Aix*Marseille université
Socialement engagée

NNT : 0000AIXM0000

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université
le 8 juillet 2024 par

Céline ERTLEN

Etude de l'efficacité de stratégies thérapeutiques utilisant le tissu adipeux sur les récupérations sensorimotrices après une lésion de la moelle épinière chez le rat

Discipline
Sciences du Mouvement Humain

École doctorale
ED 463 – Sciences du Mouvement Humain

Laboratoire/Partenaires de recherche
Institut des Sciences du Mouvement (ISM), UMR 7287

Composition du jury

Julie FRADETTE	Rapporteuse
PR, CRCHU, Québec-Univ. Laval	
Marina MARTINEZ	Rapporteuse
PR, Dép. de neurosciences, Univ. de Montréal	
Sandrine BERTRAND	Examinatrice
DR, INCIA, Bordeaux Univ. & CNRS	
François FERON	Examinateur, Président
PR, INP, Aix-Marseille Univ. & CNRS	
Tanguy MARQUESTE	Co-directeur de thèse
MCF-HDR, ISM, Aix-Marseille Univ. & CNRS	
Patrick DECHERCHI	Directeur de thèse
PR, ISM, Aix-Marseille Univ. & CNRS	

INSTITUT DES SCIENCES DU MOUVEMENT ETIENNE JULES MAREY

Affidavit

Je soussignée, Céline ERTLEN, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique du Dr. Tanguy MARQUESTE et du Pr. Patrick DECHERCHI, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat. Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Marseille, le 10 mai 2024



Cette œuvre est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.

Liste des publications et participation aux conférences

Articles publiés

1. **Ertlen C**, Seblani M, Bonnet M, Brezun J-M, Coyle T, Sabatier F, Fuentes S, Decherchi P, Serratrice N, Marqueste T. (2024) Efficacy Of The Immediate Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Autograft On Functional Sensorimotor Recovery After Spinal Cord Contusion In Rats. *Stem Cell Research & Therapy*. https://doi.org/10.1186/s13287-024-03645-z
2. Bonnet M, **Ertlen C**, Seblani M, Brezun J-M, Coyle T, Cereda C, Zuccotti G, Colli M, Desouches C, Decherchi P, Carelli S, Marqueste T. (2024) Activated Human Adipose Tissue Transplantation Promotes Sensorimotor Recovery After Acute Spinal Cord Contusion In Rats. *Cells*. https://doi.org/10.3390/cells13020182
3. Seblani M, **Ertlen C**, Coyle T, Decherchi P, Brezun J-M. (2023) Combined Effect Of Trifluoperazine And Sodium Cromoglycate On Reducing Acute Edema And Limiting Lasting Functional Impairments After Spinal Cord Injury In Rats. *Journal of Experimental Neurology*. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114612

Article en pré-soumission

1. **Ertlen C**, Bonnet M, Seblani M, Coyle T, Brezun J-M, Serratrice N, Decherchi P, Marqueste T. Training Potentiates The Efficacy Of The Adipose-Stromal Vascular Fraction On Sensory-Motor Recovery After An Acute Spinal Contusion In Rats.
2. **Ertlen C**, Bonnet M, Seblani M, Coyle T, Brezun J-M, Cereda C, Zuccotti G, Colli M, Desouches C, Decherchi P, Carelli S, Marqueste T. Preclinical Study Of The Efficacy Of The Combination Of Activated Human Adipose Tissue Transplantation And Treadmill Training On Sensorimotor Recovery After Acute Spinal Contusion In Rats. *Manuscrit en préparation.*

Conférences internationales

1. **Ertlen C**, Seblani M, Bonnet M, Brezun J-M, Coyle T, Sabatier F, Fuentes S, Decherchi P, Serratrice N, Marqueste T. Preclinical Study Of The Therapeutic Efficacy On Functional Recovery Of The Adipose Stromal Vascular Fraction After T10 Spinal Contusion In The Rat. **Poster scientifique, FENS, Paris, Juillet 2022.**

2. **Ertlen C**, Seblani M, Bonnet M, Brezun J-M, Coyle T, Sabatier F, Fuentes S, Decherchi P, Serratrice N, Marqueste T. Neuroprotective Effects Of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction On Acute Spinal Cord Injuries In Rats. **Poster scientifique, ESGCT, Edimbourg, Octobre 2022.**
3. **Ertlen C**, Seblani M, Bonnet M, Brezun J-M, Coyle T, Sabatier F, Fuentes S, Decherchi P, Serratrice N, Marqueste T. Neuroprotective Effects Of The Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction On Acute Spinal Cord Contusion In Rats. **Présentation orale, IFATS, Fort Lauderdale, Novembre 2022.**
4. **Ertlen C**, Bonnet M, Seblani M, Coyle T, Brezun J-M, Serratrice N, Decherchi P, Marqueste T. Training Potentiates The Efficacy Of The Adipose-Stromal Vascular Fraction Autograft On Functional Recovery After An Acute Spinal Cord Contusion In Rats. **Poster scientifique, FENS, Vienne, Juin 2024.**

Conférences nationales

1. **Ertlen C**, Seblani M, Bonnet M, Brezun J-M, Coyle T, Sabatier F, Fuentes S, Decherchi P, Serratrice N, Marqueste T. Sensory-Motor Recovery After T10 Spinal Cord Contusion In The Rat : Effect Of The Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction. **Poster scientifique, JED, Nice, Juin 2022**.
2. **Ertlen C**. Etude De L'efficacité De Stratégies Thérapeutique Utilisant Le Tissu Adipeux Sur Les Récupérations Sensorimotrices Après Une Lésion De La Moelle Epinière Chez Le Rat. **Présentation orale au format MT180, JED, Marseille, Mai 2024**. Lien vidéo : https://youtu.be/dqNq1AVFbAE?si=J-KE6X7IIOjjKWsp

École d'été

1. Mobilités et réalité virtuelle : au-delà du réel ? **Marseille, Mai 2024.**

Résumé et mots clés

Les lésions de la moelle épinière (LME) représentent un problème de santé majeur altérant les fonctions sensorimotrices des individus qui en sont atteints. Ces pertes fonctionnelles varient en fonction du niveau et de la sévérité de la lésion. Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé, en 2021, plus de 15 millions de personnes dans le monde vivaient avec une LME. Ces lésions sont souvent le résultat de traumatismes et peuvent entrainer une altération profonde de la qualité de vie des personnes touchées. Malgré les efforts considérables de recherche déployés depuis de nombreuses décennies, aucune stratégie thérapeutique n'a permis d'obtenir des résultats satisfaisants. Le tissu adipeux (TA) présente un intérêt particulier en raison de ses propriétés endocriniennes et de sa diversité cellulaire qui lui confèrent des capacités trophiques, immunomodulatrices et angiogéniques lorsqu'il est utilisé comme traitement des pathologies du système nerveux central (SNC). Ainsi, il représente une ressource thérapeutique prometteuse pour traiter les LME. Dans un premier temps, nous avons évalué les effets bénéfiques de la greffe de TA mécaniquement activé (GA) et de la greffe de la fraction vasculaire stromale (FVS) dérivée du TA après une contusion médullaire thoracique chez le rat. Nos résultats montrent que les greffes de GA et de la FVS ont réduit la neuroinflammation, restauré la fonctionnalité de la boucle sensorimotrice et rétablit la communication entre les réseaux sous-lésionnels épargnés et les centres supraspinaux, conduisant à des améliorations des fonctions sensorimotrices. Dans un second temps, nous avons constaté que la combinaison de la greffe de FVS avec un entrainement physique potentialisait les effets bénéfiques de la FVS. L'ensemble de nos résultats mettent en évidence les effets bénéfiques de ces deux thérapies cellulaires dans la prise en charge des LME, mais soulignent également la complexité des mécanismes d'action mis en jeu par ces différents traitements. Toutefois, nous pouvons envisager que l'application clinique de stratégies thérapeutiques combinant la réhabilitation fonctionnelle et les thérapies cellulaires dérivées du TA puisse améliorer les récupérations sensorimotrices des personnes atteintes de LME, améliorant ainsi leur qualité de vie.

Mots clés : Lésion de la moelle épinière, Thérapie cellulaire, Tissu adipeux, Neuroprotection, Neuroréhabilitation, Fonctions sensorimotrices

Abstract and keywords

Spinal cord injury (SCI) is a major public health concern, as it leads to impaired sensory and motor functions of those affected. The extent of these functional alterations varies according to the level and severity of the injury. According to data from the World Health Organization, by 2021, over 15 million people worldwide are living with a SCI. These injuries are often the result of trauma and can have widespread and multifactorial consequences on quality of life. Despite the considerable research over the years, no therapeutic strategy has yet achieved satisfactory efficacy. Adipose tissue (AT) is of particular interest due to its endocrine properties and cellular diversity, which confer trophic, immunomodulatory and angiogenic capacities when used to treat pathologies of the central nervous system (CNS). It therefore represents a promising therapeutic resource for the treatment of the SCI. First, we evaluated the therapeutic efficacy of mechanically activated AT (AF) grafting and AT-derived stromal vascular fraction (SVF) grafting after thoracic spinal cord contusion in rats. Our results demonstrate that AF and SVF grafts reduced neuroinflammation, restored sensorimotor loop functionality, and reestablished communication between spared sub-lesional networks and supraspinal centers, resulting in improved in sensorimotor function. Secondly, we found that the combination of SVF grafting with physical training potentiated the beneficial effects of SVF. Our results highlight the beneficial effects of these two cell therapies in the management of SCI, but also underline the complexity of the mechanisms of action involved by these different treatments. Nevertheless, it is conceivable that the clinical implementation of therapeutic strategies integrating functional rehabilitation and AT-derived cell therapies could facilitate sensorimotor recovery in SCI patients, thereby improving their quality of life.

Keywords: Spinal cord injury, Cell therapy, Adipose tissue, Neuroprotection, Neurorehabilitation, Sensorimotor functions

« Commence par faire le nécessaire, puis fais ce qu'il est possible de faire et tu réaliseras l'impossible sans t'en apercevoir. »

Saint François d'Assise

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. Je remercie tout particulièrement la Pr. Julie Fradette et la Pr. Marina Martinez pour la relecture et l'expertise ce manuscrit. Je remercie également le Pr. François Féron et la Dr. Sandrine Bertrand d'avoir accepté l'examen de cette thèse.

Je remercie également mes deux encadrants, le Pr. Patrick Dercherchi et le Dr. Tanguy Marqueste, qui ont suivi mon travail tout au long de ces quatre années. Je vous remercie profondément pour cette liberté que vous m'avez offerte dans mon travail, pour m'avoir fait confiance et pour vos précieux conseils. Patrick, il y a quatre ans je vous ai envoyé une candidature pour une offre thèse destinée aux ressortissants mexicains en me disant « qui ne tente rien n'a rien ! ». Evidemment, votre réponse fut négative, mais un nouveau projet était en train de voir le jour à l'Institut des Sciences du Mouvement, et il manquait justement un doctorant. Mon rêve, tenter de réparer les moelles épinières lésées avec des cellules souches et apporter de l'espoir aux personnes paralysées. Qu'elle chance j'ai eu ! Merci infiniment d'avoir cru en moi et de m'avoir offert cette merveilleuse opportunité de mener à bien ce projet. Tanguy, je pense que peu de doctorants peuvent se vanter d'avoir un directeur prêt à venir au laboratoire déguiser en banane le jour de mardi gras. Merci pour votre supervision, votre optimisme constant, votre humour, votre bonne humeur, et bien sur votre soutien tout au long de cette thèse.

Je tiens également à remercier le Dr. Jean-Michel Brezun auprès de qui j'ai pu acquérir de solides compétences pratiques et théoriques, et qui m'a toujours soutenu durant cette thèse. Merci pour ton aide, tes bons conseils et ta gentillesse.

Je remercie également le Dr. Nicolas Serratrice grâce à qui j'ai eu la chance de pouvoir participer à d'incroyables congrès internationaux, sous le soleil de Miami à siroter des smoothies, ou sous la fine pluie Ecossaise. Merci pour ces aventures mémorables.

Je souhaite exprimer toute ma reconnaissance au Pr. Carine Ali, dont l'enseignement durant mon cursus de Master m'a profondément inspiré et a éveillé en moi une passion pour les Neurosciences. Merci de m'avoir montré la voie et de m'avoir soutenu durant toutes ces années.

Je remercie la Dr. Stephana Carelli avec qui j'ai eu la chance de collaborer, ainsi que l'association « Neurogel En Marche » et le Dr. Christophe Desouches. Merci également aux jeunes femmes qui ont généreusement accepté de participer à ce projet. Leur contribution a été essentielle à la réalisation de ce travail. Je tiens également à remercie l'équipe de l'Unité de Culture et Thérapie Cellulaire de l'hôpital de la Conception pour leur accueil et leur soutien, et en particulier Pauline François d'avoir partagé avec moi son savoir-faire en purification cellulaire.

Je souhaite à exprimer ma gratitude à l'École Doctorale ED 463, en particulier Gilles Montagne et Nathalie Perrin, pour leur aide précieuse et leur accompagnement bienveillant tout au long de ce parcours, ainsi qu'à l'ensemble des membres de l'ISM pour leur accueil, leur soutien et leur gentillesse.

Un grand merci à tous les merveilleux collègues et amis que j'ai rencontré au cours de cette thèse et avec qui j'ai partagé des moments de joie, de rire, de gourmandise, d'ivresse, de souffrance, de folie et d'aventure. Merci à Claire, Coline, Marta, Najib, Lisa, William, Thomas, Marine, Eléonore. J'ai vécu quatre années incroyables et inoubliables à vos côtés. Il fait bon vivre sous le soleil marseillais, mais il est encore plus agréable de travailler avec vous dans ce laboratoire, perdu au cœur des calanques, où l'on peut se permettre un petit run entre copains entre midi et deux et un petit after work au Keg. Merci également à mes WOD partners Hadrien, Laurie, Olivier, Perrine, Rémy. Qu'elle joie d'avoir transpiré ensemble !

Je tiens également à remercier mon incroyable coach et ami Olivier Chabrol, grâce à qui j'ai pu vivre l'extraordinaire aventure MT180. Tu as su me donner confiance en moi et en ma capacité à transmettre ma science. Et bien sûr, je n'oublie pas nos formidables sessions de grimpe, passées et à venir.

Un merci tout particulier à Gaëtan, mon binôme, qui m'a soutenu, aidé, motivé, apaisé et supporté avec beaucoup de patience ! Sans toi, ces derniers mois de thèse auraient été très différents, bien plus durs et bien moins fun. On a jusque-là partagé beaucoup de moments mémorables, entre défis, réussites et fous rires, et je sais que de belles aventures nous attendent encore. Merci à toi.

Un immense merci à mon très cher ami Mostafa Seblani, pour qui j'éprouve une grande admiration et un profond respect, et qui a su m'épauler, me guider, m'inspirer et me supporter durant cette thèse. Un grand merci également à Maxime Bonnet, auprès de qui j'ai beaucoup appris, et qui a toujours été là pour partager son expérience, ses conseils avisés et sa gentillesse. Sans vous deux, cette thèse n'aurait vraiment pas été la même !

A tous mes amis qui ont su être là pour moi, même à distance, pour me soutenir, m'encourager, me faire rire et me réconforter. Merci à Elodie, Nicolas, Maia, Baptiste, Cyrielle, Angie, Jonathan, Sophie, Frédérique et Gwendoline. Pour finir, je remercie infiniment ma famille pour votre présence, votre soutien indéfectible et votre amour inconditionnel. Vous m'avez porté jusqu'ici. À mes parents, ma sœur adorée et ma petite Lilou, merci du fond du cœur d'avoir toujours cru en moi. Mais surtout un immense merci à mes deux grands-mères bien aimées, pour leurs encouragements, leur bienveillance et tout leur amour. Merci d'avoir veillé sur moi toutes ces années. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible. **Merci**.

Table des matières

Affidavit 1

Liste des publications et participation aux conférences 2

Résumé et mots clés 4

Abstract and keywords 5

Remerciements 8

Table des matières 11

Table des figures 16

Liste des tableaux 17

Liste des abréviations 18

1 Introduction 21

2 Cadre théorique 25

2.1 La moelle épinière . . . 25

2.1.1 Anatomie et fonctions . . . 25

2.1.1.1 Localisation et anatomie générale . . . 25

2.1.1.2 Organisation anatomique de la moelle épinière . . . 28

2.1.1.2.1 Méninges . . . 28

2.1.1.2.2 Réseau vasculaire . . . 30

2.1.1.2.3 Substance grise . . . 33

2.1.1.2.4 Substance blanche . . . 36

2.1.1.3 Fonctions de la moelle épinière . . . 50

2.1.1.3.1 Centre d'organisation et d'intégration des informations somatosensorielles et motrices . . . 50

2.1.1.3.2 Centre d'intégration et d'organisation des réflexes . 53

2.1.2 Divergences anatomiques et fonctionnelles entre l'Homme et le rat . . 54

2.2 Lésions de la moelle épinière . . . 57
2.2.1 Epidémiologie . . . 57
2.2.2 Étiologie . . . 60
2.2.3 Physiopathologie de la lésion médullaire . . . 62
2.2.3.1 Lésion primaire . . . 62
2.2.3.2 Lésion secondaire . . . 64
2.2.3.2.1 Phase aigüe . . . 64
2.2.3.2.2 Phase subaigüe . . . 66
2.2.3.2.3 Phase chronique . . . 68
2.2.4 Prise en charge et pronostics . . . 69
2.2.4.1 Prise en charge actuelle des patients . . . 69
2.2.4.2 Pronostics . . . 72
2.2.5 Atteintes des fonctions somatiques . . . 73
2.2.6 Atteintes des fonctions autonomes . . . 73
2.2.6.1 Déficits du système cardiovasculaire . . . 74
2.2.6.2 Déficits du système ventilatoire . . . 74
2.2.6.3 Déficits des systèmes gastro-intestinal et génito-urinaire . . . 75
2.2.7 Récupérations spontanées . . . 76
2.2.8 Modèles expérimentaux pertinents . . . 80
2.2.8.1 Types de lésion . . . 80
2.2.8.2 Modèles animaux . . . 81
2.2.9 Stratégies de restauration après une lésion médullaire . . . 84
2.2.9.1 Restauration anatomique de tissu médullaire lésé . . . 84
2.2.9.1.1 Stratégies neuroprotectrices . . . 85
2.2.9.1.2 Stratégies neurorégénératives . . . 86
2.2.9.1.3 Les thérapies cellulaires . . . 88
2.2.9.2 Stratégies de réhabilitation et restauration fonctionnelle . . . 90
2.2.9.2.1 Stratégies de neuroréhabilitation . . . 90
2.2.9.2.2 Thérapies combinées . . . 95
2.2.9.2.3 Thérapies cellulaires et entrainement physique . . . 97
2.3 Le tissu adipeux . . . 99
2.3.1 Composition du tissu adipeux . . . 99
2.3.1.1 Différents types de tissus adipeux, organisation anatomique et fonctionnelle . . . 99
2.3.1.1.1 Tissus adipeux brun et beige . . . 99

2.3.1.1.2 Tissu adipeux blanc 100
2.3.1.2 Composition cellulaire du tissu adipeux : la fraction vasculaire stromale 102
2.3.1.2.1 Cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux 103
2.3.1.2.2 Cellules progénitrices endothéliales 105
2.3.1.2.3 Cellules d'origine hématopoïétique 106
2.3.1.2.4 Péricytes 108
2.3.2 Propriétés physiologiques et mécanismes d'action de la fraction vasculaire stromale 109
2.3.2.1 Propriétés régénératives 109
2.3.2.2 Propriétés immunomodulatrices 111
2.3.2.3 Propriétés angiogéniques 113
2.3.2.4 Applications cliniques de la fraction vasculaire stromale . . . 117
2.3.3 Tissu adipeux comme un organe endocrine 118
2.4 Stratégies thérapeutiques à base de tissu adipeux 122
2.4.1 Utilisation thérapeutique du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central 122
2.4.1.1 Utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central 122
2.4.1.2 Utilisation thérapeutique des adipokines dérivées du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central 124
2.4.2 Utilisation thérapeutique du tissu adipeux pour les lésions de la moelle épinière 125
2.4.2.1 Tissu adipeux mécaniquement activé 125
2.4.2.1.1 Activation mécanique du tissu adipeux : propriétés immunomodulatrices et activation génique 125
2.4.2.1.2 Tissu adipeux mécaniquement activé dans les lésions expérimentales de la moelle épinière 127
2.4.2.2 Fraction vasculaire stromale 128
2.4.2.2.1 Utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux pour les lésions de la moelle épinière 128

2.4.2.2.2 Fraction vasculaire stromale : une alternative aux cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux en thérapie . . . 131

3 Objectifs de la thèse 133

4 Méthodologie de la recherche 135

4.1 Modèle animal . . . 135
4.2 Chronologie expérimentale . . . 136
4.3 Matériel biologique dérivé du tissu adipeux . . . 139
4.3.1 Prélèvement du matériel biologique . . . 139
4.3.1.1 Prélèvement du tissu adipeux humain . . . 139
4.3.1.2 Prélèvement de tissu adipeux de rat . . . 139
4.3.2 Préparation du matériel biologique . . . 140
4.3.2.1 Activation mécanique du tissu adipeux humain . . . 140
4.3.2.2 Isolement de la fraction vasculaire stromale . . . 141
4.3.3 Méthodes d'administration . . . 143
4.3.3.1 Dépôt de tissu adipeux humain mécaniquement activé . . . 143
4.3.3.2 Injection de fraction vasculaire stromale . . . 143

5 Articles de recherche 144

5.1 Article I. . . . 144
5.2 Article II. . . . 172
5.3 Article III. . . . 193

6 Discussion 222

6.1 Synthèse des résultats . . . 222
6.2 Comparaison des thérapies cellulaires . . . 224
6.2.1 Réduction de l'inflammation endogène . . . 224
6.2.2 Récupérations fonctionnelles . . . 227
6.2.3 Restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales . . . 233
6.2.4 Synthèse sur l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux couplées à un entrainement physique sur les lésions de la moelle épinière 235
6.3 Comparaison des thérapies cellulaires couplées à un entrainement physique . . . 237
6.3.1 Récupérations fonctionnelles . . . 237
6.3.2 Restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales . . . 240

6.3.3 Synthèse sur l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux couplées à un entrainement physique sur les lésions de la moelle épinière 241

7 Perspectives **243**

7.1 Approfondissement des études précliniques 243

7.2 Vers une application clinique 246

8 Conclusion **248**

Annexe 1 **249**

Bibliographie **253**

Table des figures

1 Anatomie de la colonne vertébrale et de la moelle épinière humaines, et identification des dermatomes. . . . 27
2 Représentation schématique des méninges spinales. . . . 29
3 Représentation du réseau vasculaire de la moelle épinière. . . . 31
4 Représentation de la perfusion intra-spinale. . . . 32
5 Représentation schématique de l'organisation cytoarchitecturale de substance grise de la moelle épinière. . . . 35
6 Organisation de la substance blanche de la moelle épinière. . . . 38
7 Représentation schématique des principales voies de la sensibilité mécanique. . . . 40
8 Représentation schématique des voies ascendantes de la sensibilité thermique et nociceptive discriminative. . . . 43
9 Représentation schématique du système pyramidal comprenant les voies descendantes motrices corticospinale et corticobulbaire à destination des motoneurones innervant les muscles squelettiques. . . . 46
10 Schéma résumant les entrées périphériques et locales qui modulent l'activation des motoneurones α pour un muscle agoniste. . . . 52
11 Divergences anatomiques et fonctionnelles de la moelle épinière du rat et de l'Homme. . . . 56
12 Incidence annuelle des lésions de la moelle épinière. . . . 59
13 Étiologies des lésions traumatiques de la moelle épinière dans divers pays. . . . 62
14 Dynamique temporelle de la réponse inflammatoire et des réponses cellulaires après une lésion de la moelle épinière. . . . 65
15 Échelle de déficience de l'American Spinal Injury Association. . . . 70
16 Plasticité post-lésionnelle spontanée. . . . 77
17 Localisation des principaux dépôts de tissu adipeux chez l'Homme et le rongeur. 101
18 Composition de la fraction vasculaire stromale dérivée du tissu adipeux. . . . 103
19 Effet paracrine des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux. 104
20 Mécanismes d'actions potentiels des CSA et des CE présentes dans le FVS pour l'angiogenèse. . . . 114
21 Mécanismes d'action possibles des cellules de la fraction vasculaire stromale et de leurs vésicules extracellulaires dans une contexte d'inflammation et de régénérescence tissulaire. . . . 116

22 Chronologie expérimentale des études conduites pendant ce travail doctoral. . 138
23 Étapes de prélèvement de tissu adipeux de rat. 140
24 Étapes de lavage du tissu adipeux humain. 141
25 Étapes d'isolement de la fraction vasculaire stromale à partir du tissu adipeux épididymaire de rat. 143

Liste des tableaux

1 Classification des fibres nerveuses composant les voies spinales ascendantes et leurs fonctions. 36
2 Exemples de facteurs sécrétés par le tissu adipeux et leurs fonctions/effets respectifs sur leurs cibles. 119

Liste des abréviations

AINS Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

AIS ASIA impairment scale.

Ang Angiotensine.

ANGPT Angiopoïétine.

ASIA American Spinal Injury Association.

ATR Récepteur de l'angiotensine.

AVC Accident vasculaire cérébral.

Bax Protéine X associée à Bcl-2.

BDNF Facteur neurotrophique dérivé du cerveau.

BHE Barrière hémato-encéphalique.

BHS Barrière hématospinale.

BMSC Cellule souche mésenchymateuse dérivée de la moelle osseuse.

BWSTT Entraînement sur tapis roulant avec support de poids corporel.

CEO Cellule enveloppante olfactive.

CNTF Facteur neurotrophique ciliaire.

CPE Cellule progénitrice endothéliale.

CPG Générateurs centraux de rythmes.

CSA Cellule souche mésenchymateuse dérivée du tissu adipeux, ou cellule souche adipeuse.

CSE Cellule souche embryonnaire.

CSH Cellule souche hématopoïétique.

CSM Cellule souche mésenchymateuse.

CSN Cellule souche neurale.

EGF Facteur de croissance épithélial.

FGF Facteur de croissance fibroblastique.

FNDC5 Protéine membranaire 5 contenant le domaine de la fibronectine de type III.

FVS Fraction vasculaire stromale.

GA Tissu adipeux mécaniquement activé (ou Graisse activée).

GDNF Facteur neurotrophique dérivé des cellules gliales.

GFAP Protéine acide fibrillaire gliale.

HGF Facteur de croissance des hépatocytes.

IFATS Fédération internationale pour la thérapeutique et la science adipeuses.

IGF-1 Facteur de croissance analogue à l'insuline 1.

IL Interleukine.

IRM Imagerie par résonance magnétique.

ISCT Société internationale pour la thérapie cellulaire.

LCS Liquide cérébro-spinal.

LME Lésion de la moelle épinière.

LME Lésion traumatique de la moelle épinière (à partir de la page 55).

MAP-2 Protéine associée aux microtubules.

MEC Matrice extra-cellulaire.

MMP-1 Métalloprotéinase 1.

NGF Facteur de croissance neurale.

NSCISC The national spinal cord injury statistical center.

NT-3 Neurotrophine-3.

NTF Facteur neurotrophique.

NTK Lymphocytes T Natural killer.

NTKi Lymphocytes T Natural killer invariants.

OMS Organisation mondiale de la santé.

OPC Précurseurs oligodendrocytaires.

PDGF Facteur de croissance dérivé des plaquettes.

PDGFR Récepteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes.

PGC1-α Protéine coactivatrice gamma 1-α.

PNH Primate non humain.

ROS Radicaux libres de l'oxygène.

SCPi Cellule souche pluripotente induite.

SNC Système nerveux central.

SNP Système nerveux périphérique.

SNS Système nerveux somatique.

TA Tissu adipeux.

TA Tissu adipeux blanc (à partir de la page 98).

TGF-β Facteur de croissance tumoral β.

Th Lymphocytes T auxiliaires.

TNF Facteur de nécrose tumorale.

Treg Lymphocyte T régulateur.

TSG-6 Gène 6 stimulé par le TNF-α.

UCP-1 Protéine de découplage 1.

VEGF Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

VEGF-R Récepteur du Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

1 Introduction

Le système nerveux est un réseau complexe constitué d'élément intervenant dans la perception des stimuli sensoriels, leurs intégrations, et l'organisation de réponses coordonnées. Il assure la production, la transmission et le traitement efficace des influx nerveux à travers tout l'organisme. Il s'agit du réseau de communication rapide. D'un point de vue anatomique, il est composé de deux principales divisions : le système nerveux central (SNC) incluant l'encéphale (cerveau, cervelet et tronc cérébral) et de la moelle épinière, protégés par des structures osseuses telles que le crâne et les vertèbres, et le système nerveux périphérique (SNP) constitué des ganglions et des nerfs périphériques. Du point de vue fonctionnel, on peut distinguer le système nerveux autonome ou végétatif, qui régule les fonctions non soumises au contrôle volontaire et modère l'activité des organes tels que les viscères, les tubes digestifs et les glandes, et le système nerveux somatique, qui englobe les structures neuronales impliquées dans la motricité volontaire des muscles squelettiques.

Le SNC est principalement responsable du traitement, de l'intégration et de la transmission des informations sensorielles (afférentes) reçues du SNP, ainsi que de la coordination des réponses motrices (efférentes). La moelle épinière, située dans le canal vertébral et prolongée depuis la base de l'encéphale, agit comme un relais crucial, en transmettant les signaux nerveux entre l'encéphale et les autres organes du corps, et représente également un lieu d'intégration des messages afférents et efférents. Malgré sa protection par la colonne vertébrale, la moelle épinière est vulnérable aux lésions qui peuvent altérer les fonctions sensorielles et motrices. Les lésions de la moelle épinière (LME) sont souvent dues à des traumatismes tels que des accidents de la route, des chutes ou des actes de violence physique, bien que des causes non traumatiques telles que des tumeurs, des infections ou des maladies neurodégénératives soient également possibles. Les déficits fonctionnels résultant d'une LME dépendent du niveau et de la sévérité de la lésion et peuvent entrainer des conséquences dévastatrices sur la qualité de vie des personnes atteintes, affectant leur bien-être physique, psychologique et social. Selon les

données de l'Organisation Mondiale de la Santé, en 2021, plus de 15 millions de personnes dans le monde vivaient avec une LME. Face à cette réalité, le développement de nouvelles stratégies visant à réparer la moelle épinière et restaurer les fonctions sensorielles et motrices altérées représente un enjeu crucial pour améliorer le quotidien et raviver l'espoir des individus souffrant de LME.

Parmi les stratégies thérapeutiques explorées, les thérapies cellulaires suscitent l'intérêt des chercheurs en médecine régénérative car elles offrent une approche à la fois neuroprotectrice et neurorégénérative dans les troubles du SNC. Un grand nombre d'études se sont penchées sur l'utilisation du tissu adipeux (TA) comme approche prometteuse en médecine régénérative, notamment en raison de sa composition cellulaire, des facteurs et hormones qu'il sécrète, lui conférant des propriétés trophiques, immunomodulatrices et angiogéniques. En plus de la présence d'adipocytes, le TA est composé d'une grande variété de sous-populations cellulaires, telles que des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux (CSA), des cellules progénitrices endothéliales (CPE), des pré-adipocytes, des fibroblastes, des macrophages, des lymphocytes et des péricytes. Ces cellules agissent en synergie et ont des effets neuroprotecteurs et neurorégénérateurs lorsqu'elles sont utilisées comme traitement dans les troubles du SNC, favorisant les récupérations fonctionnelles des patients. Ainsi, le TA représente une ressource thérapeutique prometteuse pour traiter les LME et restaurer les fonctions sensorimotrices des personnes touchées.

Les objectifs principaux de cette thèse étaient d'évaluer les effets bénéfiques de thérapies cellulaires utilisant le TA, combinées ou non avec un entrainement physique sur tapis roulant, sur les récupérations sensorimotrices après une LME.

