 1552-1563.
Glover, L. E., N. Tajiri, et al. (2012). "A Step-up Approach for Cell Therapy in Stroke: Translational Hurdles of Bone Marrow-Derived Stem Cells." Transl Stroke Res 3(1): 90-98.
Hacke, W., M. Kaste, et al. (2008). "Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke." N Engl J Med 359(13): 1317-1329.
Hayase, M., M. Kitada, et al. (2009). "Committed neural progenitor cells derived from genetically modified bone marrow stromal cells ameliorate deficits in a rat model of stroke." J Cereb Blood Flow Metab 29(8): 1409-1420.
Hermann, D. M. and M. Chopp (2012). "Promoting brain remodelling and plasticity for stroke recovery: therapeutic promise and potential pitfalls of clinical translation." Lancet Neurol 11(4): 369-380.
Hermann, D. M. and A. Zechariah (2009). "Implications of vascular endothelial growth factor for postischemic neurovascular remodeling." J Cereb Blood Flow Metab 29(10): 1620-1643.
Hicks, A., T. Schallert, et al. (2009). "Cell-based therapies and functional outcome in experimental stroke." Cell Stem Cell 5(2): 139-140.
Hofstetter, C. P., N. A. V. Holmström, et al. (2005). "Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome." Nat Neurosci 8(3): 346-353.
Honma, T., O. Honmou, et al. (2006). "Intravenous infusion of immortalized human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat." Exp Neurol 199(1): 56-66.
Honmou, O., K. Houkin, et al. (2011). "Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke." Brain 134(Pt 6): 1790-1807.
Horita, Y., O. Honmou, et al. (2006). "Intravenous administration of glial cell line-derived neurotrophic factor gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in the adult rat." J Neurosci Res 84(7): 1495-1504.
Jaillard, A., C. D. Martin, et al. (2005). "Vicarious function within the human primary motor cortex? A longitudinal fMRI stroke study." Brain 128(Pt 5): 1122-1138.
Jensen, M. B., H. Yan, et al. (2011). "Survival and Differentiation of Transplanted Neural Stem Cells Derived from Human Induced Pluripotent Stem Cells in A Rat Stroke Model." J Stroke Cerebrovasc Dis.
Jiang, Y., B. N. Jahagirdar, et al. (2002). "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow." Nature 418(6893): 41-49.
Jin, J., S. I. Jeong, et al. (2009). "Transplantation of mesenchymal stem cells within a poly(lactide-co-epsilon-caprolactone) scaffold improves cardiac function in a rat myocardial infarction model." Eur J Heart Fail 11(2): 147-153.
Jin, K., X. Mao, et al. (2009). "Transplantation of human neural precursor cells in Matrigel scaffolding improves outcome from focal cerebral ischemia after delayed postischemic treatment in rats." J Cereb Blood Flow Metab.
Jin, K., X. Wang, et al. (2006). "Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain." Proc Natl Acad Sci U S A 103(35): 13198-13202.
Jones, T. A. and T. Schallert (1994). "Use-dependent growth of pyramidal neurons after neocortical damage." J Neurosci 14(4): 2140-2152.
Kolb, B., R. Brown, et al. (2001). "Neural compensations after lesion of the cerebral cortex." Neural Plast 8(1-2): 1-16.
Komitova, M., B. Mattsson, et al. (2005). "Enriched environment increases neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the subventricular zone of stroke-lesioned adult rats." Stroke 36(6): 1278-1282.
Kondziolka, D., G. K. Steinberg, et al. (2005). "Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial." J Neurosurg 103(1): 38-45.
Kondziolka, D., L. Wechsler, et al. (2000). "Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke." Neurology 55(4): 565-569.
Krupinski, J., J. Kaluza, et al. (1994). "Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke." Stroke 25(9): 1794-1798.
Kubis, N., Y. Tomita, et al. (2007). "Vascular fate of adipose tissue-derived adult stromal cells in the ischemic murine brain: A combined imaging-histological study." Neuroimage 34(1): 1-11.
Le Blanc, K., F. Frassoni, et al. (2008). "Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study." Lancet 371(9624): 1579-1586.
Lee, J. S., J. M. Hong, et al. (2010). "A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke." Stem Cells 28(6): 1099-1106.
Lees, K. R., J. A. Zivin, et al. (2006). "NXY-059 for acute ischemic stroke." N Engl J Med 354(6): 588-600.
Lefaucheur, J. P. (2006). "Stroke recovery can be enhanced by using repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)." Neurophysiol Clin 36(3): 105-115.
Li, W. Y., Y. J. Choi, et al. (2008). "Mesenchymal stem cells for ischemic stroke: changes in effects after ex vivo culturing." Cell Transplant 17(9): 1045-1059.
Li, Y., J. Chen, et al. (2002). "Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery." Neurology 59(4): 514-523.
Li, Y., J. Chen, et al. (2001). "Treatment of stroke in rat with intracarotid administration of marrow stromal cells." Neurology 56(12): 1666-1672.