La première partie de ce manuscrit de thèse consiste en une revue de la littérature divisée en deux sections principales. Dans une première section, nous examinerons en détail l'anatomie générale de la moelle épinière, sa composition cellulaire et ses multiples fonctions au sein du SNC. Dans une approche translationnelle, nous évoquerons également les divergences anatomiques et fonctionnelles existantes entre les moelles épinières humaines et de rats. Nous nous intéresserons ensuite aux LME en commençant par une description épidémiologique et

étiologique. Nous aborderons ensuite la physiopathologie des LME, les différentes atteintes fonctionnelles et les récupérations spontanées qu'elles entrainent. Enfin, nous présenterons les divers modèles animaux utilisés en recherche préclinique pour étudier les LME et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, avant de nous pencher sur les différentes approches de restauration anatomique et fonctionnelle explorées tant en recherche préclinique que clinique. Dans une seconde section nous aborderons le TA en commençant par une présentation de son organisation anatomique et fonctionnelle, de sa composition cellulaire et des diverses propriétés physiologiques de ses sous-populations cellulaires. Nous aborderons également la fonction endocrine du TA. Enfin, nous explorerons différentes stratégies thérapeutiques utilisant le TA dans le traitement des troubles du SNC, avant de nous concentrer plus spécifiquement sur son utilisation thérapeutique dans le contexte des LME.

Dans la seconde partie de ce manuscrit, après avoir défini les objectifs de recherche, nous exposerons les différents travaux entrepris au cours de cette thèse. Les deux premières études visaient à évaluer les effets thérapeutiques du TA sur la modulation de la réponse inflammatoire, le maintien de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales et la promotion des récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire thoracique chez le rat. Deux thérapies cellulaires distinctes ont été testées : la greffe de TA humain activé mécaniquement (GA) (**Article I**) et la greffe de fraction vasculaire stromale (FVS) autologue (**Article II**). L'étude présentée dans l'**Article III** visait à combiner l'approche de thérapie cellulaire par une greffe de FVS avec un programme d'entrainement physique sur tapis roulant. Les résultats de cet article seront présentés sous la forme d'un article scientifique au format « pré-soumission ». Enfin, l'**Annexe 1** présente les résultats préliminaires obtenus dans une étude en cours qui a pour objectif d'évaluer les effets bénéfiques de la combinaison d'une greffe de GA et d'un entrainement physique sur tapis roulant après une LME.

Pour terminer, la troisième partie de ce manuscrit consistera en une discussion générale visant à comparer les différentes stratégies thérapeutiques étudiées dans cette thèse, puis en nous basant sur des données de la littérature, nous essaierons d'expliquer les différences dans les mécanismes d'action impliqués par ces différentes approches. Nous terminerons la discussion en

mettant en lumière les applications précliniques pouvant permettre d'approfondir les nouvelles connaissances générées par cette étude, ainsi que les perspectives de translation clinique des stratégies évaluées dans cette thèse. Enfin, une synthèse générale des résultats obtenus conclura ce manuscrit.

2 Cadre théorique

2.1 La moelle épinière

2.1.1 Anatomie et fonctions

2.1.1.1 Localisation et anatomie générale

Chez l'Homme, la colonne vertébrale est formée d'une succession de vertèbres séparées les unes des autres par des disques intervertébraux élastiques qui permettent à la fois la flexibilité de la colonne vertébrale et apporte résistance et protection vis-à-vis des chocs et des contraintes mécaniques. Les 33 vertèbres de la colonne vertébrale sont regroupées en différents segments vertébraux : 7 vertèbres cervicales (C1-C7), 12 vertèbres thoraciques (T1-T12), 5 vertèbres lombaires (L1-L5), 5 vertèbres sacrées fusionnées (S1-S5) et 4 vertèbres coccygiennes fusionnées (Figure 1A) (Diaz & Morales, 2016). La colonne vertébrale a pour principales fonctions de maintenir la posture du corps et de protéger la moelle épinière qui est un tissu fragile. La moelle épinière est localisée au centre du canal médullaire de la colonne vertébrale et constitue une partie intégrante du système nerveux central (SNC). Elle est constituée de tissus nerveux formant un cordon tubulaire qui présente des renflements notables aux niveaux cervical et lombaire (Figure 1B). Ces renflements sont constitués d'un grand nombre de neurones et correspondent aux segments médullaires qui donnent naissance aux nerfs rachidiens innervant les membres supérieurs et inférieurs respectivement. En effet, le renflement cervical, situé entre C4 et T1, est le point d'entrée et de sortie des neurones sensoriels et des motoneurones innervant les membres supérieurs, alors que celui situé au niveau thoraco-lombaire, entre T10 et L1, regroupe ceux des membres inférieurs (Cho, 2015). Sa surface est parcourue par deux sillons verticaux qui délimitent une moelle droite et gauche : dorsalement, le sillon médian postérieur et ventralement, le sillon médian antérieur. D'un point de vue embryologique, la moelle épinière se développe plus lentement que le canal vertébral, ce qui fait que dès la naissance, il existe une discordance entre la longueur du canal vertébral et de la moelle, qui

reste plus courte et ne remplit pas complètement le canal (Diaz & Morales, 2016 ; Silva et al., 2014). A l'âge adulte, elle se termine avec le cône médullaire, dont le sommet se continue par un cordon filiforme appelé *filum terminal*, en regard du disque intervertébral logé entre les vertèbres L1-L2, puis se dissocie en une multitude de fibres nerveuses, les nerfs spinaux (ou nerfs rachidiens), séparés par du liquide cérébrospinal (LCS) et formant la « queue de cheval ». Ces nerfs spinaux quittent ensuite la moelle épinière et forment le système nerveux périphérique (SNP) qui joue un rôle crucial dans la communication entre le SNC et le reste du corps.

La moelle épinière est divisée en 31 segments dits « spinaux » correspondant aux différents niveaux vertébraux : 8 cervicaux, 12 thoraciques, 5 lombaires, 5 sacrés et 1 coccygien (Figure 1B). À chaque niveau est associé une paire de nerfs spinaux (un droit et un gauche) qui prend le nom de la vertèbre correspondante, à l'exception du niveau spinal C8 qui correspond à la vertèbre T1. Ces nerfs spinaux quittent le canal vertébral par le foramen intervertébral situé à côté du corps vertébral de même numéro. Chaque nerf rachidien est composé d'une racine ventrale (ou antérieure), et d'une racine dorsale (ou postérieure). La racine ventrale est constituée des axones des neurones moteurs (ou motoneurones) qui transmettent les informations motrices (ou efférentes) provenant du SNC vers les effecteurs. La racine dorsale résulte des axones des neurones situés dans le ganglion spinal qui relaient les informations somatosensorielles (ou afférentes) de la périphérie vers le SNC. Tous les nerfs spinaux dérivent de masse tissulaire embryonnaire qui se répètent appelées les somites, expliquant leur organisation segmentaire générale chez l'adulte. Ces nerfs spinaux remontent les informations somatosensorielles de la périphérie, provenant des notamment des muscles, des structures tendineuses et ligamenteuses, des os, des glandes ou encore de la peau. Par ailleurs, chaque paire de nerfs spinaux innerve une surface cutanée spécifique appelée « dermatome » (Figure 1C). La connaissance de l'organisation des dermatomes est primordiale pour déterminer l'emplacement des lésions médullaires (Ahuja, Wilson et al., 2017).

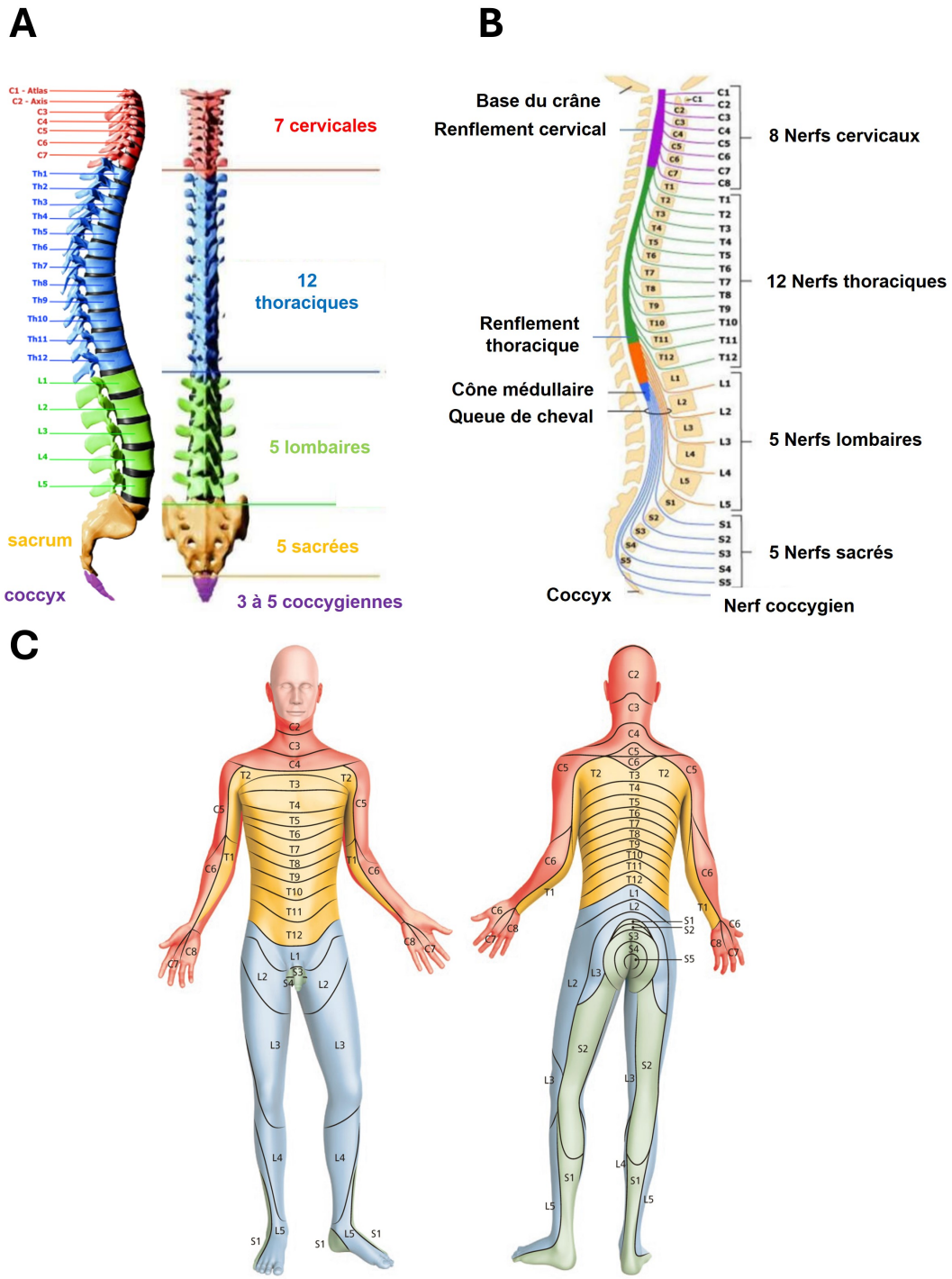


FIGURE 1 – **Anatomie de la colonne vertébrale et de la moelle épinière humaines, et identification des dermatomes. A)** Anatomie des segments vertébraux de la colonne vertébrale humaine en vues latérale droite et postérieure. Vertèbres cervicales (C1-C7), thoraciques (T1-T12), lombaires (L1-L5), sacrées (S1-S5) et coccygiennes (1-5). **B)** Anatomie des segments de la moelle épinière comparés aux segments vertébraux. La moelle épinière est divisée en 31 segments spinaux : 8 cervicaux, 12 thoraciques, 5 lombaires, 5 sacrés et 1 coccygien, desquels partent les nerfs spinaux. La moelle épinière naît au niveau du foramen magnum dans la continuité du tronc cérébrale et s'étend à l'intérieur du canal vertébral et présente deux renflements, un cervical (C4-T1) et un thoraco-lombaire (T10-L1). **C)** Identification des dermatomes humains. (Adaptée de Delarue, 2022 **(A & B)** ; JOHANNES, 2019 **(C)**)

2.1.1.2 Organisation anatomique de la moelle épinière

2.1.1.2.1 Méninges

La moelle épinière, tout comme le cerveau et les racines des nerfs spinaux, est entourée de trois enveloppes appelées « les méninges » qui ont essentiellement un rôle de protection et de soutien, mais contribuent également à sa nutrition et à sa défense immunitaire et au maintien de son homéostasie (Figure 2).

La couche la plus externe, nommée la dure-mère, est une couche épaisse et résistante, peu vascularisée et composée de tissu conjonctif dense formé de collagène. Elle comporte également des terminaisons nerveuses qui assurent son innervation. Au niveau spinal, elle est séparée de l'enveloppe osseuse par un tissu adipeux épidural. Elle fournit une protection physique solide à la moelle épinière contre les traumatismes extérieurs. Sous la dure-mère se trouve l'arachnoïde, une fine couche dépourvue de vascularisation, sous laquelle s'étend l'espace sous-arachnoïdien, richement vascularisée, où baigne le LCS. Ensemble, l'arachnoïde et l'espace sous-arachnoïdien protègent le SNC des chocs mécaniques et participent à la régulation de la pression intraspinale via la production, la circulation et l'absorption du LCS (Wichmann et al., 2022). Par ailleurs ils fournissent les nutriments et l'oxygène essentiels au SNC et permettent le transfert de « déchets » entre le LCS et le tissu nerveux. La pie-mère est la couche la plus interne des méninges. Il s'agit d'une couche très fine directement en contact avec la moelle épinière. Elle comporte un grand nombre de vaisseaux sanguins et constitue une membrane semi-perméable facilitant l'apport de nutriments et d'oxygène (Weller, 2005). Ses qualités élastiques aident à maintenir la rigidité de la moelle épinière et lui permettent de retrouver sa forme originale après compression (Sehgal & M Das, 2024). En raison de leur vascularisation importante, les méninges jouent également un rôle essentiel dans le passage de cellules immunitaires et de médiateurs inflammatoires cruciaux vers le SNC, initiant la réponse immunitaire en cas de lésion ou d'infection.

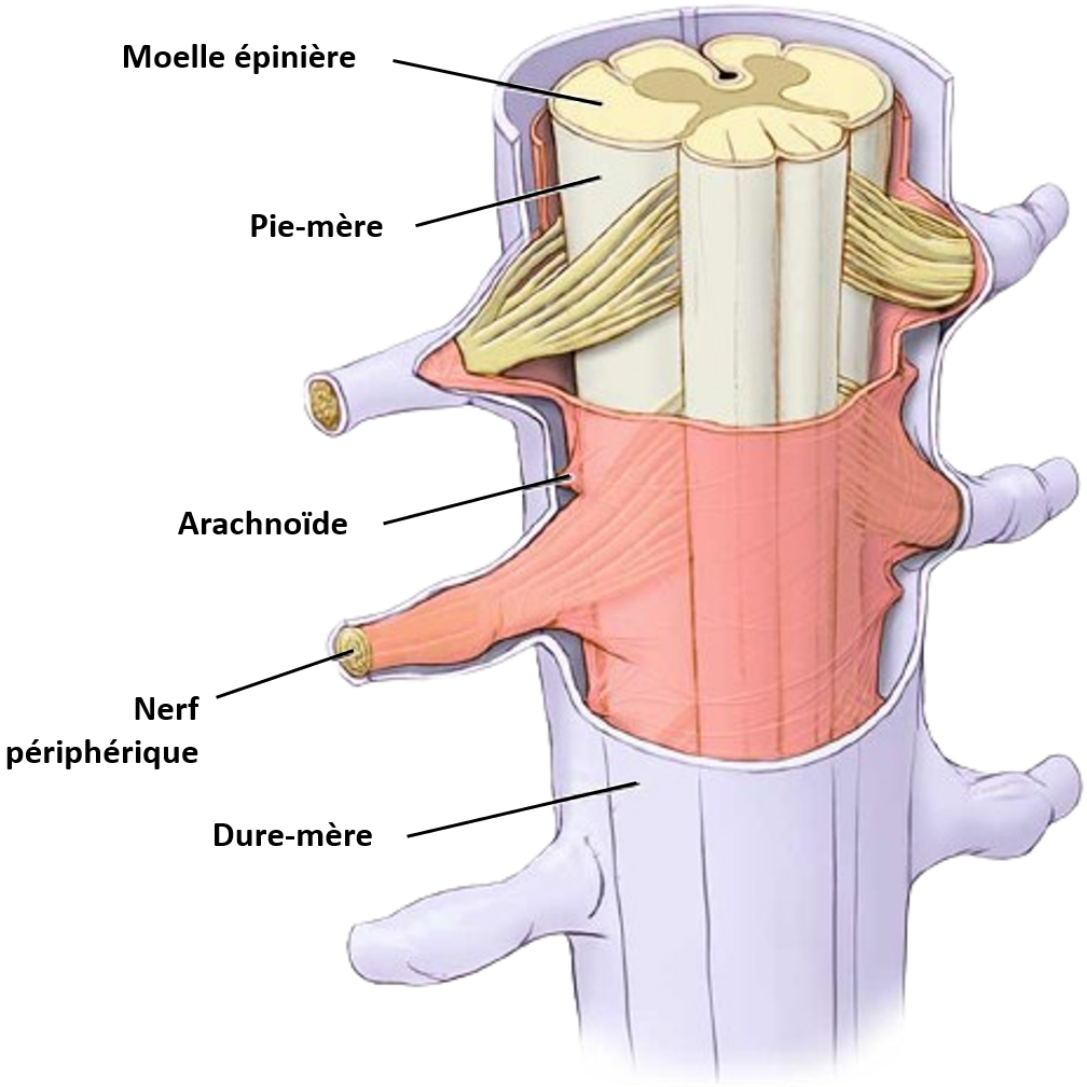


FIGURE 2 – **Représentation schématique des méninges spinales.** Les méninges sont composées de 3 couches distinctes. De la couche la plus superficielle à la plus profonde : La dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère. L'espace sous arachnoïdien, richement vascularisé, sépare la couche arachnoïde de la pie-mère. (Adaptée de Cleveland Clinic©, 2022)

2.1.1.2.2 Réseau vasculaire

La vascularisation de la moelle épinière est cruciale pour son bon fonctionnement (Figure 3A, Figure 4). Le réseau artériel maintient son apport en oxygène et en nutriments nécessaires aux cellules nerveuses. L'aorte est l'origine de l'ensemble de la vascularisation artérielle de la moelle épinière. Parmi les artères qui l'irriguent, on retrouve tout d'abord l'artère spinale antérieure. Son point de départ se situe au niveau des artères vertébrales droite et gauche qui s'anastomosent en dessous du bulbe rachidien pour former une seule artère spinale antérieure qui descend le long de la moelle par le sillon médian antérieur. Elle se termine au niveau du cône terminal où elles s'anastomosent avec les artères spinales postérieures. De plus, elle est l'origine de diverses collatérales qui permettent l'irrigation des deux tiers antérieurs de la moelle épinière. Les deux artères spinales postérieures droite et gauche prennent leur origine au niveau de la face postérieure de l'artère vertébrale, longent les sillons collatéraux droit et gauche puis se terminent au niveau du cône terminal, rejoignant l'artère spinale antérieure. Elles irriguent la majeure partie des cornes et des cordons dorsaux. Les artères spinales antérieures et postérieures se connectent sur le pourtour de la moelle épinière et forment ensemble le cercle périmédullaire qui prolonge ses ramifications au cœur de la substance blanche permettant son irrigation. Les artères radiculaires antérieures et postérieures sont des collatérales des artères vertébrales. Elles entrent dans la moelle épinière par les racines ventrales et dorsales respectivement, aux niveaux thoracique et lombaire et permettent l'irrigation des parties antérieure et postérieure de la moelle épinière. Pour finir, les artères médullaires segmentaires forment des rameaux plus volumineux et fournissent une grande partie de la vascularisation de la moelle épinière, notamment dans les régions thoraciques et lombaires (Santillan et al., 2012 ; Scremin, 2009).

Le système veineux médullaire se compose principalement de veines équivalentes aux artères susmentionnées, qui suivent un schéma similaire de distribution et de drainage (Figure 3B, Figure 4). Ces veines convergent ensuite vers les veines spinales antérieure et postérieure, qui fusionnent pour former respectivement les veines radiculaires antérieures et postérieures. Quand ces dernières traversent la dure-mère, une structure semblable à une valve anti-reflux se forme,

empêchant le reflux sanguin. Ces veines se combinent finalement pour former le système veineux segmentaire de la moelle épinière (Santillan et al., 2012 ; Scremin, 2009).

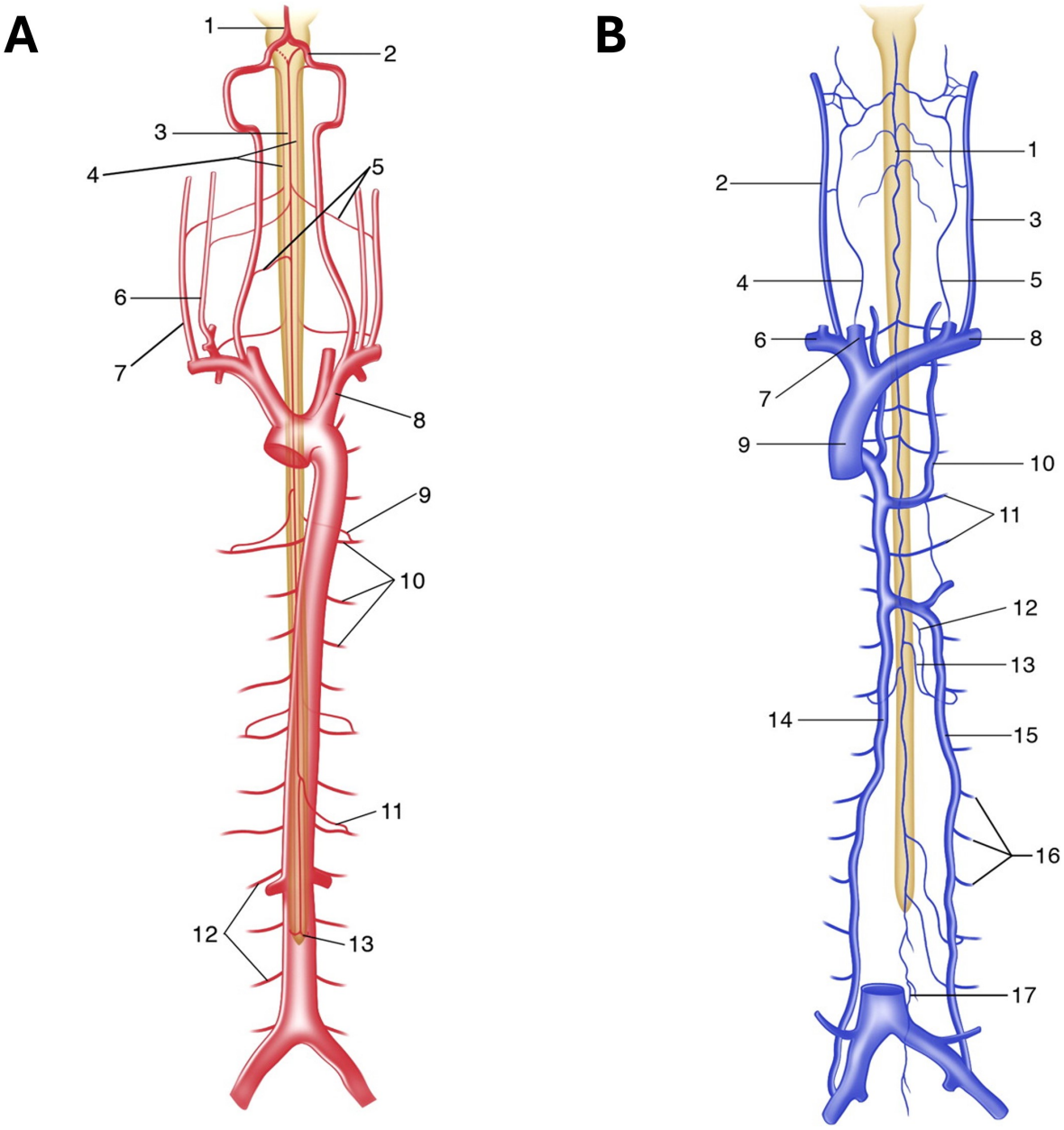


Figure 3 – **Représentation du réseau vasculaire de la moelle épinière. A) Représentation du réseau artériel de la moelle épinière :** 1. Artère basilaire, 2. Artère vertébrale, 3. Artère spinale antérieure, 4. Artères spinales postérieures, 5. Artère radiculo-médullaire antérieure, 6. Artère cervicale ascendante, 7. Artère cervicale profonde, 8. Artère sous-clavière, 9. Artère radiculo-médullaire postérieure, 10. Artères segmentaires, 11. Artère d'Adamkiewiz, 12. Artères segmentaires, 13. Rami cruciante. **B) Représentation du réseau veineux de la moelle épinière :** 1. Veine antérieure médiane, 2. Veine cervicale profonde droite, 3. Veine cervicale profonde gauche, 4. Veine vertébrale droite, 5. Veine vertébrale gauche, 6. Veine sous-clavière, 7. Veine jugulaire interne, 8. Veine brachio-céphalique gauche, 9. Veine cave supérieure, 10. Veine hemiazygos accessoire, 11. Veine intercostale, 12. Veine radiculo-médullaire postérieure, 13. Veine radiculo-médullaire antérieure, 14. Veine azygos, 15. Veine hemiazygos, 16. Veines lombaires, 17. Veine du filum terminal. (Adaptée de Santillan et al., 2012).

Par ailleurs, tout comme le cerveau, la moelle épinière est dépourvue de système lymphatique traditionnel. L'élimination des déchets métaboliques et des toxines se fait par un réseau de drainage du LCS et de circulation du liquide interstitiel dans l'espace périvasculaire du tissu nerveux. Ce système récemment découvert est appelé le système glymphatique (Iliff et al., 2012 ; Plog & Nedergaard, 2018). Parallèlement, il existe un système lymphatique méningé constitué de vaisseaux lymphatiques qui émergent dans la dure-mère, entourant la moelle épinière en suivant les vaisseaux sanguins méningés ainsi que le trajet des nerfs spinaux (Antila et al., 2017).

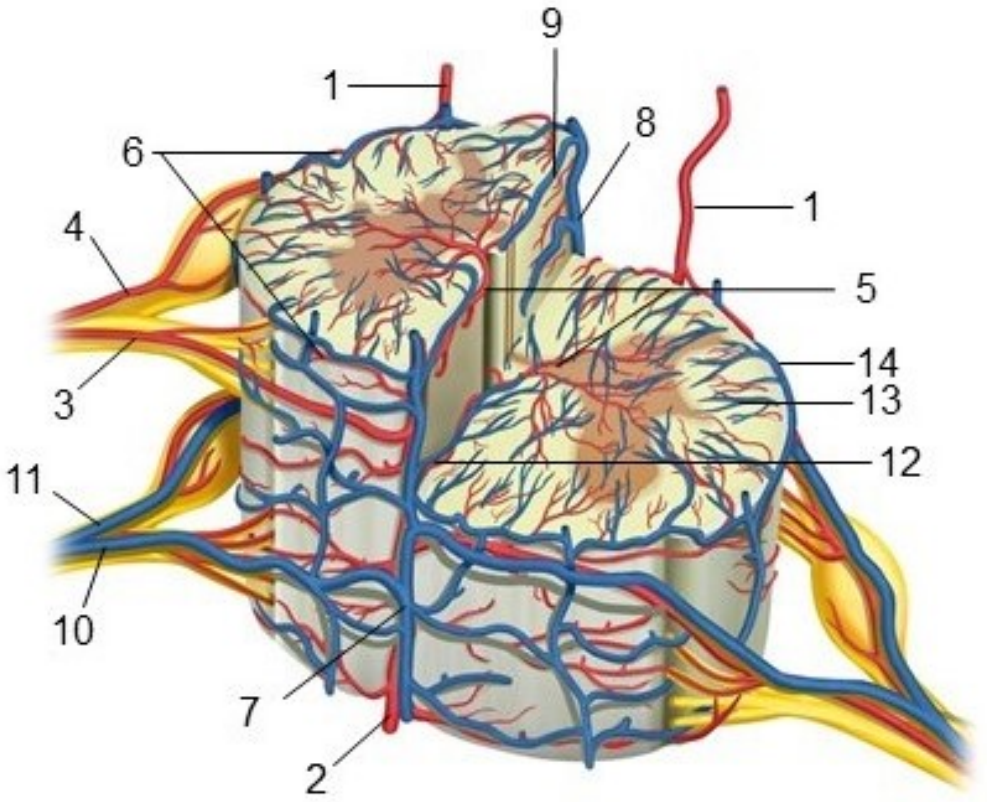


Figure 4 – **Représentation de la perfusion intra-spinale.** 1. Artères spinale postérieure, 2. Artère spinale antérieure, 3. Artère radiculo-médullaire antérieure, 4. Artère radiculo-médullaire postérieure, 5. Artère centrale, 6. vasocorona, 7. Veine spinale antérieure, 8. Veine postérieure médiane, 9. Branches veineuses perforantes, 10. Veine médullo-spinale antérieure, 11. Veine médullo-spinale postérieure, 12. Veine sulco-comissurale, 13. Veines intrinsèques périphériques, 14. Réseau veineux pie-mérien périspinal. (Adaptée de Santillan et al., 2012).

2.1.1.2.3 Substance grise

Une coupe transversale de la moelle épinière révèle une substance grise centrale en forme de papillon et une substance blanche en périphérie (Figure 5). La substance grise contient les corps cellulaires et les dendrites des neurones spinaux, des interneurones, ainsi que des cellules gliales. Elle peut être divisée en trois paires de cornes principales : les cornes dorsales (ou postérieures), ventrales (ou antérieures) et latérales (ou intermédiaires). Les cornes dorsales contiennent les neurones qui reçoivent les informations somatosensorielles provenant de la périphérie du corps en empruntant les racines dorsales des nerfs spinaux. Ces neurones sont dits « sensitifs », leurs axones sont en forme de T et leur corps cellulaire est logé dans les ganglions spinaux, proches de la moelle épinière. Les cornes ventrales contiennent quant à elles les corps cellulaires des motoneurones, dont les axones sortant par les racines ventrales vont innerver les muscles squelettiques. Pour finir, les cornes latérales sont situées principalement au niveau thoracique, entre les cornes ventrales et dorsales et contiennent les corps cellulaires des motoneurones viscéraux préganglionnaires qui projettent sur les ganglions de la chaîne sympathique (Heise & Kayalioglu, 2009).

La substance grise peut également être subdivisée selon l'axe dorso-ventral en dix couches numérotées en chiffre romain de I à X, appelées lames de Rexed, selon le neuroanatomiste suédois Bror Rexed qui fut le premier à établir une organisation de la substance grise basée sur sa cytoarchitecture ainsi que sur la fonction des neurones associés à chaque lame. Les lames de I à VI sont situées dans la corne dorsale et celles de VIII à IX sont situées dans la corne ventrale. On retrouve la lame VII dans la corne latérale et la lame X correspond à la zone entourant le canal de l'épendyme où s'écoule le LCS (Rexed, 1954).

La lame I constitue la lame la plus dorsale. Elle se compose de grands neurones et de neurones plus petits tels que les neurones pyramidaux, fusiformes, multipolaires et aplatis et reçoit les messages des fibres afférentes de faible diamètre associées à la nociception et à la sensibilité thermique. La lame II, également appelée substance gélatineuse, se trouve en position ventrale par rapport à la lame I. Elle contient des interneurones qui modulent la perception de la douleur, et est également impliquée dans le transport des informations thermiques nocives.

Les lames III et IV sont plus épaisses que les deux premières couches et présentent des fibres myélinisées. La lame III est constituée de petites cellules arrondies, légèrement allongées ou fusiformes, alors que la lame IV se compose essentiellement de grands neurones. Ces deux lames partagent les mêmes fonctions et intègrent les messages des fibres afférentes de gros et petit diamètre qui transmettent les informations proprioceptives conscientes telles que la pression mécanique et les vibrations. Les lames V et VI sont localisées à la base de la corne dorsale et comportent des neurones de taille variable et de forme triangulaire, étoilée et fusiforme. Elles intègrent les messages des fibres afférentes de gros et petit diamètre et d'interneurones spinaux. La lame V intègre des afférences sensorielles provenant de la peau, des muscles et des viscères, alors que la lame VI est impliquée dans les réflexes de retrait liés aux stimuli nociceptifs. La lame VII correspond à la large zone située au centre de la substance grise communément appelée substance grise intermédiaire. Elle est principalement composée d'interneurones qui intègrent des projections corticales impliquées dans les fonctions motrices et qui projettent sur les motoneurones de la lame IX. La lame VII participe également au relais des informations somatosensorielles provenant des muscles et des articulations. La lame VIII s'étend sur toute la base de la corne ventrale et est très hétérogène d'un point de vue cytologique. Elle est constituée d'interneurones qui vont moduler l'activité des motoneurones formant la lame IX qui sont essentiels à l'activité motrice, et notamment à la coordination de l'activité locomotrice des deux côtés du corps. Par ailleurs, au niveau des renflements cervical et lombaire, la lame VIII contient des réseaux d'interneurones impliqués dans la coordination des mouvements des membres antérieurs et postérieurs, constituant les « générateurs centraux de rythmes » (CPG) qui jouent un rôle essentiel dans la locomotion. La lame IX est située à la base de la corne ventrale et constitue le siège des motoneurones de la moelle épinière. Les motoneurones α sont les plus grandes cellules de l'organisme. Ils sont généralement de forme d'étoilée et innervent les muscles striés. La lame IX contient également des motoneurones γ qui innervent les fibres contractiles des fuseaux musculaires. Dans cette lame, les motoneurones s'organisent de manière somatotopique : les motoneurones de la partie médiale innervent les muscles axiaux du tronc et proximaux des membres, alors que les motoneurones latéraux innervent les

muscles distaux des membres. Enfin, la lame X forme la zone grise intermédiaire qui entoure le canal central. Elle est composée de neurones pyramidaux, triangulaires et étoilés et intègre des afférences somatiques et viscérales et transmet des informations de nociception viscérale (Bican et al., 2013 ; Candar et al., 2023 ; Heise & Kayalioglu, 2009 ; Nógrádi & Vrbová, 2006 ; Rexed, 1954 ; S. Tan et al., 2023). En plus de son organisation segmentaire, la substance grise s'organise également dans le plan vertical. En effet, des regroupements de motoneurones se forment verticalement, créant des noyaux moteurs qui s'étendent sur plusieurs segments médullaires (Figure 5). Ces noyaux moteurs plurisegmentaires comportent les motoneurones périphériques des muscles qui partagent des synergies fonctionnelles (M. N. Tada & Kuratani, 2015).

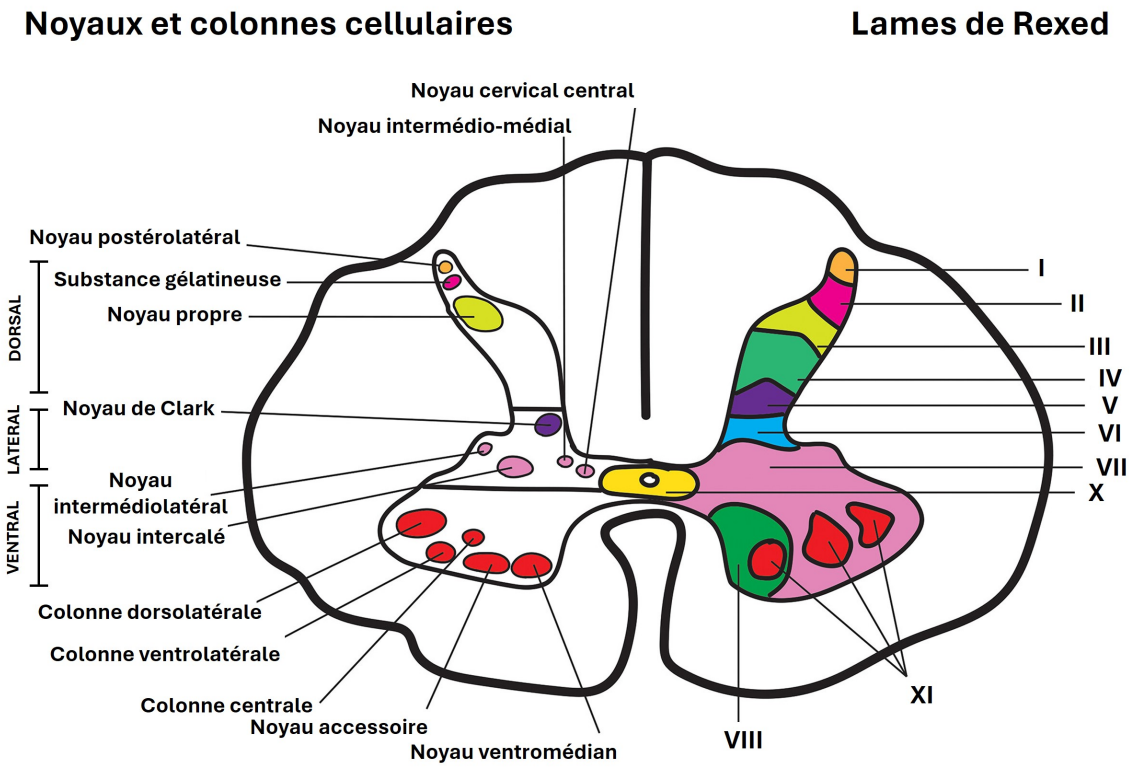


Figure 5 – **Représentation schématique de l'organisation cytoarchitecturale de substance grise de la moelle épinière (niveau vertébral approximatif = C7).** La partie droite montre les 10 divisions identifiées par Rexed en 1952. Ces couches ont été identifiées sur la base de morphologies cellulaires distinctes révélées par la coloration au violet de crésyl (Nissl). La partie gauche de l'image montre les principaux noyaux et colonnes cellulaires, qui sont généralement alignés et colorés de manière similaire aux lames de Rexed. Toutefois, des variations régionales peuvent être observées dans les régions cervicales, thoraciques et lombaires. Le noyau cervical central et le noyau intermédiolatéral sont présents uniquement entre les segments médullaires C1-C4 et T1-L1 respectivement. (Adaptée de S. Tan et al., 2023).

Il est important de noter que la taille, la forme et l'orientation des cornes ventrales et dorsales de la substance grise varient fortement en fonction du segment spinal, de l'espèce et de l'individu. Cet aspect doit être pris en compte lors de l'interprétation des résultats d'études expérimentales de lésions médullaires à visée translationnelle.

2.1.1.2.4 Substance blanche

La substance blanche de la moelle épinière porte son nom en raison de son aspect blanchâtre due à la présence de myéline entourant la majorité des axones des neurones qui la composent. Chaque axone, ou fibre nerveuse, est caractérisé en fonction de son origine, de son diamètre, de sa vitesse de conduction et de la présence de myéline. A chaque type de fibre va être attribuée une fonction spécifique (Tableau 1). Par ailleurs, les axones de même diamètre que les fibres Aα, Aβ, Aγ et C issus non pas de la peau, mais des muscles, des tendons, des structures glandulaires ou encore des organes digestifs sont désignés comme de fibres de groupe I, II, III, et IV, respectivement (Varga & Mravec, 2015).

Type de fibres	Myélinisation	Diamètre (µm)	Vitesse de conduction (m/s)	Fonctions
Aα	+++	12 - 20	60 – 100	Fibres motrices, proprioception
Aβ	++	5 - 12	20 – 100	Fibres sensitives : toucher, pression
Aγ	++	3 - 6	20 – 80	Fibres proprioceptives
Aδ	+	2 - 5	5 – 25	Douleur, température, toucher
B	+	< 3	3 – 15	SNA, fibres préganglionnaires
C	0	0,3 - 2	0,7 – 2,3	Douleur, température, SNA, fibres postganglionnaires

Tableau 1 – **Classification des fibres nerveuses composant les voies spinales ascendantes et leurs fonctions.** *SNA : système nerveux autonome* (Adapté de Varga et Mravec, 2015).

La substance blanche se situe en périphérie de la substance grise et se divise en trois paires de colonnes droites et gauches : les colonnes dorsales (ou postérieures), les colonnes ventrales (ou antérieures) et les colonnes latérales (Figure 6). Chacune de ces colonnes comprend les axones des neurones contenus dans la substance grise qui vont être organisés en faisceaux de fibres responsables de fonctions spécifiques occupant des territoires précis dans la substance blanche. Les principaux faisceaux de fibres vont s'organiser en voies nerveuses ascendantes et descendantes qui mettent en jeu le SNC et le SNP. L'ensemble des voies spinales ascendantes et descendantes sont représentées dans la Figure 6. De plus, on distingue deux systèmes nerveux : le système nerveux somatique (SNS) et le système nerveux autonome (SNA). Le SNS est impliqué à la fois dans la perception sensorielle consciente, à travers les voies spinales ascendantes, et dans le contrôle volontaire des mouvements musculaires, via les voies spinales descendantes. Le SNA se divise en systèmes nerveux sympathique, parasympathique et entérique qui contrôlent les fonctions involontaires qui régissent l'homéostasie du corps, telles que la pression artérielle, la digestion ou encore la sécrétion glandulaire, mais ne seront pas détaillés dans cette thèse (Bican et al., 2013 ; S. Tan et al., 2023).

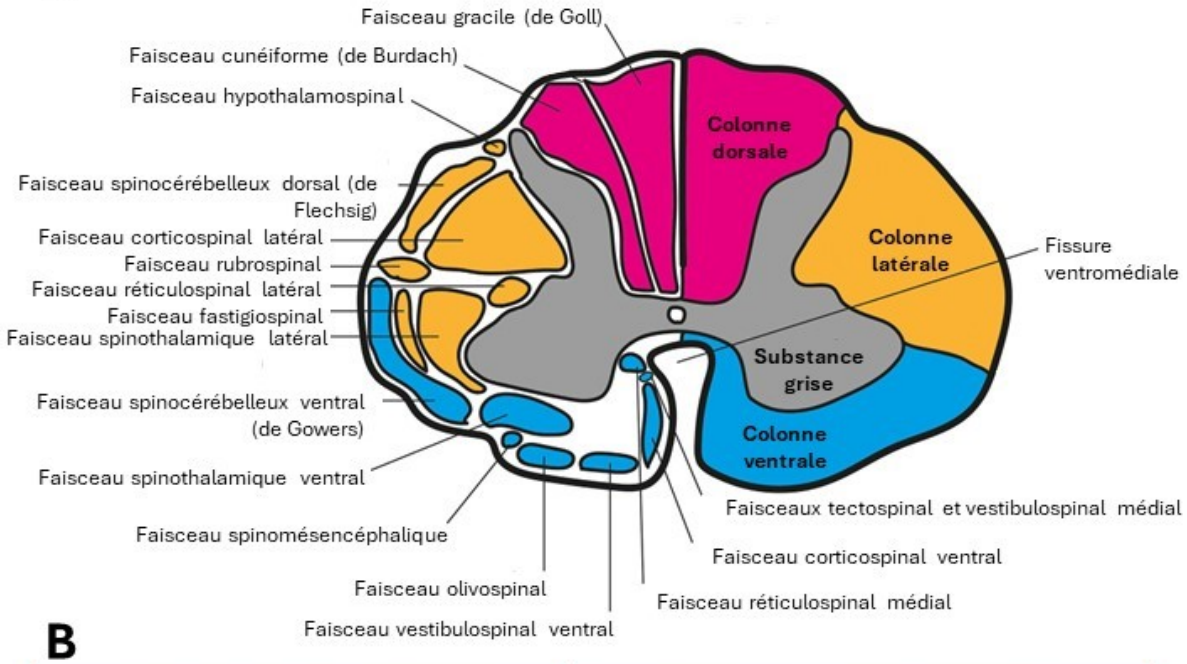
2.1.1.2.4.1 Voies spinales ascendantes sensitives

Les voies ascendantes, également connues sous les noms de voies afférentes ou sensitives, sont les voies liées à la sensibilité. Elles sont constituées des fibres afférentes qui transmettent les informations somatosensorielles conscientes et inconscientes, telles que les sensations de toucher, de pression, de température, de douleur, etc, provenant des récepteurs périphériques (les chémorécepteurs, les propriocepteurs, les thermorécepteurs ou encore les nocicepteurs) et dirigées vers les centres supérieurs.

Parmi ces voies nerveuses, on retrouve la voie lemniscale, la voie spinothalamique (ou extra-lemniscale) et les voies spinocérébelleuses.

La voie lemniscale est une voie qui passe par les cordons postérieurs de la substance blanche et qui véhicule les sensibilités mécaniques indolores fines telles que les sensibilités tactiles, proprioceptives conscientes et vibratoires. L'organisation de la voie lemniscale est représentée dans la Figure 7. Cette voie met en jeu des groupes de fibres de gros calibre

A



B

Faisceaux ascendants	Faisceaux descendants
• Faisceau gracile (de Goll) • Faisceau cunéiforme (de Burdach) • Faisceau spinocérébelleux dorsal (de Flechsig) • Faisceau spinocérébelleux ventral (de Gowers) • Faisceau spinothalamique ventral • Faisceau spinothalamique latéral • Faisceau spinomésencéphalique	• Faisceau hypothalamospinal • Faisceau corticospinal latéral • Faisceau rubrospinal • Faisceau réticulospinal latéral • Faisceau fastigiospinal • Faisceau olivospinal • Faisceau vestibulospinal ventral • Faisceau réticulospinal médial • Faisceau corticospinal ventral • Faisceaux tectospinal et vestibulospinal médial

FIGURE 6 – **Organisation de la substance blanche de la moelle épinière. A) Organisation des voies spinales.** Coupe transversale schématique de la moelle épinière humaine (niveau vertébral approximatif = C7) avec les divisions régionales (à droite) et les voies spinales (gauche). Les voies sont colorées de la même manière que la division régionale dont elles sont considérées comme faisant partie. **B) Tableau récapitulatif des voies spinales ascendantes et descendantes.** (Adaptée de S. TAN et al., 2023).

---

myélinisées de types Aα, Aβ et Aγ, et est dite « tri-neurale » car l'information sensitive périphérique transite par trois neurones, et donc deux synapses, avant d'être intégrée au niveau cortical. Le premier niveau d'intégration se situe dans le ganglion sensitif, au niveau de la racine postérieure du nerf rachidien. Ce ganglion contient le corps cellulaire des neurones en « T » (neurones de premier ordre), dont les longues et uniques dendrites, liées aux récepteurs

périphériques, remontent l'information sensitive le long des axones qui se regroupent en deux faisceaux ; le faisceau de gracile (ou faisceau de Goll) et le faisceau cunéiforme (ou faisceau de Burdach). Ces faisceaux s'organisent spatialement selon la loi de Kahler, qui admet que plus les fibres nerveuses sont distales plus elles sont internes. Ainsi, le faisceau cunéiforme qui est placé en position latérale transite les informations provenant de régions anatomiques plus proximales, telles que le cou, la partie haute du tronc et les membres supérieurs, alors que le faisceau gracile, placé en position médiale, va véhiculer les informations provenant des membres inférieurs. Ces deux faisceaux se projettent sur deux noyaux bulbaires : le noyau de Goll (ou gracile, médian) où se termine le faisceau gracile, et le noyau de Burdach (ou cunéiforme, latéral) où se termine le faisceau cunéiforme. Il existe un noyau de Goll et un noyau de Burdach de chaque côté, droit et gauche, du bulbe rachidien, et c'est à cet échelon qu'a lieu le deuxième niveau d'intégration de la voie lemniscale. Les neurones bulbaires (neurones de second ordre) vont décusser juste au-dessus des noyaux de Goll et de Burdach et former le lemnisque médian en poursuivant leur parcours vers le noyau ventro-postéro-latéral présent dans le thalamus, où a lieu le troisième niveau d'intégration. Les axones des neurones thalamiques (neurones de troisième ordre) projettent au niveau du cortex somesthésique dans le lobe pariétal de chaque hémisphère cérébral, où vont être intégrées les informations sensorielles. Il existe également une division trigéminale du système lemniscal qui transmet les informations sensorielles provenant de la face (Al-Chalabi, Reddy & Alsalman, 2024 ; Kayalioglu, 2009) (Figure 7B).

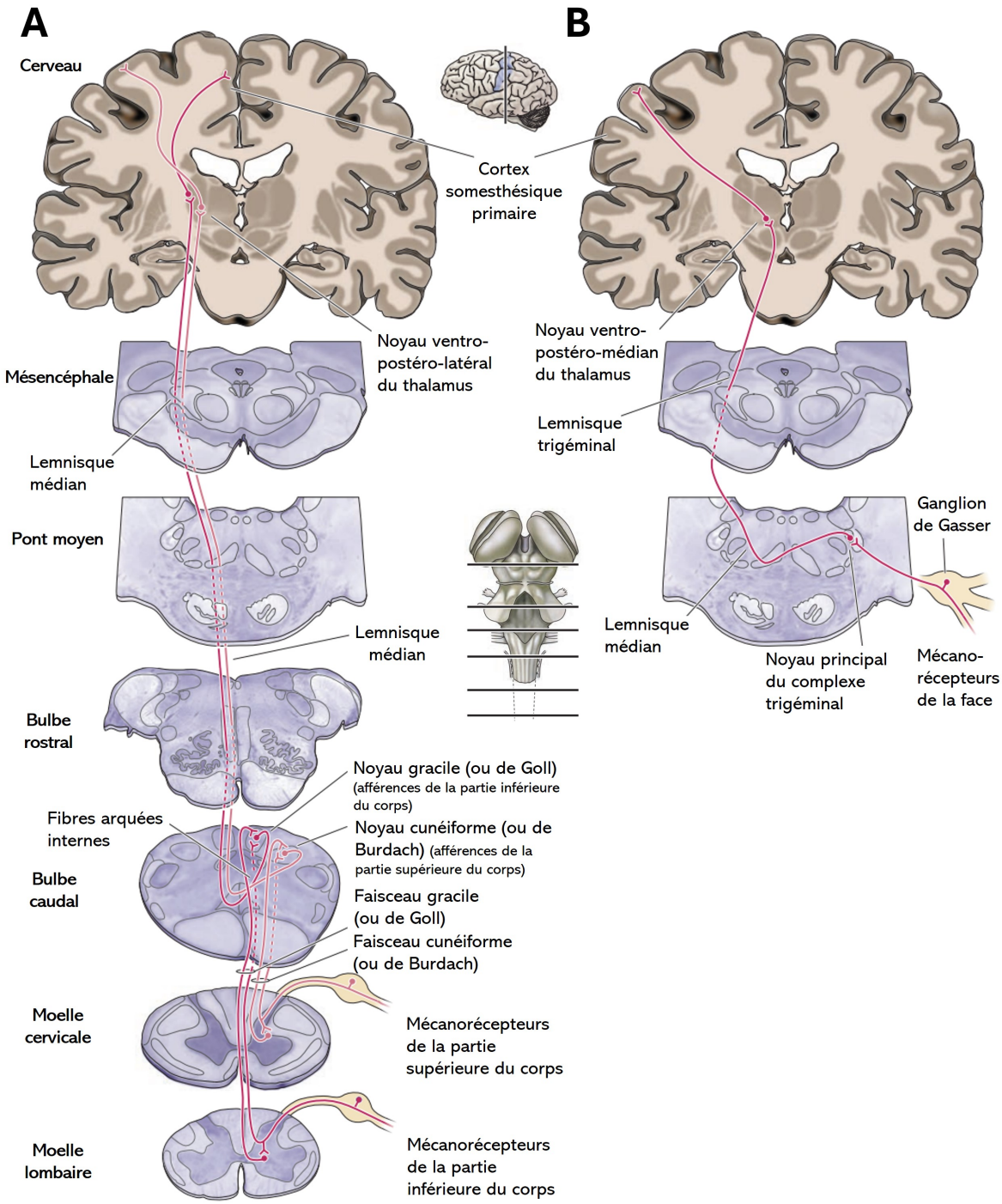


FIGURE 7 – **Représentation schématique des principales voies de la sensibilité mécanique. A) La voie des colonnes dorsales, ou la voie lemniscale.** Cette voie transmet les informations issues du tiers postérieur de la tête et du reste du corps. **B) La division trigéminale du système lemniscal.** Elle transmet les informations de la sensibilité mécanique en provenance de la face. (Extraite de l'ouvrage « Neurosciences », 5ème édition, Purves et al., 2015).

La voie spinothalamique (ou extra-lemniscale) s'organise de manière très similaire à la voie lemniscale. Son organisation est représentée dans la Figure 8. Elle possède également 3 niveaux d'intégration et met en jeu des fibres sensitives de type Aβ, Aδ et C. Cette voie est responsable de la transmission des sensations de douleur, de température et de sensations tactiles grossières. Elle est impliquée dans la réponse à des stimuli nocifs pour le corps et est importante pour la perception de la douleur. Son premier niveau d'intégration se situe dans le ganglion rachidien comprenant les corps cellulaires des neurones en T. Les axones de ces neurones de premier ordre projettent dans la corne dorsale de la substance grise où a lieu le deuxième niveau d'intégration. Par la suite, les axones des neurones de deuxième ordre contenus dans la substance grise décussent au niveau de la ligne médiane puis remontent dans le noyau ventro-postéro-médian du thalamus par le faisceau spinothalamique. Pour finir, le troisième niveau d'intégration se situe dans le thalamus dont les neurones de troisième ordre projettent dans le cortex somesthésique qui traitera les informations somatosensorielles et douloureuses. Les informations thermiques et nociceptives de la face transitent par le faisceau trigémino-thalamique (Al-Chalabi, Reddy & Gupta, 2024 ; Kayalioglu, 2009) (Figure 8B).

Fonctionnellement, la voie lemniscale opère comme un système d'exploration et de collecte d'informations sensorielles, procurant les données essentielles pour interagir avec le monde extérieur. En revanche, la voie spinothalamique remplit une fonction d'alerte et de préservation de l'intégrité physique du corps (Al-Chalabi, Reddy & Alsalman, 2024 ; Al-Chalabi, Reddy & Gupta, 2024).

Les voies nerveuses spinocérébelleuses véhiculent les informations de la sensibilité proprioceptive inconsciente du corps provenant des muscles, des tendons et des ligaments vers le cervelet. Ces informations sont essentielles pour maintenir l'équilibre, la coordination et la posture du corps. Ces voies mettent en jeu des fibres afférentes de type Ia, Ib et II, et comme pour les deux autres voies, le premier niveau d'intégration des voies spinocérébelleuses se fait dans le ganglion rachidien avec les neurones en T. En fonction de l'origine de ces neurones, on distingue 3 voies spinocérébelleuses (Kayalioglu, 2009).

Tout d'abord, la voie spinocérébelleuse dorsale (ou faisceau de Flechsig) est formée de

fibres proprioceptives innervant les membres inférieurs et de la partie inférieure du tronc qui entrent dans la moelle épinière entre les niveaux lombaires moyens et thoraciques (L2-T1), pour rejoindre le noyau de Clark localisé dans la partie médiane de la corne postérieure. Ce noyau constitue le deuxième niveau d'intégration, et les neurones de second ordre qui le composent projettent leurs axones jusqu'au cervelet, en passant par le faisceau spinocérébelleux dorsal ipsilatéral (Kayalioglu, 2009 ; Koh & Markovich, 2024). La seconde voie est la voie spinocérébelleuse ventrale (ou faisceau de Gowers). Elle se compose également de fibres proprioceptives innervant les muscles des membres inférieurs et de la partie inférieure du tronc, mais qui entrent dans la moelle épinière entre le segment L2 et l'extrémité terminale. Comme pour la voie spinocérébelleuse dorsale, les axones des neurones de premier ordre font synapse dans le noyau de Clark. Ensuite, les axones des neurones de second ordre décussent dans noyau de Betcherew localisé dans le cordon controlatéral et remontent jusqu'au mésencéphale le long du faisceau spinocérébelleux ventral. Le troisième niveau d'intégration a lieu dans le mésencéphale controlatéral où les axones de troisième ordre décussent, puis atteignent le cervelet ipsilatéral via les pédoncules cérébelleux supérieurs (Kayalioglu, 2009 ; Oscarsson, 1965). Pour finir, la voie cunéo-cérébélleuse relaie les informations proprioceptives provenant des membres supérieurs et de la partie supérieure du tronc. Les axones des neurones de premier ordre entrent dans la moelle épinière du segment T1 à l'extrémité rostrale et cheminent dans le faisceau cunéiforme des cordons postérieurs jusqu'au bulbe rachidien, où elles font synapse avec les neurones de second ordre. Ces derniers, localisés dans le noyau cunéiforme latéral, projettent leurs axones jusqu'au cervelet, en passant par le faisceau cunéo-cérébelleux ipsilatéral (Kayalioglu, 2009). Ainsi, l'ensemble de ces voies véhiculent des informations somatosensorielles qui sont traitées au niveau des aires corticales somatosensorielles, telles que les cortex somesthésiques primaire et secondaire, et le cortex pariétal postérieur. L'intégration et le traitement cortical de ces informations permet d'adapter une réponse motrice à un stimulus sensoriel (Raju & Tadi, 2024).

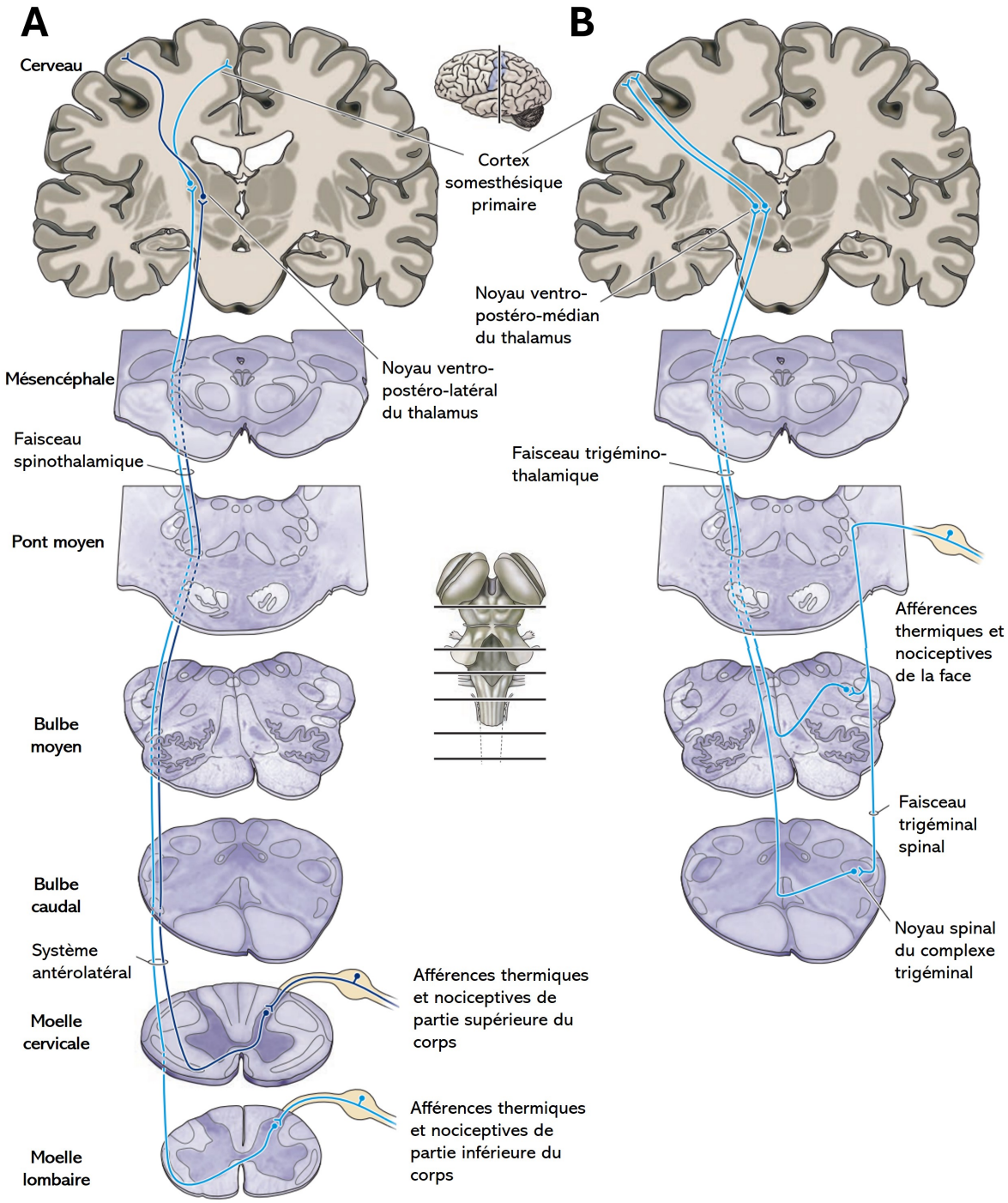


FIGURE 8 – **Représentation schématique des voies ascendantes de la sensibilité thermique et nociceptive discriminative. A) La voie spinothalamique, ou extra-lemniscale.** Elle transmet les informations issues du tiers postérieur de la tête et du reste du corps. **B) La division trigéminale du système extra-lemniscal.** Cette voie transmet les informations thermiques et douloureuses en provenance de la face. (Extraite de l'ouvrage « Neurosciences », 5ème édition, Purves et al., 2015).

2.1.1.2.4.2 Voies spinales descendantes motrices

Les voies nerveuses descendantes, également connues sous les noms de voies efférentes ou motrices, sont des faisceaux de fibres nerveuses efférentes qui transportent des signaux nerveux du SNC vers les organes effecteurs. Ces voies sont impliquées dans la régulation et le contrôle des mouvements volontaires et involontaires du corps. Ces voies sont divisées en deux systèmes : le système pyramidal et le système extrapyramidal. Parmi les voies du système pyramidal, on retrouve la voie corticospinale et la voie corticobulbaire qui sont principalement chargées du contrôle des mouvements volontaires, sous le contrôle direct du cortex cérébral moteur. Le système extrapyramidal se compose des voies rubrospinale, tectospinale, vestibulospinal et reticulospinale, responsables de la motricité involontaire et automatique, et est essentiel dans le maintien postural de l'individu et de la locomotion. Contrairement aux voies du système pyramidal, ces voies ne sont pas directes, mais elles nécessitent un relai synaptique dans le tronc cérébral (AbuHasan & Munakomi, 2024 ; Ganapathy et al., 2024 ; S. Tan et al., 2023).

Le système pyramidal

La voie corticospinale connecte le cortex moteur et les motoneurones de la moelle épinière. Elle se projette principalement sur les motoneurones qui contrôlent de manière volontaire les muscles des membres supérieurs et de la partie supérieure du tronc (Figure 9). Les corps cellulaires des neurones pyramidaux du cortex moteur projettent leurs axones dans le mésencéphale, au niveau du pédoncule cérébral, qui transitent ensuite par le faisceau pyramidal pour atteindre le bulbe rachidien. A ce niveau, 90% des fibres du faisceau pyramidal décussent au niveau segmentaire, puis longent la moelle épinière par le faisceau corticospinal latéral situé dans le cordon latéral. Les fibres continuent ensuite leur trajet jusque dans la partie dorsolatérale de la corne ventrale de la moelle épinière puis font synapse avec les motoneurones et interneurones qui commandent les muscles controlatéraux. Les 10% de fibres restantes ne décussent pas à l'interface bulbo-spinale mais s'enfoncent dans la moelle ipsilatérale par le faisceau corticospinal ventral. Ainsi, le contrôle de l'activité des muscles des membres supérieurs

peut également se faire, dans une moindre mesure, par le cortex moteur ipsilatéral (AbuHasan & Munakomi, 2024 ; Nathan & Smith, 1955 ; S. Tan et al., 2023).