Lichtenwalner, R. J. and J. M. Parent (2006). "Adult neurogenesis and the ischemic forebrain." J Cereb Blood Flow Metab 26(1): 1-20.
Lindvall, O. and Z. Kokaia (2010). "Stem cells in human neurodegenerative disorders--time for clinical translation?" J Clin Invest 120(1): 29-40.
Liu, X. S., M. Chopp, et al. (2009). "Angiopoietin 2 mediates the differentiation and migration of neural progenitor cells in the subventricular zone after stroke." J Biol Chem 284(34): 22680-22689.
Liu, X. S., Z. G. Zhang, et al. (2007). "Stroke induces gene profile changes associated with neurogenesis and angiogenesis in adult subventricular zone progenitor cells." J Cereb Blood Flow Metab 27(3): 564-574.
Loubinoux, I., C. Carel, et al. (2003). "Correlation between cerebral reorganization and motor recovery after subcortical infarcts." Neuroimage 20(4): 2166-2180.
Mathers, C. D. and D. Loncar (2006). "Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030." PLoS Med 3(11): e442.
Mezey, E., S. Key, et al. (2003). "Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains." Proc Natl Acad Sci U S A 100(3): 1364-1369.
Moisan, A., N. Pannetier, et al. (2012). "Intracerebral injection of human mesenchymal stem cells impacts cerebral microvasculature after experimental stroke: MRI study." NMR Biomed 25(12): 1340-1348.
Moniche, F., A. Gonzalez, et al. (2012). "Intra-arterial bone marrow mononuclear cells in ischemic stroke: a pilot clinical trial." Stroke 43(8): 2242-2244.
Murray, C. J. and A. D. Lopez (1997). "Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study." Lancet 349(9061): 1269-1276.
Navaratna, D., S. Guo, et al. (2009). "Mechanisms and targets for angiogenic therapy after stroke." Cell Adh Migr 3(2): 216-223.
Newman, M. B., I. Misiuta, et al. (2005). "Tumorigenicity issues of embryonic carcinoma-derived stem cells: relevance to surgical trials using NT2 and hNT neural cells." Stem Cells Dev 14(1): 29-43.
Nighoghossian, N., M. Wiart, et al. (2008). "Novel applications of magnetic resonance imaging to image tissue inflammation after stroke." J Neuroimaging 18(4): 349-352.
Nudo, R. J. (2006). "Plasticity." NeuroRx 3(4): 420-427.
Ohab, J. J., S. Fleming, et al. (2006). "A neurovascular niche for neurogenesis after stroke." J Neurosci 26(50): 13007-13016.
Okano, H., M. Nakamura, et al. (2013). "Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem cells." Circ Res 112(3): 523-533.
Okita, K., T. Ichisaka, et al. (2007). "Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells." Nature 448(7151): 313-317.
Onda, T., O. Honmou, et al. (2008). "Therapeutic benefits by human mesenchymal stem cells (hMSCs) and Ang-1 gene-modified hMSCs after cerebral ischemia." J Cereb Blood Flow Metab 28(2): 329-340.
Pittenger, M. F. (2008). "Mesenchymal stem cells from adult bone marrow." Methods Mol Biol 449: 27-44.
Plumas, J., L. Chaperot, et al. (2005). "Mesenchymal stem cells induce apoptosis of activated T cells." Leukemia 19(9): 1597-1604.
Polentes, J., P. Jendelova, et al. (2012). "Human induced pluripotent stem cells improve stroke outcome and reduce secondary degeneration in the recipient brain." Cell Transplant 21(12): 2587-2602.
Rha, J.-H. and J. L. Saver (2007). "The impact of recanalization on ischemic stroke outcome: a meta-analysis." Stroke 38(3): 967-973.
Saver, J. L. (2006). "Time is brain--quantified." Stroke 37(1): 263-266.
Savitz, S. I. (2009). "Introduction to cellular therapy: the next frontier for stroke therapeutics." Stroke 40(3 Suppl): S141-142.
Savitz, S. I., M. Chopp, et al. (2011). "Stem Cell Therapy as an Emerging Paradigm for Stroke (STEPS) II." Stroke 42(3): 825-829.
Savitz, S. I., J. Dinsmore, et al. (2005). "Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study." Cerebrovasc Dis 20(2): 101-107.
Savitz, S. I., V. Misra, et al. (2011). "Intravenous autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic stroke." Ann Neurol 70(1): 59-69.
Seminatore, C., J. Polentes, et al. (2010). "The postischemic environment differentially impacts teratoma or tumor formation after transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors." Stroke 41(1): 153-159.
Shen, L. H., Y. Li, et al. (2007). "One-year follow-up after bone marrow stromal cell treatment in middle-aged female rats with stroke." Stroke 38(7): 2150-2156.
Shen, L. H., Y. Li, et al. (2007). "Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke." J Cereb Blood Flow Metab 27(1): 6-13.