La voie corticobulbaire relie le cortex moteur aux neurones moteurs du tronc cérébral inférieur, principalement pour le contrôle volontaire des muscles de la tête et du cou (Figure 9). Elle prend naissance dans le gyrus précentral, puis les fibres traversent la capsule interne avant de converger dans le mésencéphale ventral, en position médiane par rapport au tractus corticospinal. Lorsque les fibres corticobulbaires traversent le tronc cérébral, elles émettent des branches collatérales qui se connectent à quatre noyaux moteurs. Il s'agit notamment des noyaux trijumeau et facial, situés au niveau du pont d'où partent le nerf trijumeau (V) qui contrôle les muscles de la mastication, et le nerf facial (VII) qui contrôle les muscles de la face. Les deux autres noyaux sont le noyau ambigu et le grand hypoglosse, situés dans le bulbe rachidien. Les muscles du palais, du pharynx et du larynx sont contrôlés respectivement par les nerfs glossopharyngien (IX), vague (X) et accessoire (XI) issus du noyau ambigu. Les muscles de la langue sont contrôlés par le nerf hypoglosse (XII) issu du noyaux du grand hypoglosse (AbuHasan & Munakomi, 2024 ; Bhardwaj & Yadala, 2024).

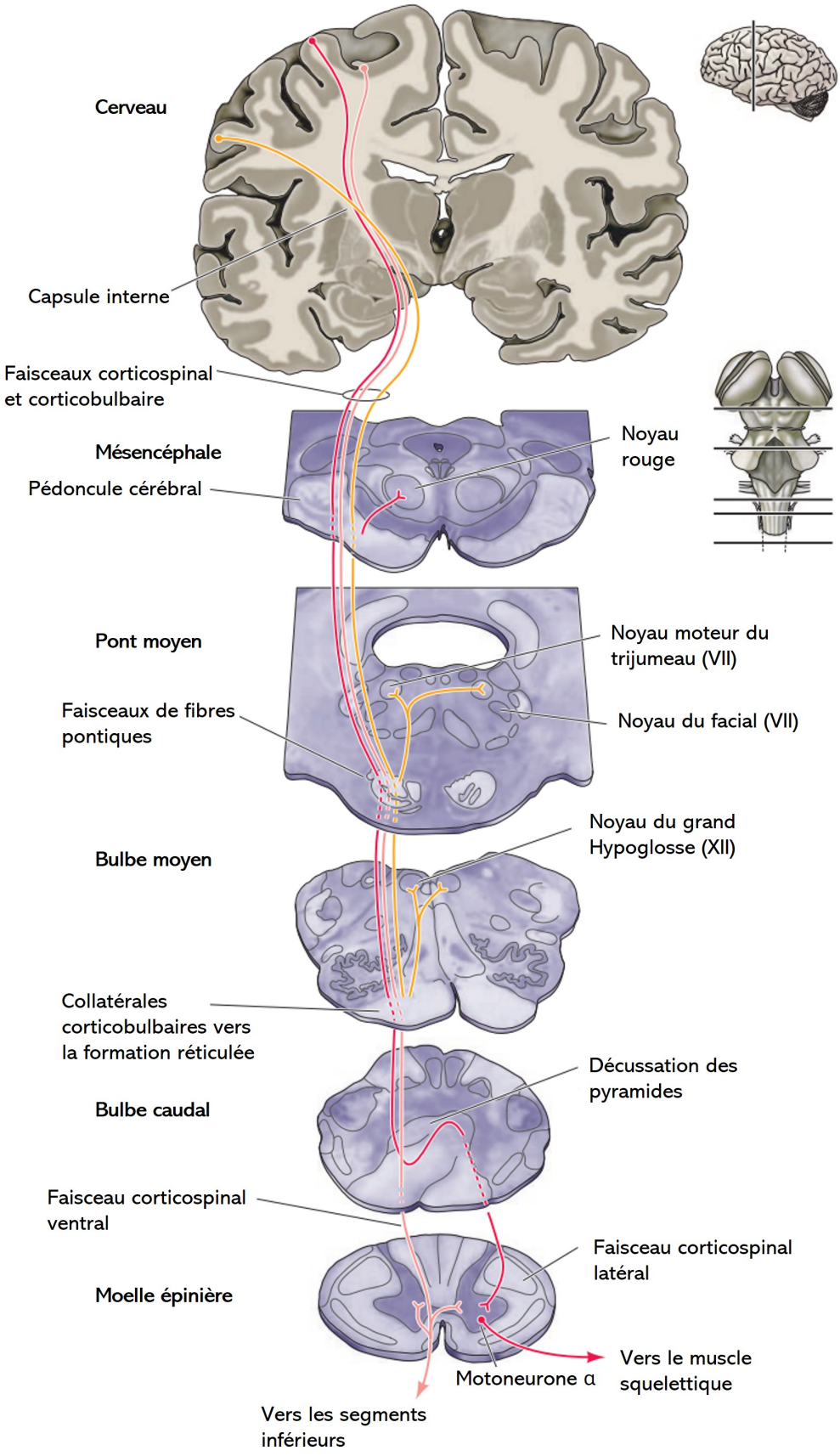


FIGURE 9 – **Représentation schématique du système pyramidal comprenant les voies descendantes motrices corticospinale et corticobulbaire à destination des motoneurones innervant les muscles squelettiques.** (Extraite de l'ouvrage « Neurosciences », 5ème édition, Purves et al., 2015).

Le système extrapyramidal

Le système extrapyramidal est polysynaptique. Les voies qui le composent débutent toutes au niveau du tronc cérébral et collaborent avec les voies du système pyramidal afin de maintenir la coordination des mouvements ainsi que l'équilibre postural du corps.

La voie rubrospinale prend son origine au niveau du noyau rouge du tronc cérébral controlatéral, puis les fibres qui la composent décussent au niveau du pont pour venir se connecter avec les motoneurones et interneurones propriospinaux de la corne ventrale qui contrôlent et modulent les mouvements des muscles proximaux des membres supérieurs. Cette voie participe à la régulation et à la coordination des mouvements volontaires, en particulier ceux des membres supérieurs, et agit en collaboration avec la voie corticospinale pour faciliter la précision des mouvements.

La voie vestibulospinale se divise en deux faisceaux, un latéral et un médian. Le faisceau vestibulospinal médian prend naissance dans les noyaux vestibulaires médiaux situés dans la partie dorsale du pont. Il projette bilatéralement sur la partie médiale de la corne antérieure et de la zone intermédiaire de la substance grise, et sur les motoneurones innervant les muscles du haut du corps. Ce faisceau intervient dans l'équilibre et la coordination des mouvements des muscles de la tête et du cou en réponse aux informations provenant du système vestibulaire, permettant la stabilité de la tête, notamment lors de la locomotion. Le faisceau vestibulospinal latéral a pour origine les noyaux vestibulaires latéraux du pont. Il projette dans la moelle lombaire ipsilatérale, et contribue au maintien de l'équilibre et de la posture via l'activation des motoneurones des muscles extenseurs et posturaux des membres inférieurs.

La voie reticulospinale se divise également en deux faisceaux médian et latéral. Le faisceau reticulospinal médian débute dans la formation réticulée pontique, alors que le faisceau latéral débute dans la formation réticulée médullaire. Ces deux faisceaux projettent ensuite le long de la partie ventromédiane de la moelle épinière ipsilatérale à destination des motoneurones des muscles extenseurs des membres inférieurs et des muscles fléchisseurs des membres supérieurs. Ils interviennent dans le contrôle des fuseaux neuromusculaires essentiels pour la coordination bilatérale des muscles posturaux et locomoteurs.

Pour finir, la voie tectospinale a pour origine les colliculi supérieurs du mésencéphale. A ce niveau, les fibres décussent sur la partie médiale de la corne antérieure et de la zone intermédiaire de la substance grise controlatérale, puis cheminent en direction ventromédiale dans le tronc cérébral et projettent dans les segments cervicaux et thoraciques supérieurs de la moelle épinière. Cette voie reçoit des informations de la rétine et des aires corticales associatives, et médiatise les mouvements de rotation réflexe de la tête, du cou, des yeux, et des membres supérieurs en réaction à des stimuli auditifs, visuels et tactiles soudains (Bican et al., 2013 ; Ganapathy et al., 2024 ; J. Lee & Muzio, 2024 ; S. Tan et al., 2023).

Il est important de noter que bien que les voies ascendantes et descendantes aient respectivement des rôles majeurs dans la sensibilité et la motricité, elles sont également inter-dépendantes et étroitement liées pour permettre la régulation de l'ensemble des composantes sensitives et motrices du corps.

Par ailleurs, outre des neurones constituant la substance grise par leur corps cellulaire et la substance blanche par leurs axones, d'autres types de cellules composent également la moelle épinière, telles que les cellules gliales et les cellules microgliales. Bien que les cellules microgliales sont considérées comment des cellules gliales, d'un point de vue développemental, les cellules gliales dérivent du tube neural embryonnaire (Akdemir et al., 2020), alors que les cellules microgliales dérivent de progéniteurs hématopoïétiques primitifs présents dans le sac vitellin de l'embryon (Ginhoux & Merad, 2011), d'où la distinction ici de ces deux populations cellulaires. Parmi les cellules gliales, on distingue les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules épendymaires.

Les astrocytes sont des cellules de forme étoilées qui sont divisées en deux sous-types principaux, les astrocytes protoplasmiques ou fibreux, en fonction de leur morphologie et de leur emplacement anatomique. Les astrocytes protoplasmiques sont principalement retrouvés dans la matière grise. Ils sont de forme globulaire et présentent de courtes et nombreuses ramifications. Les astrocytes fibreux s'organisent dans la substance blanche, sont de forme plus allongée et caractérisés par des ramifications moins abondantes mais plus étendues en longueur. En plus de fournir un soutien structurel aux neurones, les astrocytes établissent un contact direct avec les

synapses, formant ainsi la "synapse tripartite" qui régule l'activité synaptique, notamment en recyclant les neurotransmetteurs (Panatier & Robitaille, 2012). Par ailleurs, les astrocytes forment, avec les neurones et les cellules endothéliales, l'unité neurovasculaire qui joue un rôle crucial dans la régulation du flux sanguin spinal. En effet, cette unité module la réponse du système vasculaire spinal aux changements de pression de perfusion et assure le couplage neurovasculaire, qui consiste en une réponse rapide locale du flux sanguin aux changements de l'activité neuronale. De plus, l'unité neurovasculaire participe au métabolisme énergétique neuronal en fournissant des nutriments essentiels et intervient dans la formation de barrière hématospinale (BHS) (Sofroniew & Vinters, 2010 ; R. Zhou et al., 2023). La BHS est composée de pieds astrocytaires, de cellules endothéliales et de péricytes vasculaires, formant une barrière protectrice et régulatrice entre la circulation sanguine et le tissu médullaire. Elle assure un contrôle sélectif du passage des substances et un maintien de l'homéostasie du milieu interne de la moelle épinière, qui sont tous deux des éléments essentiels au bon fonctionnement neuronal (Jin et al., 2021). Par ailleurs, les astrocytes sont des cellules capables de s'activer en réponse à différents processus physiopathologiques, tels qu'une infection, l'accumulation de toxines, ou encore dans les lésions du SNC (Burda & Sofroniew, 2014), et vont alors jouer un rôle dans la réponse inflammatoire, la formation de cicatrices gliales, la réduction des altérations cellulaires et dans les mécanismes de régénérescence (M. A. Anderson et al., 2016 ; Burda & Sofroniew, 2014).

Les oligodendrocytes constituent le deuxième type de cellules gliales composant la moelle épinière. Ils sont présents à la fois dans la substance grise et la substance blanche, et jouent un rôle essentiel dans la formation et l'entretien de la gaine de myéline entourant les axones neuronaux (Bradl & Lassmann, 2010).

Les cellules épendymaires, ou épendymocytes, sont des cellules épithéliales qui tapissent la paroi du canal médullaire et qui ont pour fonction la production du LCS. Ces cellules servent également de barrière sélective entre le LCS et parenchyme médullaire, contribuant ainsi à maintenir l'homéostasie chimique et à protéger le tissu médullaire contre les substances néfastes. Par ailleurs, la zone épendymaire où résident ces cellules constitue une réserve de cellules

souches neurales endogènes essentielles dans la neurogenèse (Deng et al., 2023).

Pour finir, les cellules microgliales sont les macrophages résidents du SNC. En condition physiologique, elles sont caractérisées par un petit corps cellulaire et de fins prolongements. Elles évoluent vers des formes moins ramifiées avec un corps cellulaire plus grand en condition pathologique. Ces cellules constituent la première barrière de défense immunitaire du SNC car elles sont capables de s'activer rapidement en réponse à une inflammation (Audinat & Arnoux, 2014). Par ailleurs, elles jouent également un rôle dans la modulation de l'activité synaptique en s'alliant avec les neurones et les astrocytes pour former la synapse « quadripartite » (Schafer et al., 2013).

La compréhension de la structure et des rôles des cellules de la moelle épinière est indispensable pour appréhender les mécanismes cellulaires impliqués dans les lésions médullaires, offrant ainsi des perspectives pour orienter le développement de thérapies spécifiques visant à améliorer les récupérations fonctionnelles.

2.1.1.3 Fonctions de la moelle épinière

Certaines fonctions de la moelle épinière ont déjà été évoquées lors de la description anatomique des voies spinales ascendantes et descendantes. Ainsi, en plus de constituer un système conducteur des informations sensorielles, motrices et végétatives, la moelle épinière est également considérée comme un centre d'organisation et d'intégration essentiel des informations somatosensorielles et motrices, ainsi que comme un centre réflexe.

2.1.1.3.1 Centre d'organisation et d'intégration des informations somatosensorielles et motrices

La moelle épinière intègre les entrées somatosensorielles conduisant à des réponses motrices complexes. En effet, les cornes postérieures de la substance grise ne constituent pas seulement un relai des informations somatosensorielles, mais elles jouent également un rôle dans l'intégration et l'organisation des messages sensitifs. Ces derniers, arrivant dans la corne dorsale de la moelle épinière via les racines rachidiennes dorsales, vont être soumis à des interactions

synaptiques régulatrices, pouvant être inhibitrices ou excitatrices, dépendantes à la fois du type cellulaire présent à ce niveau, mais également de la nature des fibres afférentes infra- et supraspinales. Parmi les types cellulaires impliqués, les neurones propriospinaux jouent un rôle crucial dans la coordination des mouvements et des réflexes, ainsi que dans la modulation de la transmission des informations sensorielles et motrices. Ces neurones sont excitateurs et sont sous le contrôle d'interneurones inhibiteurs, tels que les cellules de Renshaw (Figure 10). Ainsi, la régulation de l'information somatosensorielle par les neurones propriospinaux et les interneurones inhibiteurs influence la réponse motrice issue des centres supraspinaux. La voie corticospinale par exemple, en plus de son rôle conducteur de la commande motrice, est capable de moduler sélectivement les retours sensitifs afin d'adapter la réponse motrice via le recrutement des circuits neuronaux spinaux qui sélectionnent les informations sensorielles adaptées à la bonne exécution du mouvement volontaire (Eccles, 1964 ; Moreno-López et al., 2016). Par exemple, lors de la marche, les neurones propriospinaux intègrent les signaux sensitifs, tels que la position des membres et de la pression du sol, avec les commandes motrices nécessaires pour maintenir l'équilibre et la locomotion. Cette intégration somatosensorielle au niveau spinal est cruciale pour la coordination des mouvements des membres inférieurs. Dans la moelle épinière, les motoneurones s'organisent en noyaux moteurs qui forment des colonnes qui s'étendent souvent sur plusieurs segments médullaires, regroupant l'ensemble des motoneurones innervant un muscle donné (Smithm & Hollyday, 1983). Les interneurones inhibiteurs présents de la substance grise peuvent également influencer l'activation sélective des motoneurones mis en jeu dans le comportement moteur. En effet, la corne ventrale de la moelle épinière, essentielle pour l'organisation et l'adaptation du mouvement, coordonne le recrutement des motoneurones des unités motrices qui innervent les fibres musculaires. Une unité motrice est constituée d'un motoneurone et de l'ensemble des fibres musculaires qu'il innerve. Plus l'intensité du stimulus moteur augmente, plus le nombre d'unités motrices recrutées augmente. De plus, selon le principe de Henneman, lors de contractions isométriques rapides ou lentes, l'ordre de recrutement des unités motrices suit le "principe de taille", où les unités motrices avec un seuil d'activation plus bas sont recrutées en premier, suivis des unités motrices avec un

seuil d'activation plus élevé (Henneman et al., 1965). Cependant, des exceptions existent lors de contractions non isométriques, telles que la fatigue musculaire (Enoka et al., 1989) ou les tâches motrices complexes impliquant les muscles des membres supérieurs (Riek & Bawa, 1992). Ce recrutement sélectif des unités motrices peut se faire suite à une commande motrice volontaire ou involontaire dans le cadre des réflexes, et serait modulé en fonction des messages afférents arrivant sur ce groupe de motoneurones (Gandevia, 2001).

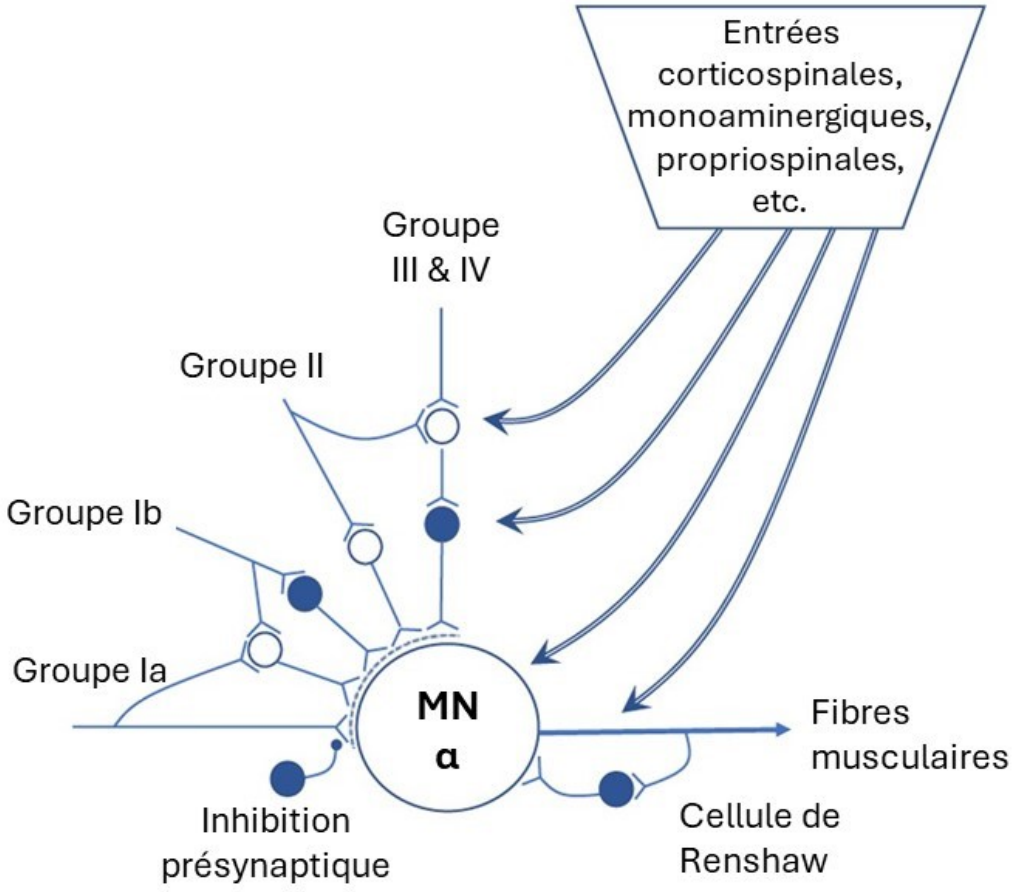


Figure 10 – **Schéma résumant les entrées périphériques et locales qui modulent l'activation des motoneurones α pour un muscle agoniste.** Les cellules avec des cercles pleins sont inhibitrices. La courbe en pointillés représentée au niveau des terminaisons pré-motoneuronales dénote une inhibition présynaptique agissant sélectivement sur les chemins afférents vers le motoneurone. La cellule de Renshaw est activée par une branche collatérale de l'axone du motoneurone α, et inhibe le motoneurone. *MN = Motoneurone.* (Adaptée de Amann et al., 2022).

2.1.1.3.2 Centre d'intégration et d'organisation des réflexes

La moelle épinière constitue également un centre d'intégration et d'organisation des réflexes. Skinner définit le réflexe comme une corrélation liée à deux événements, un stimulus et une réponse (B. F. Skinner, 1931). Ce rôle de la moelle épinière s'étend à la fois dans la sphère végétative via des actions réflexes physiologiques, telles que la miction et la défécation, médiées par le noyau d'Onuf logé dans la corne ventrale de la substance grise sacrée en modulant l'activité des muscles lisses, mais aussi à la musculature striée des membres et du tronc. Le neurophysiologiste anglais Charles Scott Sherrington fut le premier à mettre en évidence la génération de mouvements locomoteurs réflexes suite à une stimulation électrique et mécanique de la peau chez des animaux ayant subi une transsection thoracique médullaire complète (Sherrington, 1910, 1913). Il a également noté une augmentation de l'amplitude des mouvements proportionnelle à l'intensité de la stimulation. Par la suite, la notion de « générateurs centraux de rythmes » a été définie par Grillner à la suite de ses travaux réalisés chez des chats présentant une lésion médullaire (Grillner & Zangger, 1979). Ainsi, les CPG sont des réseaux neuronaux génétiquement programmés qui produisent une activation rythmique des motoneurones innervant les muscles des membres et qui peut fonctionner de manière autonome en l'absence de commandes descendantes et de retours sensitifs (Barrière et al., 2008 ; Rossignol et al., 2006). Ce réseau neuronal est activé à la suite d'une commande motrice corticale volontaire, et son activité peut être modulée par d'autres régions supraspinales telles que les régions locomotrices subthalamiques et mésencéphaliques. Une fois activé, ce réseau génère une alternance d'influx nerveux qui stimulent de manière alternative les muscles fléchisseurs et extenseurs des membres supérieurs et inférieurs, générant des mouvements locomoteurs rythmiques et spontanés (Klarner & Zehr, 2018). La mise en évidence des CPG chez l'Homme a été réalisée par la stimulation électrique du segment lombaire L2 chez des patients présentant une lésion médullaire complète. Cette stimulation a démontré la capacité des CPG à générer des mouvements locomoteurs rythmiques (Dimitrijevic et al., 1998).

2.1.2 Divergences anatomiques et fonctionnelles entre l'Homme et le rat

Des études comparatives ont rapporté que certaines propriétés mécaniques et anatomiques de la colonne vertébrale étaient similaires entre diverses espèces (Jaumard et al., 2015). Tous les mammifères possèdent 7 vertèbres cervicales, hormis le lamantin et le paresseux chez lesquels on en dénombre 6 et 8 respectivement (Varela-Lasheras et al., 2011) Le nombre de vertèbres dans les régions vertébrales plus caudales varie selon les espèces (Jaumard et al., 2015). Le rat présente une morphologie vertébrale similaire à celle de l'Homme, mais il possède au total entre 57 et 61 vertèbres, dont 7 cervicales, 13 thoraciques, 6 lombaires, 4 sacrées, et entre 27 et 31 vertèbres caudales (Bergmann et al., 2006). Par ailleurs, bien que la structure générale de la moelle épinière soit conservée entre l'Homme et le rat, il existe des différences significatives en termes de taille, de segmentation et de distribution des voies neurales (Figure 11). La moelle épinière du rat est moins épaisse et moins longue que celle de l'Homme en raison de la différence morphologique corporelle et se divise en segments spinaux desquels émanent 34 paires de nerfs spinaux : 8 cervicaux, 13 thoraciques, 6 lombaires, 4 sacrés et 3 caudaux (Hofstetter et al., 2006), contre 31 paires chez l'Homme.

Il existe des différences anatomo-fonctionnelles entre les voies spinales de l'Homme et du rat. Cependant, les voies sensorielles ascendantes sont bien conservées entre les deux espèces. En particulier, les informations somatosensorielles provenant de la périphérie sont transmises à des niveaux médullaires similaires et les deux espèces présentent des dermatomes équivalents (Krisa et al., 2018). Les différences majeures résident dans l'organisation anatomo-fonctionnelle des voies motrices. En effet, les deux espèces ont un faisceau corticospinal latéral et ventral, alors que le rat possède en plus un tractus corticospinal dorsal à la base des colonnes dorsales. Par ailleurs, chez le rat, les fibres corticospinales projettent préférentiellement sur les interneurones de la corne dorsale de la matière grise, alors que chez l'Homme, elles établissent davantage de connexions monosynaptiques avec les motoneurones. Ces connexions monosynaptiques, dites corticomotoneuronales, sont impliquées dans l'apprentissage de la motricité fine, permettant notamment le contrôle habile des muscles de la main lors des mouvements de préhension du

pouce et des doigts chez l'Homme. La faible présence de ces connexions chez le rat implique une sensibilité du contrôle digitale beaucoup moins développée (Lemon & Griffiths, 2005 ; Lemon et al., 2004 ; Moreno-López et al., 2016). De plus, chez le rat, les projections corticospinales à destination du renflement lombosacré sont moins nombreuses que celles à destination du renflement cervical, limitant leur implication dans la fonction locomotrice (Muir & Whishaw, 1999). Cependant, chez le rat, c'est la voie rubrospinale qui est principalement responsable de fonction motrice volontaire des membres antérieurs et postérieurs. La taille relative de cette voie est plus importante que chez l'Homme et s'étend sur toute la longueur de la moelle épinière. En revanche, chez l'Homme, la voie rubrospinale projette essentiellement sur les motoneurones cervicaux impliqués dans le contrôle des mouvement des membres supérieurs, alors que la voie corticospinale s'étend sur toute la longueur de la moelle épinière et constitue la voie principale du contrôle de la fonction motrice volontaire, dont la locomotion (Krisa et al., 2018). Par ailleurs, du fait de la complexité liée à l'étude des réseaux neuronaux humains, le modèle du rat a été largement utilisé pour explorer et comprendre l'organisation des CPG. En raison de leur mode de locomotion quadrupède, les CPG des rats sont constitués de modules demi-centraux situés dans les renflements cervicaux pour le contrôle des membres antérieurs, et lombaires pour le contrôle des membres postérieurs (Bertrand & Cazalets, 2002 ; Cazalets et al., 1995, 1996 ; Juvin et al., 2007). Aujourd'hui le rôle exact des CPG et leur implication dans la locomotion chez l'Homme fait toujours débat, notamment dans un contexte des lésions médullaires (Klarner & Zehr, 2018 ; Minassian et al., 2017, 2023).

La connaissance de l'organisation anatomo-fonctionnelle de la moelle épinière selon les différentes espèces est primordiale dans l'interprétation des résultats à la suite d'une lésion expérimentale. En effet, une lésion équivalente peut engendrer des conséquences variables en termes de déficits et de récupérations sensorimotrices, qu'il s'agisse de l'Homme ou du modèle animal.

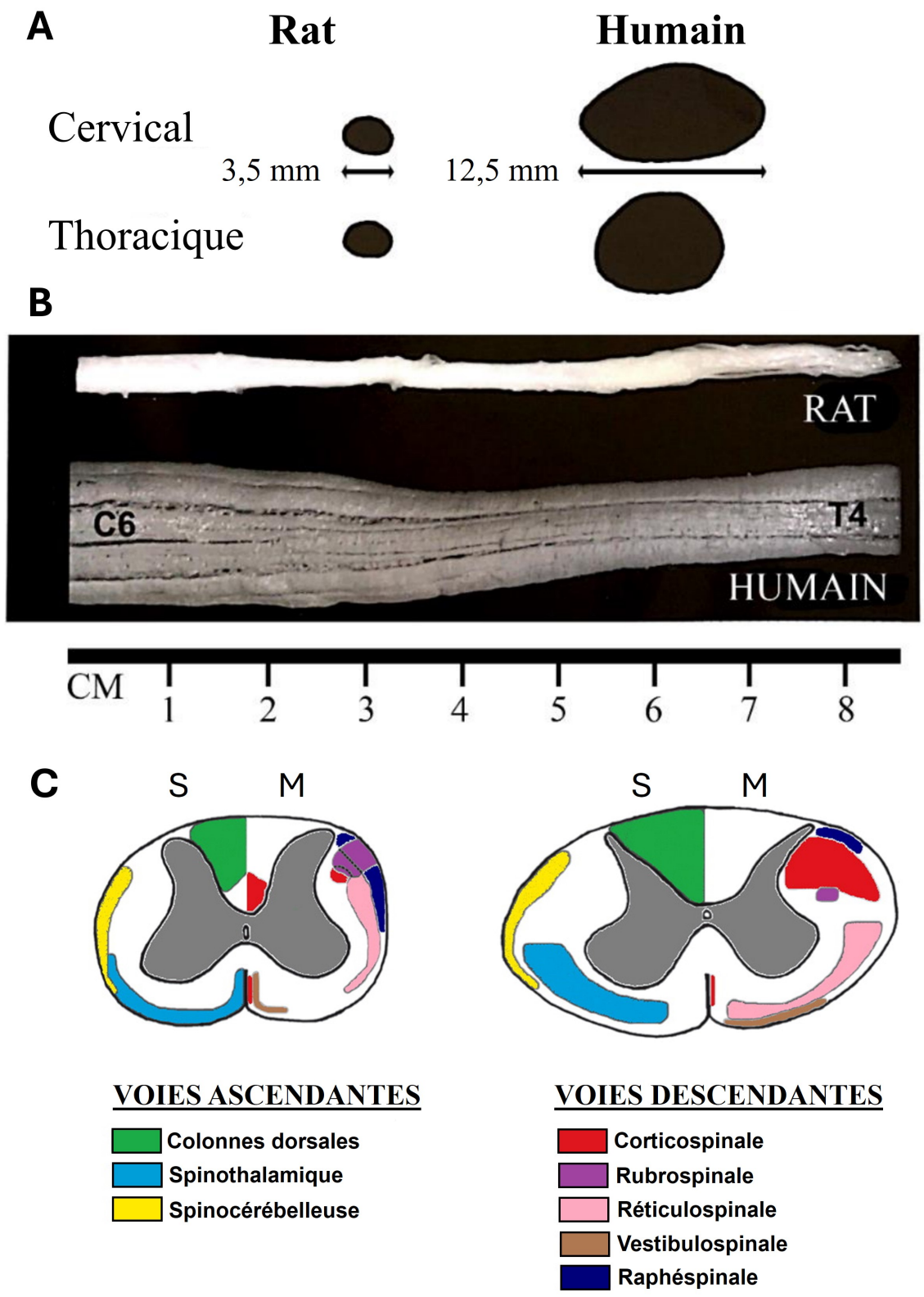


FIGURE 11 – **Divergences anatomiques et fonctionnelles de la moelle épinière du rat et de l'Homme. A)** Taille et forme des coupes transversales de la moelle épinière du rat et de l'Homme au niveau des élargissements cervical et lombaire. Ces coupes sont représentées à l'échelle. **B)** Vues à faible puissance de la surface dorsale d'une moelle épinière complète de rat et des segments C6 à T4 d'une moelle épinière humaine. **C)** Localisation approximative des voies ascendantes et descendantes dans la substance blanche de la moelle épinière du rat et de l'Homme. Ces coupes ne sont pas à la même l'échelle. *S = voies sensorielles ; M = voies motrices.* (adaptée de HODGETTS et al., 2009).

2.2 Lésions de la moelle épinière

2.2.1 Epidémiologie

Les lésions de la moelle épinière (LME) constituent une pathologie grave qui altère les fonctions sensorielles, motrices et autonomes du corps, et impacte donc à plusieurs niveaux la qualité de vie des patients, y compris leur bien-être psychologique et social. En effet, après une atteinte médullaire, les patients peuvent souffrir de fatigue excessive, de sensations de lassitude, d'états dépressifs, de faible estime de soi et d'anxiété (Craig et al., 2012, 2015, 2019). De plus, l'impact des LME sur la vie sociale et sociétale des patients induit couramment une stigmatisation (Budd et al., 2022), pouvant conduire à une déconnexion sociale (Englblom-Deglmann & Hamilton, 2020). Une étude réalisée par Cao et Krause en 2020 menée sur 307 patients aux Etats-Unis a montré que 52% des patients avaient perdu leur emploi (Cao & Krause, 2020), leur conférant un sentiment d'inutilité et d'indépendance financière susceptible d'exacerber les problèmes de santé mentale (Merritt et al., 2019). Enfin, ces troubles psychologiques peuvent entrainer chez les patients des comportements inadaptés, tels que la surconsommation d'alcool ou de drogues, pouvant aggraver les altérations physiques, sociales et fonctionnelles, les menant à adopter des comportements suicidaires (Craig et al., 2019 ; Hartkopp et al., 1998).

En plus de causer des ravages sur les plans physique et émotionnel, les LME représentent une lourde charge financière, à la fois en termes de prise en charge hospitalière, mais également pour le patient et son entourage. Les frais liés aux LME varient considérablement en fonction de la localisation et de la gravité de la lésion, des besoins médicaux spécifiques, du pays, mais également en fonction de la période de prise en charge des patients. Les coûts liés aux soins aigus de la LME se concentrent sur les interventions médicales immédiates visant à traiter la lésion et à stabiliser la condition du patient. Une étude comparative récente révèle que ces coûts varient de 92 220 $ à 337 400 $ aux Etats-Unis, de 29 550 $ à 61 180 $ en Australie et de 9 980 $ à 34 202 $ au Canada (Malekzadeh et al., 2022). Par la suite, des « coûts directs annuels » viennent s'ajouter. Ils comprennent les dépenses liées à la prise en charge à long terme de la lésion médullaire, telles que soins médicaux réguliers, les traitements

de réadaptation, la médicamentation à long terme, les fournitures médicales, et la prise en charge des comorbidités liées à la LME (Merritt et al., 2019 ; Priebe et al., 2007). Il a été rapporté qu'aux Etats-Unis, ces coûts directs annuels seraient compris entre 27 437 $ et 69 469 $ (Cao & Krause, 2021), et qu'ils seraient plus élevés pour des patients nécessitant une réhospitalisation fréquente à cause du développement de comorbidités (Merritt et al., 2019). Enfin, les « coûts indirects annuels » liés à la LME font référence aux dépenses qui ne sont pas directement liées aux soins médicaux immédiats, mais qui sont associées à la prise en charge et à l'adaptation à la vie avec une LME. Ils incluent les pertes de revenus liées à l'incapacité de travailler, les coûts liés à l'adaptation du mode de vie, tels que les modifications du domicile ou du véhicule, ou encore les services d'aide à domicile. Aux Etats-Unis, ces coûts varieraient entre 35 246 $ et 100 838 $ (Cao & Krause, 2021).

Comprendre les coûts associés à la LME met en lumière l'ampleur des défis économiques auxquels font face les individus touchés, et l'impact qu'ils peuvent avoir sur leur santé psychologique. Il est maintenant essentiel de comprendre l'ampleur de cette condition dans la population. Cela nous conduit à examiner son épidémiologie, y compris sa prévalence, les groupes de population les plus touchés, et les tendances observées au fil du temps.

Les LME peuvent être divisées en deux catégories : les traumatiques et les non traumatiques, en fonction de la cause de leur survenue. Les LME non traumatiques font suite à des dysfonctionnements physiologiques internes tels que des tumeurs, des infections, des maladies neurodégénératives, des accidents vasculaires cérébraux, des anomalies congénitales ou encore des processus inflammatoires. A l'inverse, les LME traumatiques sont liées à des évènements traumatiques externes et représentent 90% de l'incidence annuelle de LME dans le monde (Ahuja, Wilson et al., 2017). Par la suite, nous nous intéresserons plus principalement aux LME traumatiques. Par conséquent, l'acronyme « LME » sera désormais réservé exclusivement à ces types de lésions.

En 2013, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dénombrait 500 000 nouveaux cas de LME par an à travers le monde, dont 2 500 uniquement en France. En 2021, l'OMS estimait que plus de 15 millions de personnes dans le monde vivaient avec une LME. L'incidence

des lésions médullaires varie selon les régions ou les pays et a progressivement augmenté avec l'expansion des activités humaines (Figure 12). Des chiffres récents communiqués par « *The National Spinal Cord Injury Statistical Center* » (NSCISC) indiquent qu'environ 302 000 personnes vivraient couramment avec une LME aux Etats-Unis en 2023 et que le taux l'incidence serait estimé à 18 000 nouveaux cas par an. En Italie, au cours de la dernière décennie, les taux d'incidence des LME standardisés selon l'âge et le sexe sont restés stables avec 26,5 cas par million d'habitants par an (Barbiellini Amidei et al., 2022), mais a augmenté de 37% au Canada par rapport à 2005, atteignant en 2019 un taux d'incidence de 32 par million d'habitants par an (Thorogood et al., 2023). Une méta-analyse faite sur des études provenant de 23 pays en développement révèle une incidence globale de 22,55 cas par million d'habitants par an (Golestani et al., 2022). Les LME sont 3 à 4 fois plus courantes chez les hommes que chez les femmes (DeVivo, 2012), avec un ratio hommes/femmes qui varie entre 1,10:1 et 6,69:1 dans les pays développés, et entre 1,00:1 à 7,59:1 dans les pays en développement (Kang et al., 2017). De plus, les patients âgés entre 15 et 29 ans et de plus de 65 ans constitueraient les groupes d'âge les plus touchés (van den Berg et al., 2010). Par ailleurs, l'âge moyen des LME dans les pays développés est compris entre 14,6 et 67,6 ans, et entre 29,5 à 46,0 ans, en ce qui concerne les pays en développement (Kang et al., 2017).

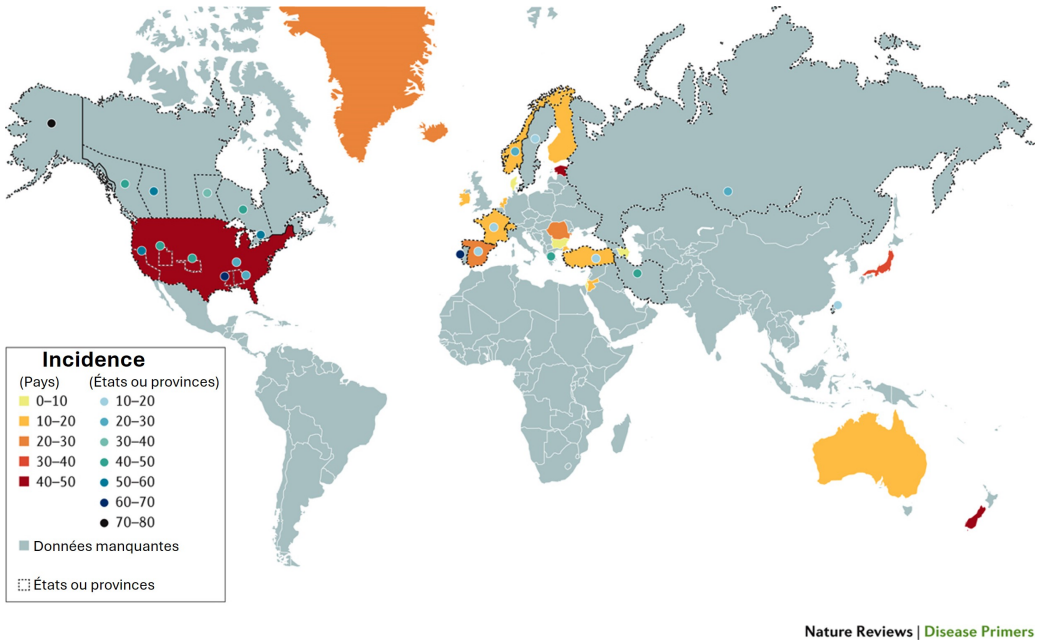


Figure 12 – **Incidence annuelle des lésions de la moelle épinière.** L'incidence des LME varie selon la région géographique. (Adaptée de Ahuja, Wilson et al., 2017).

2.2.2 Étiologie

L'étiologie des LME varie en fonction des pays, du sexe et de l'âge. Aux États-Unis, les deux principales causes de LME sont les accidents de la route (43,18%), majoritaires chez les personnes jeunes et impliquant des véhicules à moteur, des vélos ou des piétons, et les chutes (34,24%). Ces dernières sont plus courantes chez les personnes de plus de 60 ans et sont en augmentation constante avec le vieillissement global de la population (Golestani et al., 2022). On retrouve ensuite les causes liées aux pratiques sportives et récréatives, les accidents de travail et les violences. La Figure 13 extraite d'une méta-analyse menée en 2014 par Singh et al., illustre une carte mondiale mettant en évidence les causes des LME dans divers pays. Toutefois, en raison de l'urbanisation croissante et du développement des pays, ces statistiques sont en constante évolution (Singh et al., 2014). Selon le NSCISC, les accidents de la route représentent 37,6% des causes de LME aux Etats-Unis en 2023, suivi par les chutes (31,5%), les violences (par arme à feu, objet pénétrant et physique) (15,4%) et les pratiques sportives et récréatives (8,3%). 3,6% des LME sont causées par des complications médico-chirurgicales et les 3,6% restants comprennent les suicides, accidents liés à la chute d'objets, les catastrophes naturelles et d'autres blessures non classées. Cependant, dans les pays en développement les chiffres présentent davantage de variabilité. En effet, au Botswana, les LME sont davantage causées par les accidents de voitures (68%) alors que les chutes ne représentent que 10% des causes de LME. A l'inverse, au Népal les accidents de la route constituent 18,63% des LME alors que les taux de LME par chutes sont de 68,24%. De plus, certains pays en développement présentent un fort taux de LME par violences, comme l'Afrique du Sud (30,8%) ou encore le Brésil (28,4%). Les LME peuvent être classées en différentes catégories en fonction de leur origine et de leur cause. Les lésions cervicales sont les plus courantes (42,49%), suivis des thoraciques (31,09%) et des lombaires (20,41%) (Golestani et al., 2022). Selon le niveau et la gravité de la lésion, différents niveaux de troubles neurologiques sont observés, notamment la tétraplégie et la paraplégie. Ces conditions se caractérisent par des déficits sensorimoteurs plus ou moins sévères selon le taux de fibres nerveuses épargnées, pouvant conduire à la paralysie d'une partie ou de la totalité du corps. En effet, les déficits sont proportionnels aux

nombres de fibres lésées. La tétraplégie, également appelée quadriplégie, survient à la suite d'un traumatisme au niveau cervical et correspond à une atteinte fonctionnelle des quatre membres et du tronc, affectant les capacités sensorimotrices sous le niveau lésionnel, et induisant une perte d'autonomie. La paraplégie quant à elle survient à la suite d'une lésion thoracique, lombaire ou sacrée, et n'affecte que les membres inférieurs et la partie inférieure du tronc. Une atteinte de la partie droite ou gauche de la moelle épinière a pour conséquence une hémiplégie ipsilatérale, où seules les fonctions sensorimotrices des régions innervées du même côté de la lésion sont affectées. Il a été constaté qu'aussi bien dans les pays développés qu'en développement, la tétraplégie reste plus répandue que la paraplégie (Kang et al., 2017). Selon le NSCISC, la tétraplégie incomplète représente l'atteinte neurologique la plus courante à la suite d'une LME aux Etats-Unis en 2023, avec un taux de 47,1%. Viennent ensuite la paraplégie incomplète (20,1%), la paraplégie complète (19,8%) et la tétraplégie complète (12,5%). Dans les pays en développement, la Chine présente la plus faible proportion de paraplégie (18,53%), tandis que la proportion la plus élevée est observée en Iran (81,9%) (Golestani et al., 2022). De plus, le niveau de la lésion et l'atteinte neurologique sont associés à l'étiologie de la lésion. En effet, selon Chen et collaborateurs, les accidents de la route entraineraient presque toujours une tétraplégie avec 44% des lésions faites entre les niveaux cervicaux C1 et C4 et 52,4% entre C5 et C8. Les blessures par balle et les complications médico-chirurgicales entraineraient généralement une paraplégie, en particulier si ce sont les niveaux de T7 à S3 qui sont touchés (45,9% et 43,7%, respectivement). Pour les blessures par balle, la conséquence la plus courante serait la paraplégie complète, alors que les complications médico-chirurgicales et les chutes, entraineraient majoritairement des paraplégies incomplètes (Y. Chen et al., 2013).

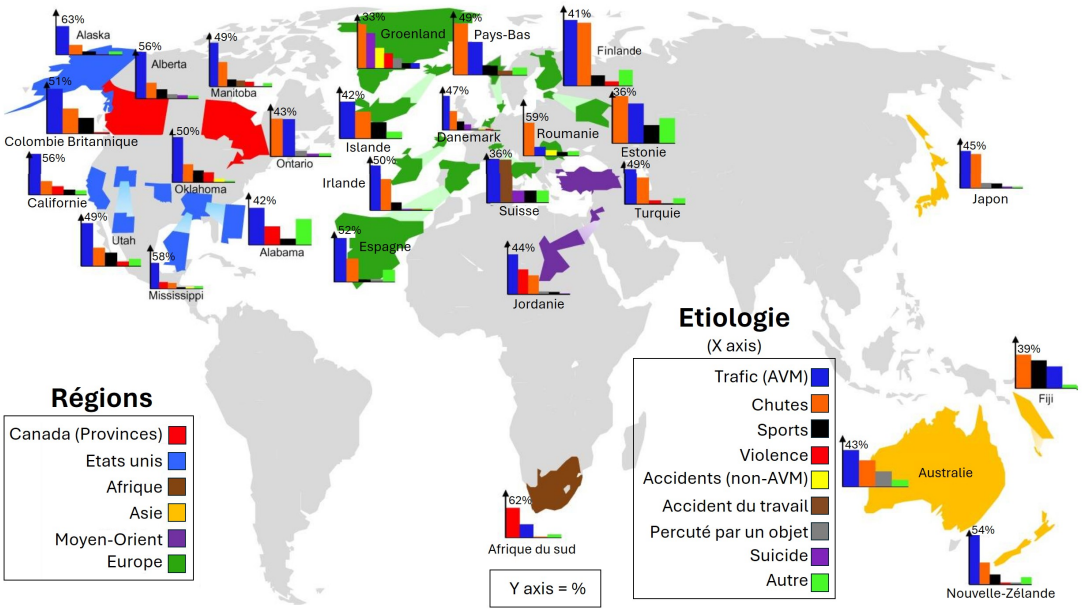


FIGURE 13 – **Étiologies des lésions traumatiques de la moelle épinière dans divers pays.** Sur les graphiques, l'axe des y correspond au pourcentage de contribution, tandis que l'axe des x classe les étiologies signalées de la plus haute à la plus basse de gauche à droite (à l'exception des autres causes, représentées à l'extrême droite). Les sports comprenaient la plongée. La violence comprenait des blessures par balle et par arme blanche. *AVM = Accidents de véhicules motorisés, non-AVM = Accidents non-liés aux véhicules motorisés.* (Adaptée de SINGH et al., 2014).

2.2.3 Physiopathologie de la lésion médullaire

Les LME se caractérisent par une lésion primaire, suivie d'une lésion secondaire. La lésion primaire résulte du dommage initial survenant au moment de l'accident ou de l'événement déclencheur. Elle est suivie d'une lésion secondaire qui se développe dans les minutes suivant la lésion primaire, et qui correspond à un ensemble de processus physiologiques contribuant à l'aggravation des dommages et à la détérioration continue du tissu médullaire, impactant ainsi la fonction spinale. Une compréhension approfondie des mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents à cette lésion secondaire est essentielle pour élaborer des stratégies thérapeutiques efficaces visant à atténuer l'aggravation de la lésion et à améliorer les résultats cliniques à long terme.

2.2.3.1 Lésion primaire

Les LME surviennent généralement lorsque des forces mécaniques excessives sont brusquement appliquées à la colonne vertébrale, provoquant une altération de l'intégrité du tissu

médullaire. Ces contraintes mécaniques traumatiques peuvent inclure l'hyperextension, l'hyperflexion et la rotation de la colonne vertébrale. La lésion primaire résulte de ces forces mécaniques initiales qui agissent sur la moelle épinière lors de la blessure, pouvant impliquer le déplacement de fragments osseux, de matériaux discaux et/ou de ligaments, susceptibles d'endommager le tissu médullaire. Cette lésion primaire peut entrainer la rupture des communications neurales entre les voies sus et sous-lésionnelles, perturbant les fonctions motrices, sensorielles et autonomes au même niveau ou en dessous de la lésion (Alizadeh et al., 2019).

Il existe 4 principaux mécanismes de lésion primaire : (i) la contusion avec compression persistante ; (ii) la contusion avec compression transitoire ; (iii) la distraction ; et (iv) la lacération/transection (Dumont et al., 2001). Selon Dumont et al, la forme de lésion primaire la plus fréquemment observée chez l'Homme est la contusion avec compression persistante (Dumont et al., 2001). Elle se produit généralement à la suite de fractures par éclatement, où des débris d'os se détachent puis se logent dans le tissu médullaire et le compriment, ou à la suite de blessures par fracture-luxation, ou encore de ruptures discales aigües. La contusion avec compression transitoire quant à elle se produit lors de blessures par hyperextension du rachis. Ensuite, le mécanisme de distraction fait référence à une force de traction ou d'étirement qui sépare ou écarte deux vertèbres adjacentes. Cette séparation peut causer une tension excessive sur la moelle épinière, entraînant des dommages potentiels, plus ou moins sévères. Enfin, les lésions primaires par lacération/transection sont plus rares et sont généralement d'origine expérimentale (Courtine & Sofroniew, 2019). Elles peuvent cependant être observées en clinique à la suite de blessures par projectile, arme tranchante, par luxation grave ou encore par déplacement de fragments osseux pointus. Les 3 premiers mécanismes présentés entrainent majoritairement des lésions médullaires incomplètes. En revanche, les lésions par lacération/transection varient considérablement, allant de blessures mineures à une transection complète.

2.2.3.2 Lésion secondaire

Les lésions primaires induisent une hémorragie immédiate et une mort cellulaire rapide avec relargage de glutamate par les neurones lésés au site d'impact. Cela déclenche ensuite une série de lésions secondaires en cascade, qui surviennent sur une période de quelques minutes à quelques semaines après la lésion primaire, et qui conduisent à une perte additionnelle de tissu et à un dysfonctionnement accru des structures cellulaires, créant ainsi un cycle de détérioration continue (Oyinbo, 2011). Ces lésions secondaires sont souvent plus importantes que celles causées par la lésion primaire et peuvent aggraver significativement l'état du patient et limiter les récupérations à long terme. La lésion secondaire se divise en 3 phases distinctes : (i) aigüe (<48 heures), (ii) subaigüe (48 heures à 14 jours), et (iii) chronique (>6 mois) (Anjum et al., 2020). Ces 3 phases sont résumées dans la Figure 14.

2.2.3.2.1 Phase aigüe

La phase aigüe débute directement après la lésion primaire et se poursuit pendant 48 heures. La perturbation mécanique immédiate causée par la lésion primaire endommage les neurones et les oligodendrocytes, perturbe le système vasculaire, provoquant une hémorragie locale, et compromet l'intégrité de la BHS (Bartanusz et al., 2011). Ces phénomènes favorisent la formation d'œdèmes cytotoxiques et vasogéniques (Seblani et al., 2023) qui induisent un gonflement du tissu, entrainant une compression mécanique supplémentaire de la moelle épinière. De plus, l'altération du parenchyme médullaire entraine une accumulation de neurotransmetteurs dans les neurones conduisant à une excitotoxicité causant la mort neuronale (Anjum et al., 2020). En parallèle, se produit l'activation et la prolifération des astrocytes et des cellules microgliales locales, suivies d'une infiltration de cellules immunitaires telles que les macrophages, les neutrophiles, les lymphocytes, ou encore les mastocytes (T.-Y. Gao et al., 2021 ; Hellenbrand et al., 2021 ; Seblani et al., 2024 ; Skaper et al., 2012). Ces cellules sécrètent des cytokines pro-inflammatoires dans le parenchyme médullaire lésé, telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α), l'interleukine 1β (IL-1β) et l'interleukine 6 (IL-6), qui contribuent à réponse inflammatoire locale (Hellenbrand et al., 2021).

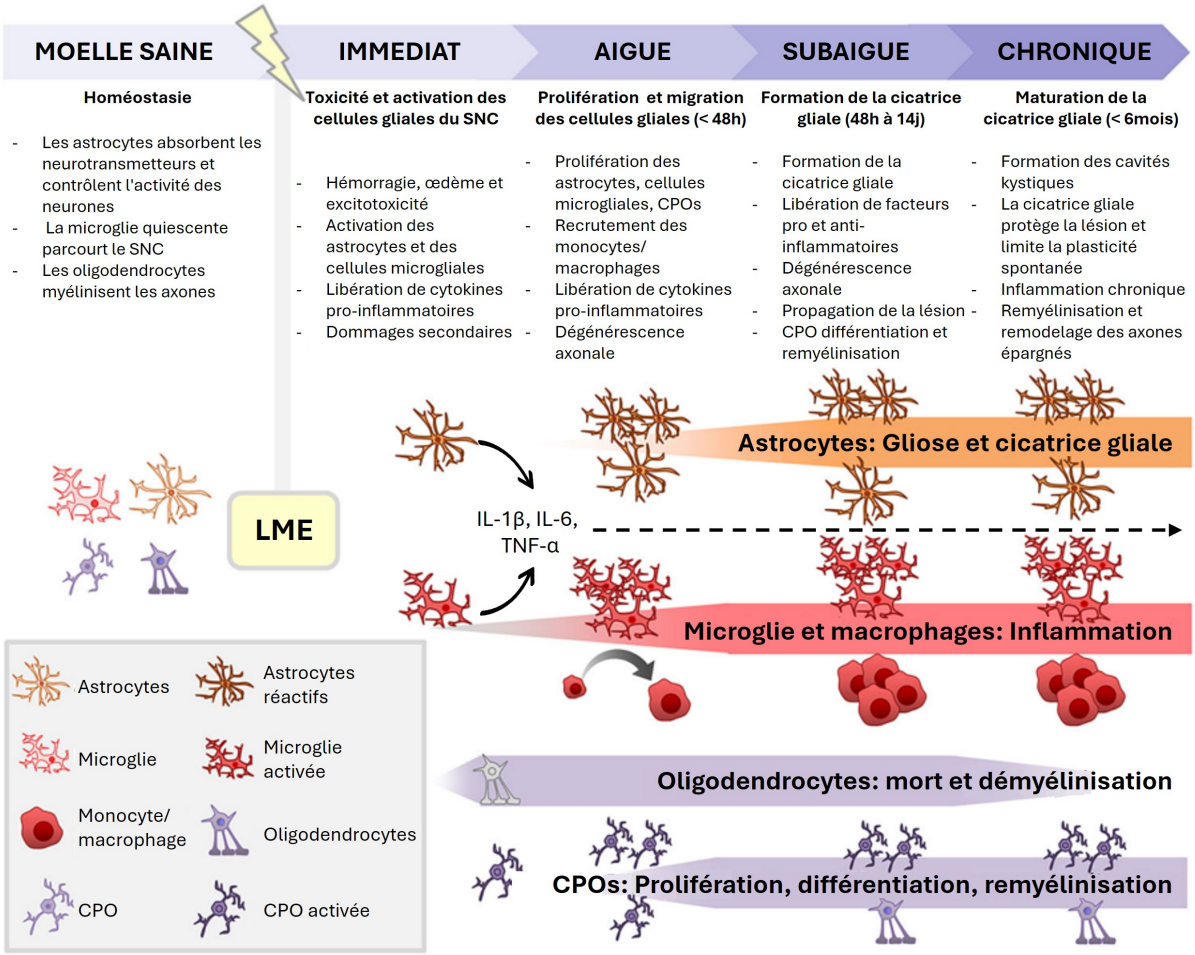


FIGURE 14 – **Dynamique temporelle de la réponse inflammatoire et des réponses cellulaires après une lésion de la moelle épinière.**
Dans la moelle épinière saine les astrocytes, les microglies et les oligodendrocytes/CPO jouent un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie. La lésion primaire altère le réseau vasculaire spinal et entraine une hémorragie, un œdème et une excitotoxicité qui propagent la mort cellulaire. Immédiatement après la LME, les astrocytes, les microglies et les CPO sont activés : ils prolifèrent, sécrètent des cytokines et contribuent aux dommages secondaires, dont la dégénérescence wallérienne. Durant la phase aigüe suivant la blessure, les cellules immunitaires telles que des monocytes et macrophages, sont recrutées sur le site de la lésion. Les astrocytes, les microglies et autres cellules gliales migrent vers le site de la lésion et la cicatrice gliale se forme. Dans les périodes subaiguës à chroniques, la cicatrice gliale mûrit et limite la plasticité des axones, mais également l'expansion des lésions provoquée par l'inflammation. Bien que les oligodendrocytes du site lésé soient vulnérables à la cytotoxicité, leur mort est en partie compensée par la prolifération, la différenciation et la remyélinisation des CPO. Ces phénomènes peuvent se poursuivre dans les phases plus chroniques de la lésion, durant lesquelles des processus de plasticité spontanée se mettent en place grâce à la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires et de facteurs de croissance au site lésé. *CPO = Cellules progénitrices des oligodendrocytes*. (Adaptée de GAUDET & FONKEN, 2018).

En effet, à la suite d'une LME, les taux locaux de TNF-α augmentent immédiatement après la blessure et persistent au-delà de deux semaines (Hellenbrand et al., 2021 ; Lund et al., 2023). L'accumulation de TNF-α induit une augmentation de l'expression de la protéine c-FOS impliquée dans l'excitotoxicité, et la libération de radicaux libres de l'oxygène (ROS), favorisant la mort cellulaire. Par ailleurs, il inhibe la survie et la différenciation des cellules précurseurs des oligodendrocytes, limitant la remyélinisation et la régénérescence neuronale (K.-B. Chen et al., 2011 ; Hermann et al., 2001 ; Lund et al., 2023). La production d'IL-1β débute également immédiatement après la lésion et perdure durant plusieurs jours, avec une régulation positive au 14ème jour (Garcia et al., 2016). L'IL-1β induit une diminution de l'expression de la protéine Bcl-2 qui limite la survie neuronale, et favorise l'expression de la protéine X associée à Bcl-2 (Bax) ainsi que l'activité de la protéine caspase-3, toutes deux impliquées dans le phénomène d'apoptose. Elle induit également une augmentation du taux de TNF-α (Ren et al., 2018). L'IL-6 est régulée positivement de manière constante durant les premières 24h, puis retrouve des niveaux de base 7 jours après la blessure (Hellenbrand et al., 2021). Elle joue un rôle majeur dans la formation de la cicatrice gliale via l'activation de la voie de signalisation STAT3 qui, dans ce contexte, favorise la différenciation des cellules souches neurales (CSN) en astrocytes (Hellenbrand et al., 2021 ; Sofroniew, 2009). Par ailleurs, la prolifération des cellules microgliales débutent dès le premier jour, atteint son maximum à partir de 7 jours et restent stables pendant 2 à 4 semaines (Popovich et al., 1997). Bien qu'il existe plusieurs effets positifs de l'inflammation après une LME, l'infiltration étendue sur plusieurs métamères de ces cellules immunitaires est l'un des principaux contributeurs à la dégénérescence neuronale, constituant une barrière à la régénérescence spontanée. Parallèlement, la lésion primaire provoque également une ischémie, un déséquilibre ionique et une hypoxie locale qui favorisent la mort nécrotique (Anjum et al., 2020).

2.2.3.2.2 Phase subaigüe

Si la phase aiguë de lésion secondaire persiste, alors la phase subaiguë commence et peut durer jusqu'à 2 semaines. Cette phase est caractérisée par une persistance de la réponse

inflammatoire, de l'ischémie et de l'excitotoxicité, ainsi que par la libération de ROS qui altèrent considérablement le microenvironnement cellulaire de la moelle épinière lésée. Ces phénomènes participent à la démyélinisation axonale et à la dégénérescence rétrograde des axones, appelée dégénérescence wallérienne, et contribuent à l'apoptose des cellules neuronales et gliales, propageant davantage la lésion (Ahuja, Wilson et al., 2017). Par ailleurs, la néoangiogénèse qui se forme spontanément après la LME ne fournit pas une vascularisation suffisante pour restaurer les dommages causés, et les vaisseaux rompus au site de la blessure entrainent des hémorragies qui accélèrent la perte de tissu au fil du temps (S. Li et al., 2022). La BHS devient alors de plus en plus perméable non seulement dans les zones endommagées mais également dans les tissus environnants, augmentant l'accumulation des cellules immunitaires autour du site lésionnel (Bartanusz et al., 2011). Les signaux inhibiteurs et inflammatoires ainsi sécrétés localement induisent une chimiorépulsion du cône de croissance axonale, entravant la génération de nouveaux axones dans la zone lésée (Clifford et al., 2023). De plus, l'altération continue du microenvironnement cellulaire a pour conséquence une détérioration de la matrice extracellulaire (MEC), qui donne lieu à une activation des astrocytes qui subissent alors divers changements moléculaires et morphologiques (Sofroniew, 2009). Ces astrocytes réactifs vont proliférer autour de la lésion et sécréter des protéines filamenteuses telles que la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), la nestine et la vimentine. Ces protéines forment avec les astrocytes réactifs une cicatrice appelée « cicatrice gliale ». Cette cicatrice va entourer progressivement la lésion et possède à la fois un effet bénéfique en limitant l'extension de la lésion, mais elle constitue également une entrave à la régénérescence, en favorisant un environnement inhibiteur via la sécrétion de molécules associées à la myéline, tels que Nogo et les chondroïtine-sulfates (Ohtake & Li, 2015 ; Schwab & Strittmatter, 2014 ; J. Silver & Miller, 2004). Cependant, il a récemment été mis en évidence que son rôle après une LME pourrait être plus nuancé, et qu'elle constituerait en réalité un support indispensable à la repousse axonale. En effet, l'activation de la voie de signalisation STAT3 par l'IL-6 dans les astrocytes réactifs stimule la libération de cytokines anti-inflammatoires et de facteurs neurotrophiques, tels que l'interleukine-10 (IL-10), le facteur de croissance épithélial (EGF) et le facteur neurotrophique

ciliaire (CNTF) favorables à la repousse axonale (Gaudet & Fonken, 2018). De nombreuses études ont montré que l'inhibition de la formation de la cicatrice gliale par l'ablation des astrocytes ou par l'élimination des astrocytes STAT3 entravait la régénérescence des axones (M. A. Anderson et al., 2016). Après 1 à 2 semaines, la prolifération astrocytaire s'arrête, et la maturation de la cicatrice gliale débute, marquant le passage à la phase chronique.

2.2.3.2.3 Phase chronique

Dans les premières étapes de la phase chronique, des cavités kystiques se forment dans le tissu médullaire lésé. Ces cavités sont principalement remplies de liquide extracellulaire et sont capables de s'étendre puis de fusionner, constituant une barrière à la régénérescence tissulaire (Ahuja, Wilson et al., 2017). De plus, environ deux semaines après la lésion, la population de fibroblastes résidents s'activent et prolifèrent. Ces fibroblastes réactifs migrent ensuite autour des cavités kystiques et sécrètent des molécules fibreuses de la MEC, telles que le collagène, la laminine et la fibronectine, qui vont s'agréger pour former un maillage fibreux, appelé « cicatrice fibrotique ». Cette cicatrice a pour rôle de fortifier la structure de la cicatrice gliale, consolidant la barrière protectrice autour de la lésion (Clifford et al., 2023). Par la suite, la phase chronique se caractérise par la stabilisation du volume lésionnel. Les réponses inflammatoires aiguës diminuent, la formation des cicatrices gliales et fibrotiques se stabilise, et la lésion atteint un état plus stable sur le plan structurel. Bien que ces cicatrices constituent un obstacle majeur à la régénérescence axonale, il peut se produire une réorganisation des circuits neuronaux dans la moelle épinière lors de la phase chronique. Des phénomènes de remodelage des axones pré-existants peuvent développer de nouvelles connexions ou renforcer des voies existantes, contribuant à des adaptations neuroplastiques. Cependant, cette réorganisation n'est souvent que partielle et reste souvent insuffisante pour restaurer complètement les pertes sensorimotrices (Rasmussen & Carlsen, 2016 ; Weidner et al., 2001).