Shuaib, A., K. R. Lees, et al. (2007). "NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke." N Engl J Med 357(6): 562-571.
Shyu, W.-C., S.-Z. Lin, et al. (2008). "Stromal cell-derived factor-1 alpha promotes neuroprotection, angiogenesis, and mobilization/homing of bone marrow-derived cells in stroke rats." J Pharmacol Exp Ther 324(2): 834-849.
Sinden, J. D. and K. W. Muir (2012). "Stem cells in stroke treatment: the promise and the challenges." Int J Stroke 7(5): 426-434.
Steps (2009). "Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS): bridging basic and clinical science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke." Stroke 40(2): 510-515.

Sutherland, B. A., J. Minnerup, et al. (2012). "Neuroprotection for ischaemic stroke: Translation from the bench to the bedside." Int J Stroke.
Svensson, J., O. Ghatnekar, et al. (2012). "Societal value of stem cell therapy in stroke - a modeling study." Cerebrovasc Dis 33(6): 532-539.
Takahashi, K., K. Tanabe, et al. (2007). "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors." Cell 131(5): 861-872.
Takahashi, K. and S. Yamanaka (2006). "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors." Cell 126(4): 663-676.
Takahashi, K., T. Yasuhara, et al. (2008). "Embryonic neural stem cells transplanted in middle cerebral artery occlusion model of rats demonstrated potent therapeutic effects, compared to adult neural stem cells." Brain Res 1234: 172-182.
Thored, P., A. Arvidsson, et al. (2006). "Persistent production of neurons from adult brain stem cells during recovery after stroke." Stem Cells 24(3): 739-747.
Thored, P., U. Heldmann, et al. (2009). "Long-term accumulation of microglia with proneurogenic phenotype concomitant with persistent neurogenesis in adult subventricular zone after stroke." Glia 57(8): 835-849.
Todo, K., K. Kitagawa, et al. (2008). "Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor enhances leptomeningeal collateral growth induced by common carotid artery occlusion." Stroke 39(6): 1875-1882.
Toyama, K., O. Honmou, et al. (2009). "Therapeutic benefits of angiogenetic gene-modified human mesenchymal stem cells after cerebral ischemia." Exp Neurol 216(1): 47-55.
Vats, A., R. C. Bielby, et al. (2005). "Stem cells." Lancet 366(9485): 592-602.
Wahlgren, N., N. Ahmed, et al. (2007). "Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study." Lancet 369(9558): 275-282.
Walczak, P., J. Zhang, et al. (2008). "Dual-modality monitoring of targeted intraarterial delivery of mesenchymal stem cells after transient ischemia." Stroke 39(5): 1569-1574.
Wang, L., Z.-H. Wang, et al. (2009). "Differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells grown in terpolyesters of 3-hydroxyalkanoates scaffolds into nerve cells." Biomaterials.
Wang, Y., E. Kilic, et al. (2005). "VEGF overexpression induces post-ischaemic neuroprotection, but facilitates haemodynamic steal phenomena." Brain 128(Pt 1): 52-63.
Wernig, M., A. Meissner, et al. (2007). "In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state." Nature 448(7151): 318-324.
Witte, O. W. and G. Stoll (1997). "Delayed and remote effects of focal cortical infarctions: secondary damage and reactive plasticity." Adv Neurol 73: 207-227.
Yamanaka, S. (2012). "Induced pluripotent stem cells: past, present, and future." Cell Stem Cell 10(6): 678-684.
Yamashita, T., K. Deguchi, et al. (2011). "Vascular protection and restorative therapy in ischemic stroke." Cell Transplant 20(1): 95-97.
Yan, Y.-P., K. A. Sailor, et al. (2007). "Monocyte chemoattractant protein-1 plays a critical role in neuroblast migration after focal cerebral ischemia." J Cereb Blood Flow Metab 27(6): 1213-1224.
Yoo, S.-W., S.-S. Kim, et al. (2008). "Mesenchymal stem cells promote proliferation of endogenous neural stem cells and survival of newborn cells in a rat stroke model." Exp Mol Med 40(4): 387-397.
Zhang, J., Y.-b. Chen, et al. (2005). "Magnetic resonance diffusion tensor microimaging reveals a role for Bcl-x in brain development and homeostasis." J Neurosci 25(8): 1881-1888.
Zhang, J., Y. Li, et al. (2004). "Expression of insulin-like growth factor 1 and receptor in ischemic rats treated with human marrow stromal cells." Brain Res 1030(1): 19-27.
Zhang, R. L., M. Chopp, et al. (2009). "Patterns and dynamics of subventricular zone neuroblast migration in the ischemic striatum of the adult mouse." J Cereb Blood Flow Metab 29(7): 1240-1250.
Zhang, Z. G. and M. Chopp (2009). "Neurorestorative therapies for stroke: underlying mechanisms and translation to the clinic." Lancet Neurol 8(5): 491-500.
Zhao, L.-R., W.-M. Duan, et al. (2002). "Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats." Exp Neurol 174(1): 11-20.