2.2.4 Prise en charge et pronostics

2.2.4.1 Prise en charge actuelle des patients

La prise en charge des patients atteints de LME a considérablement évolué au cours du dernier siècle en raison de l'augmentation des connaissances sur les mécanismes des blessures, la physiopathologie de la lésion et le rôle de l'intervention chirurgicale (Fehlings et al., 2017). Les préoccupations premières des équipes médicales préhospitalières, telles que le service d'aide médicale d'urgence, est d'extraire en toute sécurité la personne du lieu de l'accident, de procéder à une réanimation initiale, de stabiliser les troubles des voies respiratoires et cardiaques, et de déterminer rapidement la probabilité d'une LME (Shank et al., 2017). Ces intervenants sont formés pour évaluer rapidement la gravité de la blessure, stabiliser la colonne vertébrale et réduire la pression intraspinale. Ces actions initiales sont décrites dans un protocole de prise en charge médicale établit par l'American College of Surgeons (*Best Practices Guidelines Spine Injury*, Chicago, IL, USA, 2022), qui doit être scrupuleusement respecté par les intervenants dans le but de limiter l'étendue des blessures et améliorer les perspectives de rétablissement à long terme des patients. Par ailleurs, DeVivo et al. ont mis en évidence une amélioration des résultats neurologiques, une réduction significative de la durée du séjour à l'hôpital, ainsi que des taux d'escarres chez les patients transférés précocement, comparé à ceux transférés plus tardivement (DeVivo et al., 2002). Ainsi, une communication efficace avec les services spécialisés dans la gestion des LME et la coordination du transfert rapide vers des établissements de soins appropriés jouent un rôle primordial pour assurer la continuité des soins, et améliorer la qualité de vie du patient.

À son arrivée au centre de traitement des LME, l'état neurologique du patient est évalué par le personnel de la médecine d'urgence, de la chirurgie traumatologique et des soins intensifs (Shank et al., 2017). Cette évaluation utilise l'échelle de déficience de l'*American Spinal Injury Association* (ASIA) qui définit un grade neurologique appelé l'*ASIA impairment scale* (AIS). L'AIS est basé sur les pertes sensorielles et motrices du patient et permet de visualiser rapidement le niveau et la gravité de la LME. Pour déterminer ce grade, les praticiens doivent procéder à un examen moteur complet, qui consiste à évaluer la force de chaque grand groupe

musculaire individuellement. Ils procèdent également à un examen sensoriel en évaluant la modalité du toucher léger et douloureux. Pour finir, une évaluation de l'atteinte de la racine sacrée doit être effectuée en évaluant le tonus rectal. On classe alors le degré d'atteinte de la lésion par un score AIS, allant d'une perte totale de sensibilité ou motricité (grade A), à une sensibilité et une motricité normale (grade E). D'après les données épidémiologiques, environ 49% des patients atteints de LME sont de grade A (lésion complète), 13% de grade B, 16% de grade C et 22% de grade D (van Middendorp et al., 2011) (Figure 15).

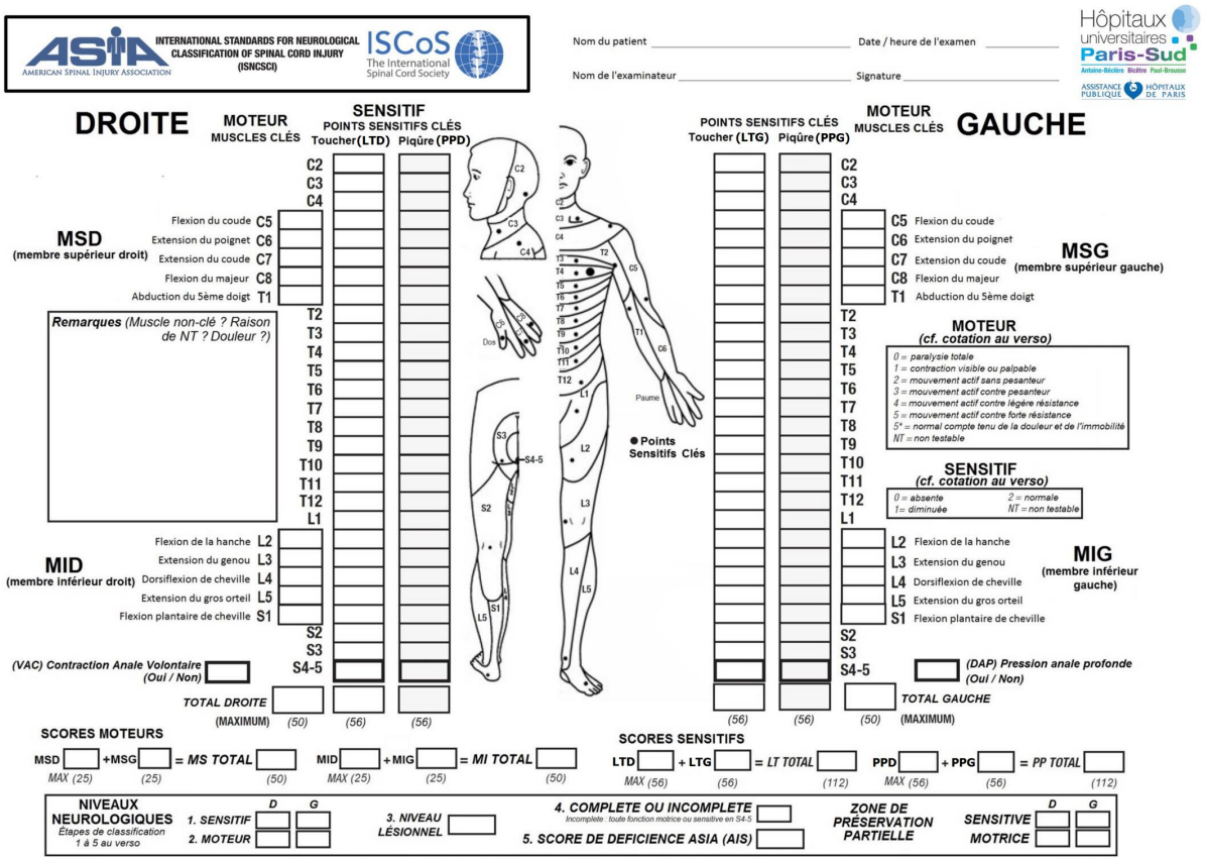


Figure 15 – **Échelle de déficience de l'American Spinal Injury Association.** Cette échelle permet de réaliser l'examen neurologique du patient par les cliniciens qui évalue les pertes des fonctions sensorimotrices et permet de déterminer le grade neurologique AIS. (Extraite de Raiguer et de Crouy, 2018).

Par la suite, des examens par imagerie médicale permettent d'approfondir le diagnostic de la LME. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) constitue la seule modalité permettant d'évaluer la structure interne de la moelle épinière (Fehlings et al., 2017). Cette technique

permet ainsi au neurochirurgien d'obtenir un bilan radiologique précis, afin de déterminer le niveau et la sévérité de la lésion en vue d'établir la prise en charge chirurgicale adéquate.

Après cette étape diagnostique, une intervention chirurgicale peut s'avérer nécessaire pour éliminer les débris osseux, décompresser la moelle épinière et/ou réaligner ou fixer des vertèbres entre elles, sans quoi une instabilité de la colonne vertébrale pourrait accroitre les conséquences traumatiques. Ce processus opératoire vise à optimiser les chances de récupération neurologique et à prévenir d'éventuelles complications à la suite d'une LME. Le moment d'intervention constitue un paramètre primordial à prendre en considération lors de la prise en charge du patient. En effet, comme l'illustre l'expression « *Time is Spine* », plus le patient est traité rapidement, moins les conséquences de la LME sont importantes et plus les chances de récupération neurologique sont grandes. Ainsi, il a été établi qu'une décompression de la moelle épinière réalisée dans les 24 heures après le trauma constitue la fenêtre temporelle la plus prometteuse pour permettre une amélioration significative du score ASIA (Fehlings et al., 2022).

Afin de réduire l'inflammation causée par la LME, divers traitements pharmacologiques sont utilisés. Parmi ceux-ci, l'injection de méthylprednisolone est fréquemment adoptée en raison de ses puissantes actions anti-inflammatoires (Fehlings et al., 2017). Cependant, l'efficacité et les bénéfices réels de cette intervention sont controversés, et les risques et effets secondaires potentiels associés à son utilisation dans le contexte de la LME doivent être pris en compte (Ahuja, Nori et al., 2017 ; Cheung et al., 2019). C'est pourquoi, qu'il s'agisse de la méthylprednisolone, ou de tout autre traitement suggéré, il est essentiel d'évaluer au préalable ses effets bénéfiques et néfastes, ainsi que les répercussions à long terme qu'ils pourraient avoir sur l'évolution de la lésion. Actuellement, des efforts de recherche continuent d'être déployés en vue d'améliorer la gestion des patients, et proposer un parcours de soin individualisé qui a pour objectif de réduire la morbidité et la mortalité, tout en améliorant la qualité de vie et l'espérance de vie des personnes concernées (Wiest et al., 2023).

2.2.4.2 Pronostics

Malgré l'amélioration significative de la prise en charge des patients depuis ces dernières années, la mortalité à la suite d'une LME demeure un défi majeur. Les estimations de la mortalité aiguë à l'hôpital varient de 4% à 17%, puis après la sortie de l'hôpital, les taux de mortalité annuels restent constamment élevés, avec 3,8% des patients décédant la première année après la blessure, 1,6% la deuxième année, puis 1,2% pour chaque année par la suite (Ahuja, Wilson et al., 2017). Ce phénomène est particulièrement préoccupant chez les hommes, les personnes âgées et celles présentant des atteintes neurologiques plus graves, voire complètes. En effet, les personnes présentant des lésions cervicales ont un taux de mortalité bien plus élevé que celles présentant des lésions thoraciques, lombaires ou sacrées (Barbiellini Amidei et al., 2022). De plus, bien que l'espérance de vie à long terme des personnes atteintes de LME soit nettement inférieure à celle des personnes saines, le taux de mortalité à long terme des patients n'aurait présenté aucune variation depuis ces 30 dernières années (DeVivo et al., 2022 ; Shavelle et al., 2015). Par ailleurs, malgré la diminution significative de 40% du taux de mortalité durant les deux années suivant la LME grâce à une meilleure prise en charge hospitalière (Strauss et al., 2006), les patients souffrants de LME ont davantage de probabilité de développer des pathologies secondaires. Les causes de décès les plus fréquentes sont les maladies du système circulatoire (40%) et les maladies respiratoires (24%) (Garshick et al., 2005), suivis des maladie digestives, les cancers, les infections du système urinaire, ou encore les septicémies (Chamberlain et al., 2019 ; DeVivo et al., 2022 ; Shavelle et al., 2015).

Enfin, on observe une disparité dans la mortalité liée aux LME entre les pays développés et en développement. Selon Kang et al., la mortalité dans les pays développés varie entre 3,1% et 22,2%, alors que dans les pays en développement, elle varie de 1,4% à 20,0% (Kang et al., 2017). Les auteurs expliquent que cette disparité serait significativement associée à l'augmentation de l'âge moyen de la population dans les pays développés, qui pourrait influencer la prévalence des LME et, par conséquent, les taux de mortalité.

2.2.5 Atteintes des fonctions somatiques

Comme mentionné précédemment, selon le niveau et de la gravité, les LME provoquent des altérations des fonctions sensorimotrices pouvant varier d'une faiblesse musculaire à une tétraplégie. Parmi les troubles sensorimoteurs les plus fréquemment observés, on retrouve d'abord le choc spinal, survenant immédiatement après la LME et correspondant à une perte de la fonction de la moelle épinière sous le niveau lésionnel. Il s'accompagne d'un état de paralysie flasque, une anesthésie, un contrôle intestinal et vésical absent et une perte d'activité réflexe (Ziu & Mesfin, 2024). Ensuite, le phénomène de spasticité constitue un trouble moteur caractérisé par une hypertonicité involontaire, provoquant une raideur et une résistance au mouvement. La spasticité peut également se manifester sous forme de contractions musculaires soudaines, de spasmes, ou d'une raideur persistante. Ce symptôme affecte considérablement la mobilité, les activités de la vie quotidienne et le sommeil des patients (Ahuja, Wilson et al., 2017). Les LME peuvent également engendrer une hypotonie qui consiste en la diminution du tonus musculaire, pouvant entrainer une faiblesse musculaire affectant le maintien de la posture, et le fonctionnement des organes internes, tels que la vessie et les sphincters (Hagen, 2015). La LME affecte la perception sensorielle, pouvant causer de l'anesthésie, qui est la perte totale de sensation, à la dysesthésie correspondant à des sensations anormales ou désagréables, telles que des brûlures ou des démangeaisons dans les zones touchées. De plus, la LME peut également causer une allodynie thermique et/ou mécanique, qui correspond à une exacerbation de la réponse douloureuse à une stimulation normalement non douloureuse (Christensen et al., 1996).

2.2.6 Atteintes des fonctions autonomes

Le SNA régule les fonctions viscérales et maintient l'homéostasie corporelle. Sur le plan physiopathologique, selon leur niveau et leur sévérité, les LME peuvent perturber l'intégrité du SNA, ayant pour conséquence une altération des fonctions autonomes et des organes internes sous leur contrôle. Parmi les principaux systèmes impactés on trouve les systèmes cardiovasculaire, respiratoire, gastro-intestinal, urinaire, et sexuel (Ahuja, Wilson et al., 2017).

2.2.6.1 Déficits du système cardiovasculaire

Les complications cardiovasculaires résultent de la perte du contrôle sympathique supraspinal, entraînant une prédominance du contrôle parasympathique, en particulier à travers le nerf vague resté intact. Ce phénomène appelé « choc neurogène » se produit généralement chez les patients souffrant d'une LME sévère de niveau T6 ou supérieur. Ce choc neurogène se traduit par une perturbation des fonctions cardiovasculaires caractérisées par une bradycardie, une réduction du débit cardiaque, et une diminution du tonus vasculaire basal en dessous du niveau de la lésion. En cas de lésions sévères, un arrêt cardiaque peut survenir. Ces changements peuvent persister durant plusieurs mois après la lésion, et en l'absence de traitement, les effets systémiques du choc neurogène peuvent aggraver les lésions du tissu spinal. La prise en charge actuelle des patients est de corriger rapidement l'hypotension en maintenant une pression artérielle moyenne entre 85 et 90 mmHg. Si les symptômes de choc neurogène persistent, des vasopresseurs, tels que la dopamine peuvent être administrés (Biering-Sørensen et al., 2018 ; Henke et al., 2022).

2.2.6.2 Déficits du système ventilatoire

Les complications ventilatoires sont une cause fréquente de morbidité et de mortalité chez les patients présentant une LME cervicale. En effet, les lésions cervicales hautes peuvent léser les nerfs phréniques et perturber les voies bulbospinales descendantes impliquées dans la fonction ventilatoire. Les conséquences de cette perturbation induisent une paralysie des muscles respiratoires, tels que les muscles intercostaux, le diaphragme et les abdominaux, entrainant une diminution de la capacité pulmonaire et du volume courant, une toux inefficace, une fatigue importante et une détresse respiratoire. Les patients souffrant d'une LME cervicale haute sont généralement dans l'incapacité de maintenir des performances respiratoires suffisantes et nécessitent une assistance ventilatoire à l'aide d'un ventilateur. Même si les personnes atteintes de LME cervicales basses et de niveaux inférieurs peuvent maintenir une indépendance vis-à-vis de la ventilation artificielle, ils courent un risque élevé de développer des pneumonies récurrentes, des épanchements pleuraux, des atélectasies et des infections des voies respiratoires. La prise en

charge actuelle consiste à utiliser diverses méthodes et appareils d'assistance pour mobiliser les sécrétions ainsi qu'à renforcer les muscles respiratoires. De plus, des thérapies pharmacologiques et des méthodes de neuromodulation électrique du système respiratoire sont actuellement à l'étude (Adler et al., 2009 ; Gonzalez-Bermejo et al., 2015 ; Hachmann et al., 2017 ; Henke et al., 2022 ; Le Pimpec-Barthes et al., 2011 ; Sweis & Biller, 2017).

2.2.6.3 Déficits des systèmes gastro-intestinal et génito-urinaire

Les complications gastro-intestinales et génito-urinaires augmentent le risque de complications à long terme et diminuent le bien-être psychologique et social du patient. Ces complications varient en fonction du niveau et de la sévérité de la lésion. Les LME situées au-dessus du cône médullaire induisent une hyperréflexie intestinale qui se traduit par l'augmentation du tonus du sphincter anal, conduisant généralement une constipation. En revanche, les LME localisées au niveau de la queue de cheval induisent une aréflexie intestinale impliquant une diminution du péristaltisme intestinal et un sphincter anal externe atone, augmentant le risque d'incontinence fécale (Qi et al., 2018). Par ailleurs, les LME situées aux niveaux L1-L2 et supérieurs affectent l'innervation du muscle lisse de la vessie et des sphincters urinaires, pouvant induire une incapacité à vider la vessie, une vessie acontractile, ainsi qu'une incontinence urinaire. L'urine résiduelle s'accumulant dans la vessie augmente le risque de développer des infections urinaires et des septicémies. Ainsi, il est primordial de vidanger régulièrement la vessie afin de prévenir toute infection (Henke et al., 2022 ; Sezer, 2015).

D'autres fonctions autonomes sont également altérées à la suite d'une LME, telles que le système glandulaire et la thermorégulation. En effet, les personnes atteintes de LME cervicales ou thoraciques élevées présentent une incapacité accrue à réguler leur température corporelle, pouvant être liée d'une part à une atteinte des fonctions des glandes sudoripares sous lésionnelles essentielles à la transpiration, et d'autre part à une interruption des afférences thalamiques et hypothalamiques, constituant le siège de la thermorégulation. Le dérèglement de la fonction de thermorégulation peut engendrer de fortes fièvres qui peuvent être délétères pour les patients (Henke et al., 2022).

Les atteintes des fonctions autonomes à la suite d'une LME peuvent être transitoires, évolutives ou persistantes. Elles peuvent avoir un impact significatif sur la qualité de vie des patients, entraînant une dépendance accrue, une diminution de l'autonomie et une augmentation du risque de complications médicales. Une prise en charge efficace et adaptée est essentielle afin limiter ces déficits et d'améliorer la qualité de vie des patients.

2.2.7 Récupérations spontanées

En 1928, Ramon y Cajal a été le premier à faire état de ce qui semblait être une plasticité dans le SNC. Il conclut de ses études sur les traumatismes du SNC que « *la présence ou l'absence de facteurs auxiliaires externes peut contribuer à la mise en place de processus de régénérescence* » (Ramon y Cajal, 1928). En 1969, Raisman a défini la plasticité neuronale comme la formation de nouvelles connexions synaptiques dans le SNC à la suite d'un traumatisme (Raisman, 1969). Aujourd'hui, plusieurs études ont validé l'hypothèse d'une réorganisation structurelle spontanée des circuits neuronaux épargnés à la suite d'une LME anatomiquement complète ou incomplète (Courtine et al., 2008 ; Raineteau & Schwab, 2001 ; Rosenzweig et al., 2010). Différents types de réorganisation peuvent se produire à la fois au niveau local et à distance, et vont dépendre du type de LME (O'Shea et al., 2017). Localement, la LME va induire différentes réponses axonales. Tout d'abord, un phénomène de dégénérescence wallérienne et de rétractation des axones survient immédiatement après la lésion. Ensuite, la plasticité post-lésionnelle spontanée va consister en des tentatives de régénérescence et réorganisation des axones à travers le noyau lésionnel non neural et les circuits épargnés en contournant la lésion, en la formation de germinations axonales au sein même des circuits épargnés, ainsi qu'en une synaptogénèse dérivée soit de terminaisons locales épargnées, soit d'axones plus distants (O'Shea et al., 2017). L'ensemble de ces processus sont illustrés dans la Figure 16.

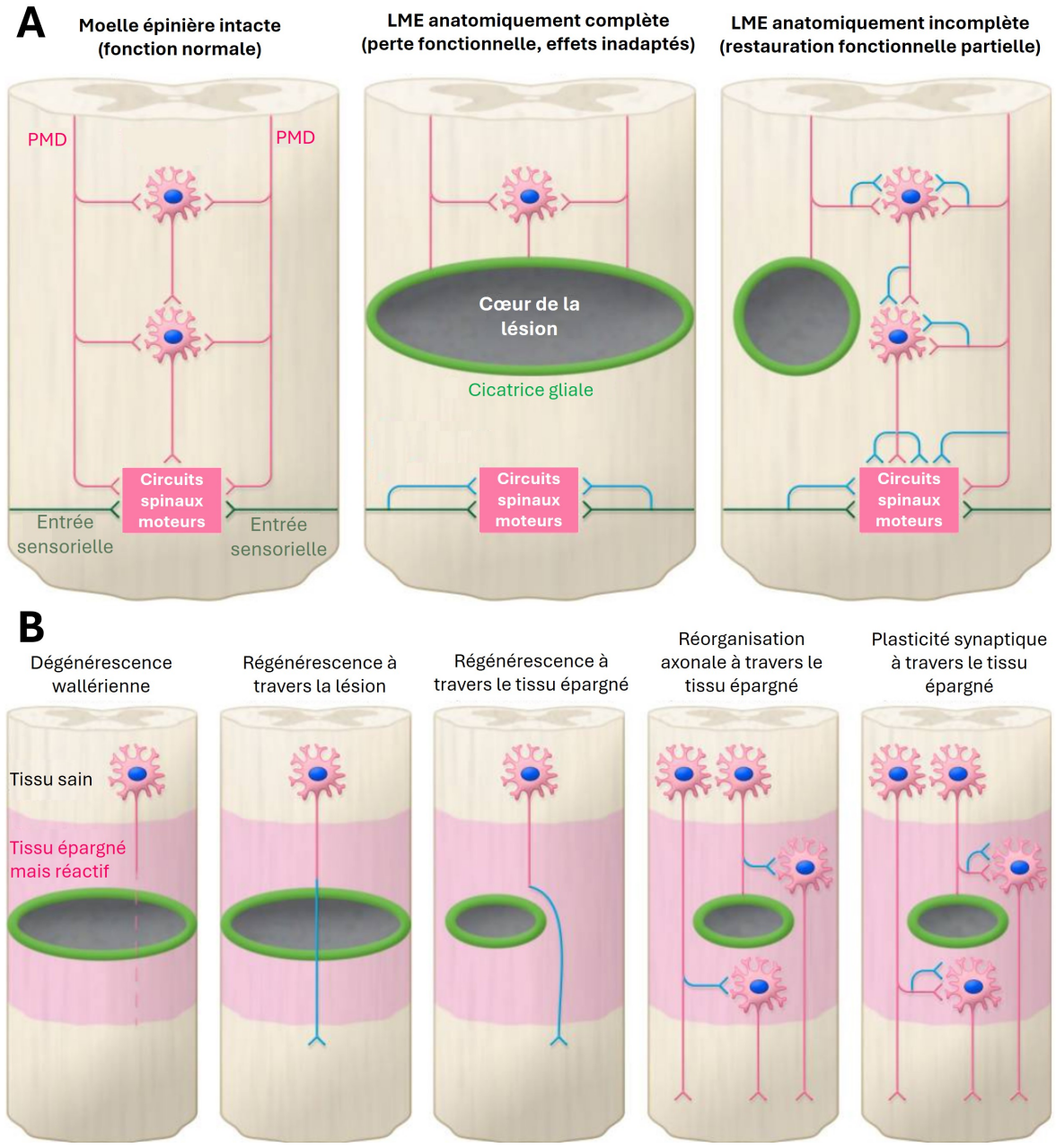


FIGURE 16 – **Plasticité post-lésionnelle spontanée. A)** Différents types de réorganisation des circuits après différents types de LME. Une LME anatomiquement complète est associée à une plasticité synaptique qui peut donner lieu à des effets inadaptés tels qu'une spasticité musculaire ou une dysréflexie autonome. Une LME anatomiquement incomplète peut également donner lieu à une croissance axonale et à une plasticité synaptique qui peuvent restaurer partiellement les fonctions sensorimotrices. **B)** Différentes réponses de croissance potentielles des axones et des synapses après une LME. *PMD = Projections motrices descendantes.* (Adaptée de O'SHEA et al., 2017).

Ces potentiels de régénérescence et de synaptogénèse spontanées sont régulés à la fois par mécanismes neuronaux intrinsèques, et par des mécanismes cellulaires et moléculaires extrinsèques provenant de cellules voisines. En effet, des études réalisées sur neurones rétiniens et corticospinaux matures ont montré que les voies de signalisation PTEN/mTOR, SOCS3 et STAT3 augmentent de manière intrinsèque la capacité de régénérescence des axones à la suite d'une lésion (Z. He & Jin, 2016 ; Lang et al., 2013 ; K. K. Park et al., 2008 ; F. Sun et al., 2011). Par ailleurs, les astrocytes, les fibroblastes ou encore la microglie intra et péri-lésionnels sécrètent des molécules, telles que les laminines, l'oncomoduline, des molécules de la MEC, des cytokines anti-inflammatoires et des facteurs neurotrophiques, qui fournissent un environnement favorable à la repousse axonale (M. A. Anderson et al., 2016 ; Gaudet & Fonken, 2018 ; Kurimoto et al., 2013). De plus, les astrocytes jouent également un rôle essentiel dans la néosynaptogénèse et le guidage du cône de croissance en régénérescence via la sécrétion de facteurs neurotrophiques et de molécules chimiotactiques comme les thrombospondines, les glypicans, l'hévine et la sémaphorine-3a (O'Shea et al., 2017). Enfin, une remyélinisation spontanée peut également survenir durant la phase chronique de la LME (Pukos et al., 2023).

La plasticité post-lésionnelle spontanée se retrouve également au niveau des voies supra-lésionnelles et corticales. En effet, des études électrophysiologiques expérimentales réalisées chez des rats présentant une transection médullaire ont révélé une réorganisation fonctionnelle immédiate du cortex somatosensoriel primaire. Cette réorganisation se manifeste par une augmentation des réponses corticales aux stimuli appliqués au-dessus du niveau de la lésion, suggérant un démasquage de synapses excitatrices silencieuses et un ralentissement de l'activité corticale spontanée, suggérant une réorganisation corticale à long terme (Nardone et al., 2022). Par ailleurs, des études chez le rongeur ont également montré une réorganisation spontanée des voies motrices et du cortex moteur à la suite d'une LME. En effet, une hémisection cervicale C4-C5 chez le rat a réduit l'étendue de la carte motrice, qui correspond aux régions corticales motrices activées lors d'un mouvement, et a conduit à une représentation élargie des muscles de l'épaule et du coude par rapport au poignet et aux doigts (Martinez et al., 2010). Chez l'Homme, des études morphométriques du volume cortical ont révélé une diminution

significative du volume de la substance grise dans les cortex somatosensoriel et moteur primaire (Nardone et al., 2018). Cependant, des enregistrements électroencéphalographiques ont révélé des changements dans la région d'activation cérébrale lors de la réalisation d'une tâche motrice chez des personnes atteintes de LME. En effet, la tâche motrice a induit d'une part une activation accrue de certaines régions corticales, telles que le cortex moteur primaire, l'aire motrice supplémentaire, l'aire prémotrice ou encore le cortex pariétal et le cortex somatosensoriel primaire, comparé à des témoins non lésés, mais également l'activation d'aires corticales normalement inactives lors de la tâche motrice chez des personnes saines (Kokotilo et al., 2009).

Cette capacité de réorganisation spontanée est plus importante chez les rongeurs que chez l'Homme. Cependant, elle peut conduire à des récupérations fonctionnelles après une lésion, tant chez l'Homme que chez l'animal (Fawcett et al., 2007 ; Kakuta et al., 2019 ; Spiess et al., 2009). Par ailleurs, il semblerait que la réorganisation des voies corticospinales et réticulospinales serait indispensable aux récupérations fonctionnelles (Ballermann & Fouad, 2006 ; Weidner et al., 2001) qui peuvent varier considérablement d'un individu à l'autre et s'étendre sur des mois, voire des années. L'ampleur de la récupération dépend de la quantité de tissu épargné lors de la lésion médullaire. Plus la quantité de tissu épargné est importante, plus la probabilité d'observer des récupérations fonctionnelles est grande (Courtine & Sofroniew, 2019). Malgré cela, la plupart du temps la réorganisation reste insuffisante pour permettre une récupération complète des fonctions sensorimotrices et améliorer la qualité de vie des patients. De plus, selon le paradoxe neuroanatomique-fonctionnel, la plasticité post-lésionnelle spontanée peut, dans certains cas, avoir des conséquences inadaptées, telles que la douleur neurogène et la spasticité musculaire (Fouad et al., 2021) (Figure 16A).

2.2.8 Modèles expérimentaux pertinents

2.2.8.1 Types de lésion

Afin de développer des stratégies thérapeutiques efficaces pour traiter les LME, il faut sélectionner des modèles expérimentaux appropriés pour évaluer l'impact de l'intervention testée sur les mécanismes de réparation ciblés, tout en restant pertinent en vue d'une application chez l'Homme. Les modèles de transsection complète et partielle sont faciles à mettre en œuvre. Ils sont particulièrement adaptés à l'étude de la régénérescence axonale (M. A. Anderson et al., 2018) et à l'utilisation de biomatériaux qui permettent de combler la lésion (Bonnet, Trimaille et al., 2020). Cependant bien que le modèle de transsection soit couramment utilisé en recherche préclinique (32,5%), il est moins représentatif de la pathologie humaine, et le risque élevé de décès des animaux à la suite d'une section complète rend complexe son utilisation. Les modèles expérimentaux de LME par distraction sont moins représentés (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Ils consistent en un étirement contrôlé de la moelle épinière visant à simuler les forces de tension subies par la moelle épinière en cas de trauma (Cheriyan et al., 2014). La LME la plus courante chez l'Homme est la contusion médullaire, suivie de près par la compression médullaire. Les modèles compressifs consistent en une contusion initiale suivie d'une compression prolongée par application d'une force pendant une durée plus longue (Cheriyan et al., 2014). Ils sont généralement utilisés pour étudier les processus de réparation après la décompression médullaire (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Le modèle de contusion est le premier modèle qui a été développé pour étudier les LME (Allen, 1911) qui consiste en l'application d'une force mécanique brève et contrôlée sur la moelle épinière. Ce modèle est le plus utilisé pour étudier les LME (41%) car il comprend toutes les caractéristiques essentielles des lésions les plus fréquemment observées chez l'Homme (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Il peut être utilisé pour étudier à la fois les stratégies de neuroprotection et de neurorégénérescence comme preuve de concept de l'efficacité d'un traitement (Krishna et al., 2013). Il existe plusieurs modèles de contusion, dont les deux plus courants sont le lâché de poids (Allen, 1911) et l'utilisation d'un impacteur (Verma et al., 2019). Chacune de ces méthodes présentent des avantages et des inconvénients. La méthode du lâcher de poids est

relativement simple à mettre en œuvre et peu coûteuse, ne nécessitant souvent qu'un dispositif de suspension pour le poids. Cependant, il peut être plus difficile de contrôler précisément la localisation et la profondeur de la lésion avec cette méthode. De plus, la variabilité de la lésion ainsi induite entre les animaux peut être plus importante, ce qui impacte la reproductibilité des résultats. En revanche, l'utilisation d'un impacteur est certes plus coûteux, mais il permet un contrôle plus précis de la force, la surface, le temps d'application, de la localisation et de la profondeur de la lésion. De plus, le contrôle de tous les paramètres d'impact (force, vitesse et durée) limite la variabilité inter-individuelle et permet une bonne reproductibilité des résultats (Verma et al., 2019).

2.2.8.2 Modèles animaux

Le choix du modèle animal dépend souvent des objectifs spécifiques de la recherche. Parmi les modèles animaux les plus fréquemment utilisés pour étudier les LME, on retrouve principalement le rongeur (92%), avec 72,4% des modèles utilisant le rat et 16% utilisant la souris. Les autres modèles animaux sont moins représentés, avec 2,4% pour le lapin, 2,3% pour le chien, 2,2% pour le chat et 1,5% pour le cochon et le primate non-humain (Sharif-Alhoseini et al., 2017). Dans une moindre mesure, des modèles utilisant les poissons et les lamproies ont également été étudiés en raison de leurs capacités de régénérescence distinctives (Doyle et al., 2001). Chaque modèle va présenter des avantages et des inconvénients.

Souris

Les modèles murins sont faciles à mettre en œuvre en raison de leur faible coût et de leur cycle de reproduction court. Ils sont de plus en plus utilisés pour étudier la biologie cellulaire et moléculaire fondamentale des LME. Les souris présentent un génome similaire à celui de l'Homme et sa manipulation génétique peut s'avérer très utilise pour étudier les phénomènes de régénérescence post-lésionnelle. Cependant, la petite taille de la moelle épinière des souris peut rendre plus difficile la réalisation de procédures chirurgicales précises, ainsi que les greffes et l'utilisation de biomatériaux. De plus, la physiopathologie de la lésion n'est pas

très représentative de celle de l'Homme, elle présente notamment moins de cavités kystiques et la cicatrice gliale est plus développée. Par ailleurs, le modèle muri démontre une meilleure capacité de régénérescence neuronale à la suite d'une lésion, ce qui peut influencer les résultats des études sur la récupération, et limite donc la pertinence d'un tel modèle (Hardin-Pouzet & Morosan, 2019 ; Kjell & Olson, 2016 ; Sharif-Alhoseini et al., 2017).

Rats

Les rats ont une moelle épinière plus grande que les souris, ce qui facilite les interventions chirurgicales, les greffes et les implantations de biomatériaux. Il s'agit d'un modèle peu coûteux, qui présente une anatomie bien comprise, et les modèles de rats consanguins limite la variabilité entre les individus. Le modèle du rat est largement utilisé dans de nombreuses études portant sur les LME, ce qui se traduit par une abondante littérature, facilitant ainsi les comparaisons avec des travaux antérieurs. De plus, les méthodes d'analyse fonctionnelle sont bien établies, contribuant à la robustesse des résultats obtenus. Un des intérêts majeurs à l'utilisation du rat est d'être plus proche physiologiquement de l'Homme que d'autres espèces, conférant ainsi aux résultats des recherches une meilleure performance translationnelle. De plus, à la suite d'une LME ils développement un grand nombre de cavités kystique, à l'instar de la pathologie humaine. Cependant, la manipulation génétique des rats est difficile et il n'existe actuellement pas d'alternative à l'utilisation des souris pour étudier le rôle de gènes spécifiques dans les LME à l'aide de techniques transgéniques. De plus, comme décrit dans une section précédente, les rongeurs étant quadrupèdes, leurs tractus corticospinaux diffèrent de l'anatomie médullaire humaine, pouvant conduire à des différences importantes dans les processus de récupération à la suite d'une lésion (Hardin-Pouzet & Morosan, 2019 ; Kjell & Olson, 2016 ; Sharif-Alhoseini et al., 2017).

Cochons

Les modèles porcins de LME constituent un modèle intermédiaire pertinent pour l'évaluation préclinique des thérapies réparatrices afin de faciliter la traduction clinique (Gayen et al.,

2023 ; Wathen et al., 2023). L'anatomie de la moelle épinière et la physiopathologie de la LME des cochons sont plus proches de celles des humains que celles des rongeurs (Toossi et al., 2021). Une étude a récemment montré une localisation similaire du tractus corticospinal entre l'Homme et le cochon (Leonard et al., 2017). Ces similitudes permettent de reproduire plus facilement les caractéristiques anatomiques des LME humaines. Par ailleurs, la longueur accrue de la moelle épinière porcine permet l'étude des processus régénératifs sur de longues distances, comparable à celles de l'Homme (Wathen et al., 2023). Bien que le cochon constitue un modèle pertinent pour étudier les LME, il présente toutefois des inconvénients majeurs. Tout d'abord, les cochons sont plus coûteux à acheter, stabuler, entretenir et donc à utiliser pour la recherche que les rongeurs. De plus, l'évaluation des récupérations fonctionnelles est très peu représentée dans la littérature, en particulier pour les membres supérieurs. La standardisation de la quantification des récupérations n'est pas bien établie, ce qui rend compliquée la comparaison entre les différentes études utilisant ce modèle. Pour finir, l'évaluation des fonctions sensorielles et de la douleur est très limitée dans les modèles porcins par rapport aux autres animaux (Wathen et al., 2023).

Primates non-humains (PNH)

Les modèles de PNH sont de plus en plus utilisés pour tester des thérapies réparatrices à la suite d'une LME. Ils partagent une similarité anatomique importante avec les humains, offrant une représentation plus fidèle des caractéristiques des LME. En effet, ils présentent des faibles différences génétiques, une taille et une organisation neuroanatomique plus similaire de la moelle épinière par rapport aux rongeurs. De même, les réponses inflammatoires et immunitaires chez les PNH à la suite d'une LME sont plus proches de l'Homme que celles du rongeur. De plus, ces similarités avec l'Homme rendent plus facile l'évaluation des récupérations fonctionnelles des membres supérieurs et inférieurs par rapport au cochon, comme les améliorations de la locomotion bipède et de la dextérité de la main. Bien qu'en terme de physiopathologie ce modèle soit adéquat pour l'étude des LME, il présente toutefois bon nombre de limites. Tout d'abord, comme pour le modèle porcin, l'aspect financier constitue une entrave à l'utilisation

expérimentale des PNH. De plus, ces animaux nécessitent un hébergement et des soins vétérinaires spécialisés. Ils ont des périodes de gestation plus longues par rapport à d'autres modèles animaux, ce qui peut retarder la progression des recherches et rendre la gestion de la reproduction plus complexe. Pour finir, en raison de leur grande similitude avec l'Homme, l'utilisation de PNH soulève des préoccupations éthiques importantes (Courtine et al., 2007 ; B. K. Kwon et al., 2015 ; Wathen et al., 2023).

Ainsi, le choix du modèle animal dépend de l'objectif spécifique de la recherche, du budget et des considérations éthiques. Il est donc important de sélectionner le modèle le mieux adapté afin d'obtenir des résultats pertinents et significatifs, tout en respectant les principes des 3R : Réduction, Remplacement, et Raffinement, exposée pour la première fois par Russell et Burch en 1959 (Russell & Burch, 1959) et s'appuyant sur des principes similaires proposés par Marshall Hall en 1835 (Hall, 1973), qui visent à minimiser l'impact sur le bien-être des animaux tout en atteignant les objectifs de recherche.

2.2.9 Stratégies de restauration après une lésion médullaire

2.2.9.1 Restauration anatomique de tissu médullaire lésé

La restauration anatomique du tissu médullaire lésé consiste en l'utilisation de stratégies thérapeutiques visant à promouvoir la neuroprotection à travers la régulation de la neuroinflammation post-lésionnelle et de la neurorégénérescence, en ciblant les mécanismes de réparation intrinsèques et extrinsèques du tissu médullaire. Favoriser la restauration anatomique de la moelle épinière à la suite d'une lésion est essentiel pour favoriser les récupérations fonctionnelles. Dans cette section, nous examinerons d'abord les stratégies neuroprotectrices étudiées pour contrôler la neuroinflammation post-lésionnelle. Ensuite, nous aborderons les stratégies favorisant la régénérescence cellulaire et tissulaire. Enfin, nous discuterons de la manière dont les thérapies cellulaires combinent ces deux aspects de manière synergique.

2.2.9.1.1 Stratégies neuroprotectrices

Les LME constituent un problème majeur de santé publique. Bien qu'aucun traitement n'ait encore prouvé son efficacité pour les traiter, l'évolution des approches thérapeutiques n'a cessé de progresser depuis l'Antiquité. Les premiers écrits évoquant les LME remontent à l'Égypte ancienne, 3000 ans avant J.C. Par la suite, Hippocrate fut le premier à proposer la traction pour réduire ces blessures (J. R. Silver, 2005). Au fil des siècles, les connaissances médicales entourant les LME ont continué de progresser. Aujourd'hui, la recherche continue d'explorer des approches novatrices et des technologies de pointe afin d'optimiser les stratégies thérapeutiques et d'offrir des solutions toujours plus efficaces pour ceux qui souffrent de LME (Curcio & Bradke, 2018). Étant donné que les mécanismes de réparation endogènes spontanés restent insuffisants pour permettre une récupération complète, les principaux objectifs des stratégies actuelles sont de limiter les lésions secondaires et de stimuler les processus de régénérescence intrinsèque dans le but de favoriser les récupérations fonctionnelles et d'améliorer la qualité de vie des patients.

Ainsi, l'un des principaux objectifs des stratégies actuelles est de promouvoir la neuroprotection tissulaire en limitant les lésions secondaires (Ahuja & Fehlings, 2016). La neuroprotection vise donc à réduire la dégénérescence et l'étendue de la lésion, en s'attaquant spécifiquement à la réponse inflammatoire. Pour cela les agents pharmacologiques neuroprotecteurs utilisés dans le traitement des LME visent à moduler le système immunitaire en ciblant spécifiquement les voies de signalisations impliquées dans l'inflammation. Parmi ces molécules, on retrouve la méthylprednisolone, un corticostéroïde de synthèse dont l'usage est controversé en raison des effets néfastes qu'il pourrait entrainer. On retrouve également le riluzole, un bloqueur de canaux sodiques, qui a montré des améliorations sensorimotrices importantes sur le plan fonctionnel et électrophysiologique lors d'études précliniques (Nógrádi et al., 2007). Cependant, malgré un certain degré de récupération fonctionnelle chez des patients atteints de LME observé lors d'un essai clinique de phase III, l'utilisation du riluzole n'a pas atteint le critère d'efficacité prédéterminé pour être utiliser en clinique (Fehlings et al., 2023). Les stratégies utilisant des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont aussi largement étudiées.

Parmi les AINS on retrouve notamment la minocycline et l'indométacine (Lambrechts & Cook, 2021 ; J. Xu et al., 2021), dont les principaux effets consistent à inhiber la réponse microgliale, en réduisant les taux des cytokines IL-1β et TNF-α, et à réduire l'expression des protéines cyclooxygénase et Rho-A. Ces inhibitions favorisent la neuroprotection du tissu lésé à travers la diminution du volume lésionnel, la réduction de la production des radicaux libres locaux et de l'expression de la GFAP, et permet l'amélioration des récupérations fonctionnelles (Lambrechts & Cook, 2021 ; J. Xu et al., 2021). Cependant, comme pour la méthylprednisolone, l'utilisation de ces agents pharmacologiques est controversée en raison des complications secondaires qu'elles peuvent engendrer, ainsi que de l'absence d'effet bénéfique observé à la suite d'un essai clinique de phase II (Casha et al., 2012 ; Lambrechts & Cook, 2021). De plus, malgré tous les résultats encourageants obtenus dans les études précliniques, de nombreux agents neuroprotecteurs ne parviennent pas à démontrer leur efficacité lorsqu'ils sont testés en clinique (Lima et al., 2022). Comme mentionné précédemment, la réponse inflammatoire peut avoir des effets à la fois bénéfiques et néfastes sur les LME (M. A. Anderson et al., 2016) selon son intensité et son décours temporel. En effet, la phase précoce de la réponse inflammatoire après une LME est bénéfique et ne doit pas être inhibée, alors qu'une inflammation prolongée a un potentiel neurodégénératif (Russo & McGavern, 2016). Ainsi, savoir ajuster l'intervention anti-inflammatoire et déterminer la fenêtre thérapeutique adéquate s'avéreraient être des étapes cruciales afin d'obtenir une neuroprotection efficace et de préserver l'épargne fonctionnelle.

2.2.9.1.2 Stratégies neurorégénératives

Outre la promotion de la neuroprotection, de nombreuses stratégies actuelles visent la régénérescence afin de rétablir la communication entre les voies sus- et sous-lésionnelles et d'améliorer les récupérations fonctionnelles. Diverses études tentent d'y parvenir en ciblant les processus de réparation endogènes (Curcio & Bradke, 2018), notamment via l'administration de facteurs de croissances et de facteurs chimioattractifs axonaux, tels que le facteur neurotrophique (NTF), le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF), le facteur de croissance neurale (NGF) ou encore le facteur neurotrophique dérivé des cellules gliales (GDNF)

qui participent à l'activation de programmes de croissance neuronale intrinsèques et extrinsèques. L'ensemble de ces molécules jouent sur la survie neuronale, la croissance axonale, la plasticité synaptique, la néosynaptogénèse et la neurotransmission (Courtine & Sofroniew, 2019 ; Griffin & Bradke, 2020). De plus, l'utilisation combinée de facteurs neurotrophiques peut amplifier leurs effets thérapeutiques (Griffin & Bradke, 2020). Récemment, la combinaison du facteur de croissance fibroblastique (FGF), du facteur de croissance épithélial (EGF) et du GDNF a induit une régénérescence robuste des axones des neurones propriospinaux à travers la lésion ainsi qu'une synaptogénèse après une transection complète de la moelle épinièrechez la souris adulte (M. A. Anderson et al., 2018). Par ailleurs, les biomatériaux sont de plus en plus utilisés (Bonnet, Alluin et al., 2020 ; Guijarro-Belmar et al., 2022). Ils fournissent un support qui favorise la régénérescence tissulaire, réduit les cicatrices, et créer un environnement propice à la récupération. Ils peuvent être utilisés dans diverses applications, notamment la création de matrices et la libération continue de molécules thérapeutiques (Jia et al., 2023). Par exemple, dans leur étude Anderson et al utilisent un hydrogel pour combler la lésion et délivrer dans le temps les facteurs neurotrophiques à visée régénérative (M. A. Anderson et al., 2018). Par ailleurs, d'autres traitements pharmacologiques à visée régénératives sont également à l'étude. En effet, Li et al. ont mis en évidence le rôle de la protéine Slit2 dans la synaptogénèse et la croissance axonale post-lésionnelles, et révèlent l'effet bénéfique du traitement par Slit2-N, la partie active de Slit2, qui inactive les protéines RhoA et Robo1 impliquées dans l'inhibition de la plasticité synaptique à la suite d'une LME (Y. Li et al., 2017). En plus d'induire la régénérescence axonale, certaines stratégies ciblent la remyélinisation des axones. En effet, bien qu'il existe une remyélinisation spontanée chez l'Homme à la suite d'une LME par la différentiation des cellules progénitrices d'oligodendrocytes (CPO), cette remyélinisation n'est pas suffisante pour permettre une récupération fonctionnelle significative (Almad et al., 2011). Cependant, des études ont remis en question l'intérêt même d'induire une remyélinisation après une lésion, car elles ont démontré que les CPO contribueraient à la formation des cicatrices et à l'expression de cytokines qui perturberaient la réponse immunitaire (Duncan et al., 2020).

2.2.9.1.3 Les thérapies cellulaires

Bien que certaines stratégies ciblant les processus neuroprotecteurs ou régénératifs aient montré des effets bénéfiques dans le milieu pré-clinique, les efforts déployés en recherche clinique restent insuffisants, soulignant la nécessité d'approches plus complètes et innovantes (Schaffran & Bradke, 2019 ; Zeng, 2023). Les thérapies cellulaires offrent une approche novatrice en ciblant à la fois la neuroprotection et la neurorégénérescence du tissu lésé. Les cellules souches offrent l'avantage unique de la pluripotence ou de la multipotence, leur permettant de se différencier en différents types de cellules, notamment les neurones et les cellules gliales. Dans le contexte de LME, elles peuvent être administrées selon plusieurs méthodes, telles que la perfusion en intraveineuse (Hirota et al., 2023), l'injection dans le tissu lésé (Levi et al., 2019), ou encore couplées avec un hydrogel puis transplantées au site lésionnel (Kwokdinata et al., 2023). Parmi les cellules souches couramment utilisées en thérapie on retrouve les cellules de Schwann, les cellules enveloppantes olfactives (CEO), les cellules souches embryonnaires (CSE), les CSN, les cellules souches hématopoïétiques (CSH), les cellules souches pluripotentes induites (SCPi) et les cellules souches mésenchymateuses (CSM) (L. Gao et al., 2020). Les effets thérapeutiques de ces cellules à la suite d'une LME vont dépendre de la souche utilisée, mais dans l'ensemble, ces thérapies aboutissent à des effets multimodaux, tels que la réparation et le remplacement des tissus endommagés, la régénérescence axonale, la promotion de l'angiogenèse, ainsi que la limitation la réponse inflammatoire et l'apoptose (Hirota et al., 2023). Par ailleurs, des études pré-cliniques ont montré que l'utilisation de cellules souches permet une amélioration significative des récupérations fonctionnelles à la suite d'une LME (Bellák et al., 2020 ; Iwai et al., 2015). De plus, certaines études se sont tournées vers la co-transplantation cellulaire dans le but d'évaluer leurs effets synergiques sur la régénérescence neuronale et sur l'amélioration des fonctions locomotrices (G. Wang et al., 2010 ; X. Wang et al., 2021). Cependant, l'utilisation de cellules souches présente certaines limites, notamment liées à l'apparition de tumeurs cancéreuses, des réactions de rejet immunitaire ainsi que des limites liées à des considérations éthiques (Poulos, 2018). C'est pourquoi les recherches actuelles se portent davantage sur l'utilisation de greffes autologues,

qui consistent à transplanter au patient ses propres cellules souches. Cette technique offre de réels avantages quant à la limitation des phénomènes de rejet et la réduction des risques d'infections, car la compatibilité est totale. En effet, de nombreuses études cliniques utilisant des cellules souches autologues ont montré l'innocuité et la faisabilité d'un tel procédé (Gant et al., 2022 ; Hur et al., 2016 ; Mackay-Sim et al., 2008 ; Zamani et al., 2022).

Parmi les cellules souches couramment utilisées, les CSM sont considérés comme la source cellulaire la plus prometteuse. En effet, elles sont très représentées dans l'organisme et résident dans la majeure partie des organes et des tissus (Meirelles et al., 2006). On les retrouve notamment au niveau de la pulpe dentaire, du bulbe olfactif, du cordon ombilical, du périoste, du tissu musculaire, de la moelle osseuse et du tissu adipeux (Murray et al., 2014). L'utilisation de ces cellules présente certains avantages. Tout d'abord, étant abondantes dans l'organisme, elles peuvent être plus facilement obtenues à partir des divers tissus. Cette facilité d'obtention simplifie le processus de collecte par rapport à d'autres types de cellulaires, comme les CSE. De plus les CSM présentent une faible immunogénicité et une faible capacité tumorale, ce qui encourage leur utilisation en recherche clinique (C. Li et al., 2020 ; Muthu et al., 2021). Par ailleurs, leur capacité de différentiation multi-lignée offre une grande variété d'applications thérapeutiques. Il a également été montré que ces cellules possèdent des propriétés immunomodulatrices et constituent un support trophique au travers leur communication paracrine. En effet, elles sécrètent des facteurs de croissance, des cytokines et autres facteurs trophiques capables de réguler l'inflammation, l'angiogenèse ou encore l'apoptose, permettant de limiter l'étendue de lésions tissulaires, de rétablir le réseau vasculaire et de recruter des progéniteurs locaux, favorisant la régénérescence et la réparation tissulaire. Par ailleurs, et contrairement aux CSE, l'utilisation de CSM ne soulève pas les mêmes préoccupations éthiques (Brown et al., 2019 ; Murray et al., 2014 ; Xia et al., 2023). Des études pré-cliniques ont révélé que l'utilisation de CSM dans le contexte des LME permet de réduire le volume lésionnel, et la neuroinflammation, favorise la régénérescence axonale, la myélinisation et induit une néovascularisation dans le tissu lésé (Morita et al., 2016 ; Okuda et al., 2017 ; Hirota et al., 2023 ; Delarue et al., 2024). Ces études ont également mis en

évidence une amélioration fonctionnelle associée à ces changements structurels. D'autre part, en recherche clinique, la promotion des récupérations sensorielles, motrices et neurologiques par les CSM à la suite d'une LME a souvent été démontrée (Honmou et al., 2021 ; Hur et al., 2016 ; Mendonça et al., 2014 ; Satti et al., 2016). Cependant, bien que les CSM présentent une faible tumorigénicité, le risque de développer certaines tumeurs persiste (Galland & Stamenkovic, 2020). Par conséquent, des essais cliniques sont actuellement en cours afin d'optimiser l'efficacité du traitement basé sur l'utilisation des CSM (Xia et al., 2023).

Malgré des résultats encourageants observés en clinique, les résultats en termes de récupérations fonctionnelles restent encore insuffisants (Xia et al., 2023). Si les thérapies cellulaires peuvent réduire l'inflammation post-lésionnelle et favoriser la restauration des tissus, les connexions nouvellement formées ne sont pas toujours fonctionnelles (M. A. Anderson et al., 2018 ; Sofroniew, 2018). Par conséquent, une prise en charge en rééducation et réhabilitation est nécessaire pour promouvoir l'intégration des circuits régénérés dans les réseaux fonctionnels par le biais de la plasticité dépendante de l'activité (Quilgars & Bertrand, 2019).

2.2.9.2 Stratégies de réhabilitation et restauration fonctionnelle

2.2.9.2.1 Stratégies de neuroréhabilitation

En 1949, le psychologue D.O. Hebb fut le premier à émettre l'hypothèse d'une plasticité dépendante de l'activité pour expliquer les bases cellulaires de la mémoire et de l'apprentissage. Il suggère que l'activité coordonnée d'une terminaison présynaptique et d'un neurone post-synaptique renforcerait les connexions synaptiques de ces deux éléments, qui persisteront et émettront de nouvelles ramifications (Hebb, 1949). Il a également été le premier à examiner les mécanismes par lesquels l'environnement et l'expérience influencent la structure et le fonctionnement du cerveau, et ses recherches ont inspiré de nombreuses études sur les environnements enrichis en tant que stimulants du développement comportemental (Eckert & Abraham, 2013 ; Nithianantharajah & Hannan, 2006).

Les stratégies de neurorehabilitation utilisées dans le contexte de LME se basent sur ce

postulat de Hebb et permettent donc de potentialiser la plasticité post-lésionnelle spontanée et la réorganisation neuronale, et de réactiver les circuits neuronaux régénérés en renforçant les connexions nouvellement formées, dans le but d'améliorer les récupérations fonctionnelles. Ces stratégies regroupent plusieurs modalités, telles que la neuromodulation, correspondant à la stimulation électrique des réseaux neuronaux, et l'entrainement moteur. De nombreuses études ont montré que la stimulation électrique de la moelle épinière après une lésion augmente la régénérescence et la réorganisation du tissu lésé, réactive les circuits neuronaux sous-lésionnels et améliore les performances motrices (Asboth et al., 2018 ; Musienko et al., 2012 ; Rowald et al., 2022 ; Van Den Brand et al., 2012 ; Wagner et al., 2018). Cependant, la seule stratégie efficace actuellement utilisée en clinique est la rééducation basée sur l'entrainement physique (Behrman et al., 2017 ; Martin Ginis et al., 2018), dont les effets bénéfiques à la suite d'une LME s'inscrivent à plusieurs niveaux. Tout d'abord, l'entrainement physique améliore significativement les fonctions autonomes altérées par la lésion, telles que les fonctions respiratoires, cardiovasculaires, gastro-intestinales et génito-urinaires (Alajam et al., 2019 ; de Paleville et al., 2013 ; Devillard et al., 2007 ; Hubscher et al., 2021). Ensuite, il favorise l'activation et la réorganisation fonctionnelle du cortex moteur. En effet, le contrôle supraspinal résiduel est essentiel pour rétablir le contrôle volontaire du mouvement après la LME. Par conséquent, la production d'une activité corticale volontaire répétée pendant un entrainement augmente les efférences motrices spécifiques impliquées lors de la réalisation d'une tâche, grâce à la modulation et l'activation des voies corticospinales épargnées ou régénérées (Asboth et al., 2018 ; L.-W. He et al., 2023 ; Loy & Bareyre, 2019 ; Martinez et al., 2009 ; Perez et al., 2004 ; Thomas & Gorassini, 2005), induisant ainsi une amélioration les récupérations fonctionnelles (Nandakumar et al., 2023). De plus, l'entrainement physique faciliterait les changements de cartes corticales, en favorisant la germination des fibres corticospinales, permettant d'améliorer les récupérations fonctionnelles suite à une LME (Fouad et al., 2001). En effet, Ilha et al. ont récemment révélé les effets bénéfiques de l'entrainement physique sur la plasticité corticale, en constatant une augmentation de l'expression de marqueurs de neuroplasticité, tels que la synaptophysine, la β-tubuline III et la protéine associée aux

microtubules (MAP-2) et le BDNF dans le cortex moteur de rats soumis à une compression médullaire thoracique, ce qui semblait être corrélé aux récupérations fonctionnelles observées (Ilha et al., 2019). En effet, l'entrainement physique permet une régulation positive de nombreux facteurs de croissance impliqués dans les phénomènes de plasticité cérébrale, dont le BDNF, qui est associé à la survie cellulaire, à l'excitabilité neuronale, à la plasticité synaptique et à la régénérescence axonale dans le SNC (Y. Li et al., 2022). Lors d'un entrainement, le BDNF est régulé à travers l'activation de la voie de signalisation « PGC1α-FNDC5-irisin ». La protéine coactivatrice gamma 1-α (PGC1α) produite localement par le muscle durant l'exercice stimule l'expression et le clivage de la protéine membranaire 5 contenant le domaine de la fibronectine de type III (FNDC5) qui est sécrété dans le sang sous le nom d'irisine. Cette myokine traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) et régule positivement le niveau de BDNF dans le cerveau.

Au niveau médullaire, l'entrainement physique renforce les connexions synaptiques épargnées et nouvellement régénérées, et réactive les réseaux spinaux sous-lésionnels. Ce phénomène induit des adaptations neuromusculaires bénéfiques qui permettent de rééduquer le SNC à récupérer des activités motrices spécifiques à une tâche, via la stimulation des CPG (Behrman & Harkema, 2007). Enfin, l'entrainement physique induit des changements dans le microenvironnement de la lésion, ce qui permet de réduire l'inflammation, d'augmenter l'angiogenèse, de favoriser la régénérescence axonale des réseaux locaux et des axones descendants épargnés et de faciliter la néosynaptogénèse. L'ensemble de ces phénomène conduisent à une amélioration de la fonction motrice (Bilchak et al., 2021 ; Molteni et al., 2004 ; T. Sun et al., 2013). En effets, il a été rapporté que l'entrainement physique diminue la sécrétion locale des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α et favorise la libération des cytokines anti-inflammatoires IL-4 et IL-10 (Walsh et al., 2023). De plus, une étude récente a montré que l'entrainement physique augmente l'expression des facteurs de croissance BDNF et GDNF et de leurs récepteurs respectifs TrkB et Gfrα au niveau lésionnel, chez des rats ayant reçu une compression médullaire thoracique par rapport à un groupe de rats lésés mais non entrainés (Kiss Bimbova et al., 2022). Ces deux facteurs modulent l'activation de 3 voies de signalisa-

tion : la voie PI3K/Akt/mTOR, la voie PLCγ/PKC et la voie Ras/Raf/ERK1/2, impliquées dans l'ensemble de ces phénomènes après une LME. Les auteurs ont ainsi pu constater une amélioration de la survie cellulaire, une augmentation de la régénérescence axonale et une diminution de l'inflammation endogène, tous dépendants des facteurs BDNF et GDNF induits par l'entrainement, qui ont permis une amélioration des récupérations sensorimotrices chez les rats lésés et entrainés. Dans leur étude, les auteurs ont également mis en évidence le rôle des astrocytes dans l'augmentation de l'expression du BDNF et du GDNF pendant l'entrainement physique. Par ailleurs, les LME perturbent l'excitabilité neuronale, notamment par la régulation négative de l'expression du cotransporteur potassium-chlorure (KCC2) à la membrane des motoneurones. En condition physiologique, le KCC2 régule l'homéostasie des ions chlorures afin de maintenir l'inhibition neuronale et donc d'éviter l'hyperexcitabilité neuronale. Suite à une LME, la régulation négative de KCC2 induit une augmentation de la dépolarisation des motoneurones et entraine des phénomènes de spasticité et d'allodynie (Boulenguez et al., 2010 ; Cramer et al., 2008). Cependant, Tashiro et al. ont mis en évidence que le BDNF induit par l'entrainement physique après une LME induit une régulation positive de KCC2 et contribue à la suppression de la spasticité et de l'allodynie (Tashiro et al., 2015).

Il existe plusieurs méthodes d'entrainement qui sont généralement adaptées aux besoins spécifiques du patient, en fonction de la sévérité de la lésion, des capacités physiques et des objectifs de récupération (Battistuzzo et al., 2012 ; Burns et al., 2017 ; Hicks, 2021 ; Hillen et al., 2013). Aujourd'hui, l'entrainement sur tapis roulant a déjà montré de nombreux effets bénéfiques chez les modèles animaux de LME comme le chat (Martinez et al., 2012, 2013 ; Rossignol et al., 2015) et le rongeur (Battistuzzo et al., 2012 ; de Leon & Dy, 2017 ; Leblond et al., 2003 ; Martinez et al., 2013 ; Sandrow-Feinberg et al., 2009). Cette méthode d'entrainement, et plus particulièrement l'entrainement sur tapis roulant avec support de poids corporel (BWSTT), constitue la méthode la plus couramment utilisée en pratique clinique (Wernig et al., 2000). Elle permet la répétition intensive des mouvements locomoteurs, entraînant des changements neurologiques positifs. De plus, la sensation de marcher peut stimuler les récepteurs sensoriels des membres inférieurs, contribuant ainsi à

améliorer la proprioception (Wernig et al., 2000). Des études ont montré que le BWSTT peut restaurer le contrôle de la vessie et des intestins, améliorer considérablement les schémas d'activation musculaire et permettre une réorganisation du tractus corticospinal chez les personnes blessées, se traduisant par une amélioration de l'activité locomotrice (Anwer et al., 2014 ; Harkema et al., 2012 ; Knikou, 2012 ; Morrison et al., 2018 ; Protas et al., 2001 ; Wernig et al., 1998 ; Wernig et al., 2000). De plus, cette méthode semble être plus efficace lorsqu'elle est appliquée rapidement après des LME, lors de la phase subaigüe plutôt que lors de LME chroniques (Zieriacks et al., 2021). Cependant, chez l'Homme comme chez l'animal, les résultats fonctionnels peuvent varier en fonction du type ou de la durée de l'activité exercée après une blessure, ainsi que par le remodelage structurel ou la plasticité fonctionnelle des circuits épargnés (Alluin et al., 2011 ; Burns et al., 2017 ; Fouad et al., 2021). Ainsi, trouver le protocole d'entrainement sur tapis roulant le plus adapté au modèle d'étude ou aux patients est crucial pour optimiser les récupérations fonctionnelles après une LME (Loy & Bareyre, 2019). En recherche préclinique, le rongeur constitue un modèle adéquat pour étudier les effets de l'entrainement après une LME. En effet, il est peu couteux, facile à mettre en œuvre, et l'entrainement sur tapis roulant après une LME incomplète entraine une augmentation significative de la plasticité neuronale et des récupérations fonctionnelles. Cependant, une récupération limitée est observée dans le cas d'une LME complète, de manière similaire à la pathologie humaine (Loy & Bareyre, 2019 ; T. Sun et al., 2013). Par ailleurs, l'entrainement quadrupède sur tapis roulant permet une récupération accrue comparé à une marche bipédique (Shah et al., 2013). Des études ont également évalué les bénéfices de cet entrainement quadrupède chez des rats atteints de LME qui ont été entraînés quotidiennement pendant 20 $\pm$ 10 minutes, 5 jours par semaine, durant 10 semaines, à des vitesses variant de 3 à 26 m/min, en fonction de la tolérance des animaux (T. Sun et al., 2013). Les rats entraînés ont présenté une augmentation notable de la plasticité neuronale et des récupérations fonctionnelles au cours des premières semaines suivant le début de l'entrainement. Marques et al. ont également montré que l'entrainement différé, à partir du 14ème jour après la lésion, était la fenêtre thérapeutique optimale, conduisant à la préservation des motoneurones et à

l'amélioration de l'activité fonctionnelle, contrastant avec un entrainement précoce, qui peut être délétère (Marques et al., 2018). En effet, comme mentionné dans une précédente section, les premiers jours suivant la lésion sont caractérisés par une réponse immunitaire intense médiée par le recrutement des macrophages impliqués dans la phagocytose et la libération de cytokines pro-inflammatoires, telles que IL-1β, TNF-α et IL-6 au sein du tissu lésé (Hellenbrand et al., 2021). L'entrainement physique, en tant que stimulus pro-inflammatoire, provoque une libération transitoire de ces mêmes cytokines au niveau plasmatique (Bernecker et al., 2013). Ainsi, s'il est combiné à une période de libération accrue de facteurs pro-inflammatoires dans le tissu lésé, l'entrainement peut aggraver le processus de lésion tissulaire (Risedal et al., 1999), en potentialisant le recrutement des macrophages, qui augmenteraient alors la réponse inflammatoire intra-lésionnelle (Marques et al., 2018). En revanche, au cours de la deuxième semaine suivant la LME, des cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL-10 et le facteur de croissance tumoral β (TGF-β) sont libérées dans le tissu lésé, favorisant la repousse axonale et à la remyélinisation des axones, qui est facilitée par la maturation des CPO (Hellenbrand et al., 2021). À ce stade, l'entrainement pourrait favoriser le recrutement de macrophages anti-inflammatoires de type M2 (Callegari et al., 2023) entrainant une clairance accrue des cytokines pro-inflammatoires (Suzuki et al., 2002) et la libération du BDNF par les muscles exercés et les motoneurones de la corne ventrale de la moelle épinière (Gómez-Pinilla et al., 2001 ; Marques et al., 2018). Par ailleurs, l'entrainement physique stimule l'angiogenèse locale et systémique, conduisant à un plus grand apport d'oxygène et nutriments nécessaires à la réparation tissulaire (Callegari et al., 2023).

Ainsi, grâce à ses effets immunomodulateurs, neuroprotecteurs et sa capacité à restaurer l'intégrité fonctionnelle des circuits neuronaux après une lésion, l'entrainement physique représente une stratégie thérapeutique prometteuse pour les personnes atteintes de LME.

2.2.9.2.2 Thérapies combinées

Plusieurs études précliniques ont exploré la combinaison de l'entrainement sur tapis roulant avec d'autres approches thérapeutiques, telles que la pharmacologie, l'administration

de facteurs neurotrophiques ou la neurostimulation (Asboth et al., 2018 ; Hou et al., 2020 ; Y. Ryu et al., 2018 ; X. Xu et al., 2023). Ces combinaisons d'interventions visent à exploiter des synergies potentielles entre l'entrainement physique et d'autres modalités thérapeutiques afin d'optimiser les résultats à la suite d'une LME. Bonnet et al. ont évalué l'impact de la combinaison de l'injection d'hydrogel avec le protocole d'entrainement sur tapis roulant mentionné précédemment (Rossignol et al., 2015 ; T. Sun et al., 2013) sur des rats présentant une contusion thoracique sévère (Bonnet, Alluin et al., 2020). Les auteurs ont démontré que l'entrainement potentialisait les effets positifs de l'hydrogel sur les améliorations sensorimotrices des animaux. Cette thérapie combinée a également favorisé la réactivation des circuits spinaux locaux ainsi qu'une restauration des communications entre les voies sus- et sous-lésionnelles. Dans la recherche clinique, l'utilisation de thérapies combinées pour les LME, qui associent l'entrainement physique à une autre approche thérapeutique, peut constituer une approche prometteuse. Actuellement, l'approche clinique la plus utilisée est la combinaison de l'entrainement et de la neurostimulation. Simis et al. ont démontré que la locomotion peut être améliorée de manière significative par la combinaison de la stimulation magnétique transcrânienne et de l'entrainement robotique (Simis et al., 2021). Par ailleurs, Rowald et al. ont rapporté qu'une combinaison d'entrainement et de stimulation électrique épidurale de la moelle épinière a permis à trois patients atteints de LME de se tenir debout, de marcher, de faire du vélo, de nager et de contrôler les mouvements du tronc (Rowald et al., 2022). Cependant, il y a encore un manque d'essais cliniques testant la thérapie combinée utilisant l'entrainement et d'autres approches, telles que les méthodes pharmacologiques et neurotrophiques. Selon le site « clinicaltrial.gov », seulement 7 essais cliniques seraient en cours pour évaluer les effets thérapeutiques de plusieurs molécules, telles que la lidocaïne, la dalfampridine, l'acide ursolique, la D-cycloserine, l'undécanoate de testostérone ou encore la buspirone, combinées à un entrainement physique sur la capacité aérobie, l'amélioration fonctionnelle, le métabolisme, la santé des os et le bien-être des patients atteints d'une LME.

2.2.9.2.3 Thérapies cellulaires et entrainement physique

La combinaison de thérapies cellulaires et d'un entrainement physique vise à exploiter les effets synergiques de ces deux interventions pour maximiser les récupérations fonctionnelles chez les personnes atteintes de LME. Les cellules souches peuvent fournir un environnement favorable à la réparation des tissus nerveux (Hirota et al., 2023), tandis que l'entrainement physique peut renforcer les connexions neuronales et améliorer la fonction motrice (Bilchak et al., 2021). Cependant, très peu d'études précliniques ont évalué les effets combinés de la thérapie par cellules souches et de l'entrainement sur tapis roulant, quelle que soit la chronicité de la LME (Tashiro et al., 2021). Certaines études ont tout de même pu mettre en évidence la potentialisation des effets bénéfiques de thérapies cellulaires par l'entrainement quadrupède sur tapis roulant chez des rongeurs présentant des LME. En effet, il a été démontré que la survie et la différenciation des cellules greffées après une LME cervicale chez le rat peuvent être augmentées en combinant la transplantation de CSN avec un entrainement sur tapis roulant. De plus, le traitement combiné a favorisé la myélinisation, l'épargne tissulaire et la repousse des voies axonales descendantes, entraînant une amélioration significative des récupérations fonctionnelles des animaux quelques semaines après la LME (Hwang et al., 2014 ; Younsi et al., 2020). Par ailleurs, les effets de la combinaison de la transplantation de CSM dévirées de la moelle osseuse (BMSC) et d'un entrainement sur tapis roulant ont été étudiés dans un modèle murin de LME (Y.-M. Kim et al., 2018 ; Massoto et al., 2020 ; X. Sun et al., 2023). Ces études ont démontré que cette thérapie combinée augmente la myélinisation, l'épargne tissulaire via la réduction de l'apoptose, et favorise la régénérescence axonale et la synaptogenèse, entrainant une amélioration des récupérations locomotrices chez les rongeurs présentant une LME (Y.-M. Kim et al., 2018 ; Massoto et al., 2020 ; X. Sun et al., 2023). L'ensemble de ces phénomènes seraient liés à l'action synergique de la greffe de cellules souches et de l'entrainement sur tapis roulant à favoriser l'expression endogène de facteurs neurotrophiques tels que le facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF-1), le BDNF et la neurotrophine-3 (NT-3) (Hwang et al., 2014) qui modulent les voies de signalisation telles que PI3K/Akt/mTOR et Ras/Raf/ERK1/2 impliquées dans l'apoptose, la

survie cellulaire, la croissance axonale et la synaptogénèse lors d'un entrainement physique (Côté et al., 2011 ; Gómez-Pinilla et al., 2001 ; S.-Y. Jung et al., 2014 ; J.-C. Kim & Lim, 2018 ; X. Sun et al., 2023 ; Ying et al., 2005). Par ailleurs, Sun et al. ont pu mettre en évidence une diminution de l'infiltration de cellules inflammatoires au site lésionnel des souris présentant une contusion médullaire thoracique et qui ont reçu la thérapie combinant les BMSC et l'entrainement sur tapis roulant (X. Sun et al., 2023).

Bien que la recherche préclinique portant sur ces thérapies combinées alliant entrainement physique et cellules souches dans les LME montrent des résultats encourageants, les études cliniques sont encore rares et se concentrent davantage sur l'évaluation de la faisabilité et de la sécurité de la thérapie combinée plutôt que sur son efficacité (K. D. Anderson et al., 2017 ; Gant et al., 2022). De plus, bien que la transplantation autologue de BMSC combinée à une réhabilitation ait montré des améliorations partielles des fonctions sensorielles et nerveuses autonomes chez des patients présentant une LME aigüe, aucune récupération de la fonction motrice n'a été observée (W. Chen et al., 2020). Ainsi, des recherches supplémentaires, notamment des études cliniques axées sur l'efficacité de ces thérapies combinées,

2.3 Le tissu adipeux

2.3.1 Composition du tissu adipeux

2.3.1.1 Différents types de tissus adipeux, organisation anatomique et fonctionnelle

Le tissu adipeux (TA) est un tissu conjonctif spécialisé largement présent chez les mammifères et qui constitue la principale réserve énergétique de l'organisme. Il assure le stockage de l'énergie excédentaire au niveau des adipocytes, qui emmagasinent cette énergie sous forme de molécules lipidiques appelées « triglycérides ». En réponse aux besoins nutritionnels et métaboliques systémiques, ces cellules adipeuses sont capables de se dilater pour stocker davantage de graisse en cas d'apports énergétiques excessifs ou se condenser pour se vider lorsqu'il y a un besoin accru d'énergie. De plus, ce tissu peut se diviser très facilement, formant des « grappes » afin d'augmenter les capacités de stockage, conférant ainsi au TA une plasticité remarquable (Sakers et al., 2022). Il existe plusieurs types de TA, chacun ayant des caractéristiques spécifiques et des fonctions distinctes. Les principaux types de TA comprennent les TA brun et beige et le TA blanc.

2.3.1.1.1 Tissus adipeux brun et beige

Les TA brun et beige constituent une faible proportion du TA total. Le terme « brun » est lié à la forte concentration cellulaire en mitochondries, donnant aux adipocytes une couleur brunâtre. Le TA beige est une forme intermédiaire entre le TA blanc et le TA brun, résultant du brunissement des adipocytes blancs en réponse à une exposition au froid (Nedergaard & Cannon, 2014 ; Sakers et al., 2022). Ces deux types de TA ont un rôle majeur dans la thermorégulation corporelle, notamment grâce à la présence dans les adipocytes bruns de la protéine de découplage 1 (UCP-1), qui lors de son activation, permet la libération de l'énergie sous forme de chaleur (Cannon & Nedergaard, 2004). Chez l'Homme le TA brun se développe dans la région interscapulaire avant la naissance, puis régresse progressivement et disparait à l'âge adulte. Cependant, des dépôts de TA brun persistent chez l'adulte dans des zones localisées dans les régions paravertébrales et cervicales, le long de la trachée et

des vaisseaux sanguins, ainsi que dans les zones périnéales (Cannon et al., 2020). Chez le rongeur, le TA brun se développe également avant la naissance et perdure tout au long de la vie de l'animal. Il est principalement situé dans la région interscapulaire, avec des dépôts supplémentaires dans les régions cervicales, axillaires, périvasculaires et périrénales (Zhang et al., 2018) (Figure 17).

2.3.1.1.2 Tissu adipeux blanc

Le TA blanc joue plusieurs rôles essentiels dans l'organisme. Au-delà de sa fonction dans le métabolisme des lipides, il constitue un isolant thermique qui aide à réguler la température corporelle en protégeant contre les variations de température externes. Il constitue également la forme la plus abondante du TA, qui assure une protection physique contre les chocs et les traumatismes (Zwick et al., 2018). Il est distribué dans tout l'organisme en plusieurs dépôts distincts, notamment au niveau viscéral et sous-cutané. Chez l'Homme, la graisse viscérale est localisée dans la cavité péritonéale, correspondant aux dépôts omental et mésentérique. Le TA blanc sous-cutané se trouve sous la peau et représente environ 80% de la masse graisseuse totale chez l'Homme et va être située principalement au niveau de l'abdomen, de la région fémorale et des fessiers (Sakers et al., 2022), en particulier chez les femmes, alors que les hommes présentent plus de graisse viscérale (Boulet et al., 2022). Chez les rongeurs, la distribution anatomique du TA blanc est similaire à celle de l'Homme (Figure 17). Cependant, les rongeurs ont un TA blanc péri-gonadique (ou épididymaire chez les mâles et péri-ovarien chez les femelles) très développé, qui est pratiquement inexistant chez l'Homme (Börgeson et al., 2022). En raison de sa localisation abdominale, il est considéré comme le pendant du TA blanc viscéral chez l'Homme et est souvent appelé à tort graisse viscérale dans les études portant sur les rongeurs. Cependant, les deux ont des fonctions différentes. Chez l'Homme, le TA blanc viscéral a une fonction immunomodulatrice qui est essentielle pour contrôler les infections anatomiques et isoler les plaies, en plus de sa fonction de stockage des lipides (Di Nicola, 2019). Chez les rongeurs, le TA blanc péri-gonadique, situé autour des organes sexuels, joue un rôle protecteur en plus de métaboliser les graisses (Börgeson et al., 2022).

Comme nos études ne portent que sur le TA blanc, nous nous concentrerons exclusivement sur celui-ci. Dorénavant, l'acronyme TA désignera le TA blanc.

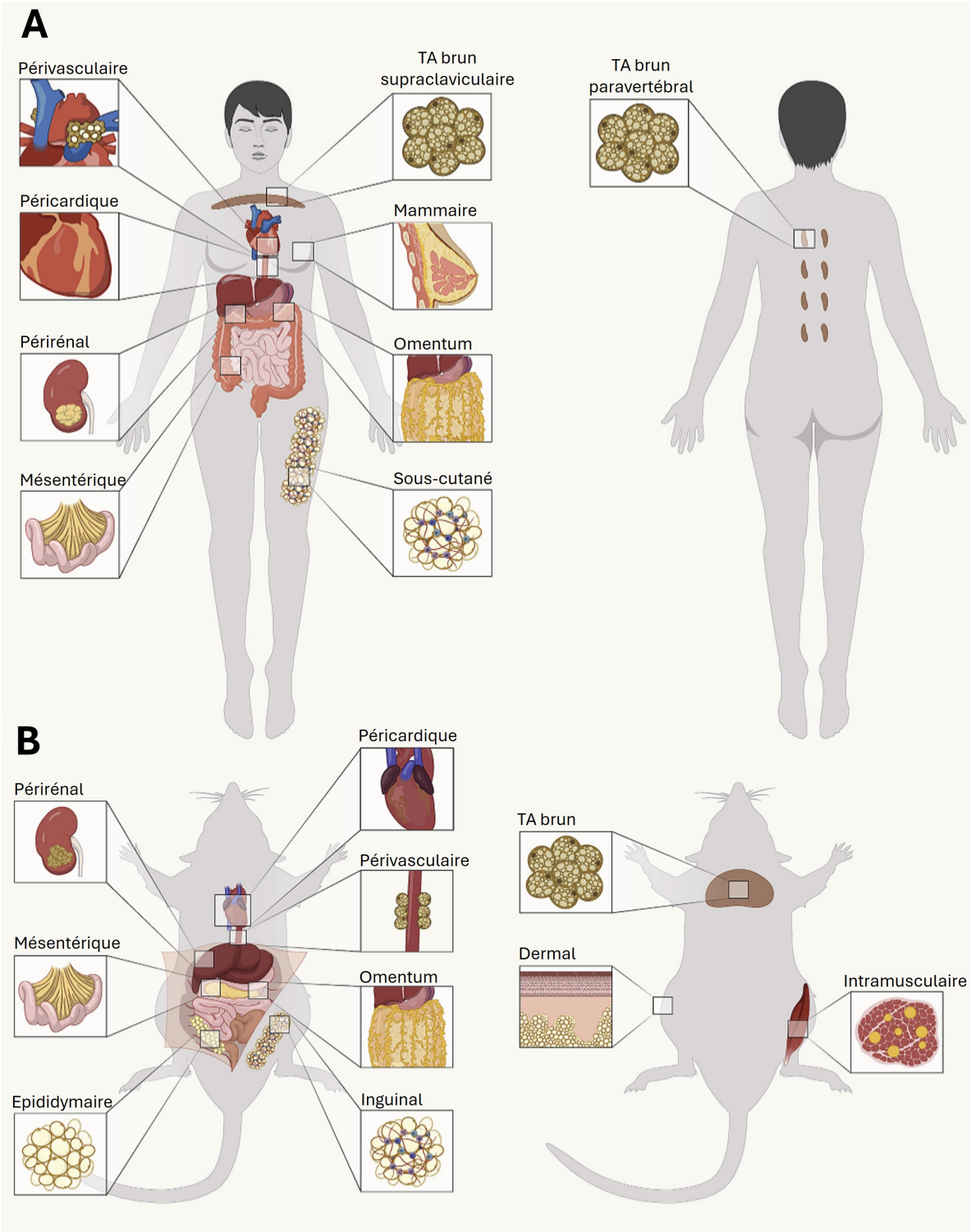


FIGURE 17 – **Localisation des principaux dépôts de tissu adipeux chez l'Homme (A) et le rongeur (B).** (Adaptée de SAKERS et al., 2022).

2.3.1.2 Composition cellulaire du tissu adipeux : la fraction vasculaire stromale

Le TA est un ensemble de cellules qui agissent en synergie et qui sont impliquées dans de nombreuses fonctions métaboliques, telles que la régulation du métabolisme énergétique, les processus inflammatoires ou encore dans l'immunité. Le TA est principalement composé d'adipocytes matures, entourés de tissu conjonctif lâche hautement vascularisé et innervé. Les populations cellulaires restantes forment un ensemble cellulaire appelé la fraction vasculaire stromale (FVS) (Figure 18). Parmi ces cellules, on retrouve des pré-adipocytes, des fibroblastes, des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux (CSA), des cellules progénitrices endothéliales (CPE), des péricytes, des macrophages et des lymphocytes (Alexander, 2012). La *Fédération internationale pour la thérapeutique et la science adipeuses (IFATS) et la Société internationale pour la thérapie cellulaire* (ISCT) ont quantifié les différentes sous-populations cellulaires de la FVS humaine. Ainsi, elle est composée de 15 à 30% de CSA, 10 à 20% de CPE et de cellules endothéliales, de cellules hématopoïétiques, dont 5 à 15% de macrophages, 10 à 15% de lymphocytes, 10 à 15% de neutrophiles, et 3 à 5% de péricytes (Bourin et al., 2013). Par ailleurs, une étude récente a démontré que la composition cellulaire restait homogène quel que soit le genre et le site anatomique d'échantillonnage (Tauer et al., 2022). Des études menées chez le rat ont également identifié les mêmes sous-populations cellulaires au sein de la FVS (Ramakrishnan & Boyd, 2018 ; D. You et al., 2015). Cependant, la proportion de ces cellules varie en fonction de la méthode d'isolement FVS, qu'il s'agisse d'humains ou d'animaux (Aronowitz et al., 2015).

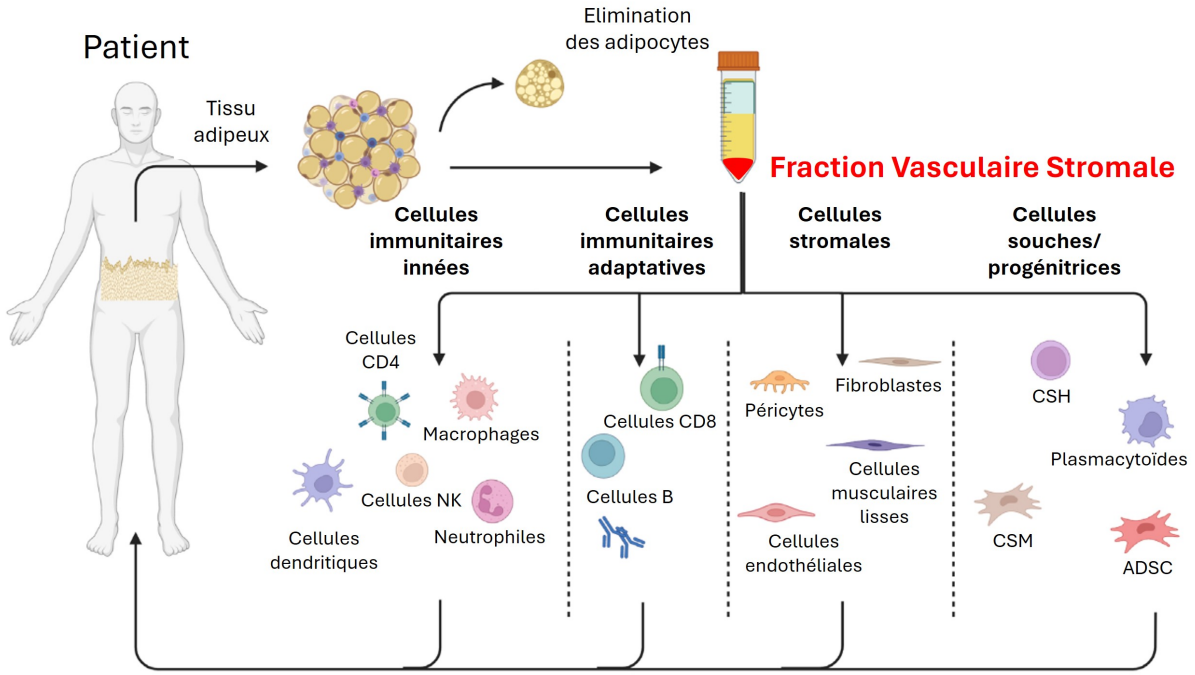


FIGURE 18 – **Composition de la fraction vasculaire stromale dérivée du tissu adipeux.** *CSH = Cellules souches hématopoïétiques, CSM = Cellules souches mésenchymateuses, CSA = Cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux.* (Adaptée de AL-KHARBOOSH et al., 2022).

2.3.1.2.1 Cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux

Les CSA ont été découvertes en 2001 par Zuk et al. qu'ils décrivent comme semblables aux BMSC (ZUK et al., 2001). Ces deux populations cellulaires partagent en effet de nombreuses caractéristiques, telles qu'une capacité accrue d'auto-renouvellement, une viabilité à long terme et un potentiel de différenciation multipotente qui leur permettent de se différencier en plusieurs types cellulaires (ZUK et al., 2002). Cependant les CSA sont présentes en plus large quantité dans le TA que les BMSC dans la moelle osseuse et y sont accessibles facilement et rapidement par le biais d'une simple lipoaspiration, contrairement aux BMSC qui nécessitent une ponction très invasive de la moelle osseuse (STREM et al., 2005). En plus de leur multipotence, les CSA possèdent une propriété de communication paracrine conférant au TA des capacités immunomodulatrices, anti-apoptotiques, angiogéniques, anti-fibrotiques et chimioattractives. Cette communication paracrine s'exprime au travers de la sécrétion de nombreux médiateurs libres ou encapsulés dans des vésicules extra-cellulaires qui forment ensemble « le sécrétome » des CSA pouvant constituer une source thérapeutique d'intérêt (TRZYNA & BANAŚ-ZĄBCZYK, 2021). L'ensemble des facteurs sécrétés par les CSA et leurs mécanismes d'action sont résumés

dans la Figure 19. Cependant, les propriétés métaboliques des CSA vont dépendre de leur origine ainsi que de l'âge, du poids et de l'état pathologique ou sain du donneur. En effet, le type de TA et la zone de prélèvement affectent la prolifération, la fonction endocrinienne, l'expression des gènes, les antigènes de surface et les potentiels de différenciation des CSA (Prunet-Marcassus et al., 2006 ; Tsekouras et al., 2017). Par ailleurs, un âge avancé affecte négativement la capacité d'auto-renouvellement et de différentiation des CSA, qui présentent également une capacité sécrétoire diminuée. Il en est de même pour les CSA isolées de personnes souffrant de maladie inflammatoire chronique telle que l'obésité. De plus, le diabètes, l'hypercholestérolémie, l'hypertension et le tabagisme ont également des effets négatifs sur la pluripotence et l'auto-renouvellement des CSA isolées. En revanche, le genre ne semble pas influencer les propriétés métaboliques des CSA (Trzyna & Banaś-Ząbczyk, 2021).

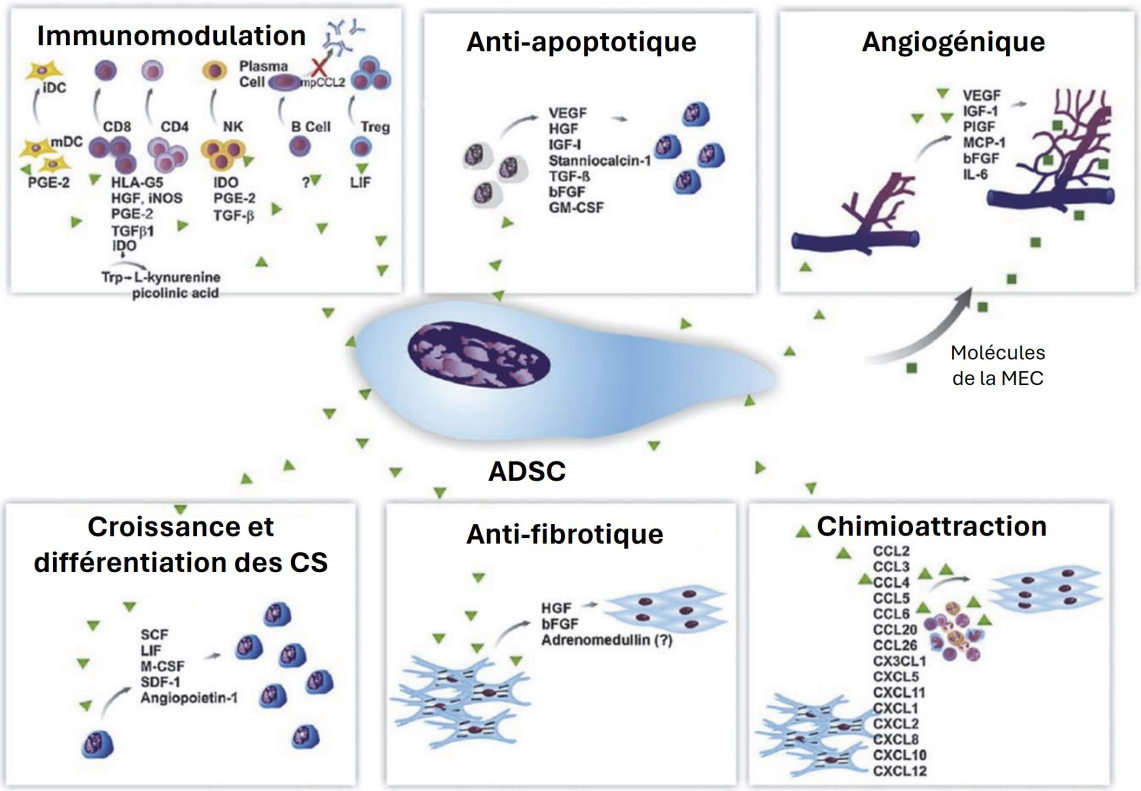


Figure 19 – **Effet paracrine des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux.** Les CSA sont capables de sécréter de nombreux facteurs qui lui confèrent des propriétés immunomodulatrices, anti-apoptotiques, angiogéniques, régénératives, anti-fibrotiques et qui libèrent des chimiokines impliquées dans le recrutement des leucocytes vers le site lésé. Cette communication paracrine est considérée comme le principal mécanisme par lequel les CSA obtiennent leur effet thérapeutique. *CSA = cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux, CS = Cellules souches, MEC = Matrice extra-cellulaire.* (Adaptée de da Silva Meirelles et al., 2009).

2.3.1.2.2 Cellules progénitrices endothéliales

Les CPE ont été identifiées pour la première fois dans la circulation périphérique adulte (Asahara et al., 1997), puis ont ensuite été mises en évidence dans la moelle osseuse et le sang du cordon ombilical (Bompais et al., 2004 ; Ingram et al., 2004) et plus tardivement dans la FVS (Van Pham et al., 2016). Les CPE se divisent en deux sous-populations cellulaires possédant des origines et des fonctions bien distinctes (Medina et al., 2017). Tout d'abord, les CPE myéloïdes sont issues de la lignée hématopoïétique et sont qualifiées de progéniteurs « précoces » en raison de leur moment d'apparition en culture. Ces cellules possèdent une capacité de prolifération limitée et ne se différencient pas en des cellules endothéliales, mais favorisent l'angiogenèse à travers une communication paracrine. On distingue également les CPE dites « tardives », appelées « cellules endothéliales formant des colonies » en raison de leur capacité à former des colonies *in vitro*. Ces cellules ont une origine vasculaire. Elles possèdent un potentiel de prolifération élevé et peuvent se différencier en cellules endothéliales formant la paroi de nouveaux vaisseaux sanguins fonctionnels. Elles communiquent de manière paracrine via la sécrétion du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) et de cytokines angiogéniques telles que l'IL-8 et l'IL-1β, et de manière autocrine, à travers l'expression de son récepteur le VEGF-R, qui leur permet d'auto-réguler leur différenciation en cellules endothéliales matures (Ma et al., 2015 ; Medina et al., 2017 ; Melero-Martin, 2022). Le VEGF module l'activation de la voie Ras/MAPK impliquée dans la prolifération cellulaire et l'expression des gènes (Cross & Claesson-Welsh, 2001). Pour l'ensemble de ces deux populations de CPE, leur fonction angiogénique s'observe à la fois dans des processus physiologiques, mais également dans des contextes pathologiques (Wakabayashi et al., 2018). Cependant, une distinction claire entre ces deux sous-populations cellulaires est souvent absente dans les articles publiés, entraînant une confusion quant à leurs mécanismes d'action (Medina et al., 2017). Jusqu'à présent, en raison de l'absence de marqueur de surface discriminant (Brown et al., 2019), les études sur la fonction d'angiogenèse des CPE dans le TA ne différencient pas ces deux sous-populations, attribuant plutôt l'ensemble de ces effets aux CPE de manière générale (Corvera et al., 2022 ; Herold & Kalucka, 2021 ; Saito et al., 2022).

En plus de leur fonction angiogénique, les CPE issues de la FVS jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie et dans la régénérescence tissulaire après des blessures locales. En effet, elles sécrètent des facteurs trophiques tels que la neuréguline-1 (NRG1) qui régule positivement la voie PI3K/Akt/mTOR impliquée dans l'apoptose et la prolifération cellulaire (Hong et al., 2021). Elles sécrètent également le VEGF et le facteur de croissance fibroblastique (FGF) qui modulent la prolifération, la migration et la survie des cellules endothéliales matures qui vont être essentielles pour la revascularisation tissulaire, favorisant l'apport en oxygène et en nutriments. De plus, la formation de nouveaux vaisseaux par les CPE serait également influencée par la voie de signalisation Wnt, et en particulier Wnt5a (Ramakrishnan et al., 2016). Par ailleurs, les CPE libèrent également des protéines neurotrophiques, telles que le BDNF et le facteur inhibiteur de la leucémie, qui interviennent dans l'interaction dynamique entre l'endothélium vasculaire et le tissu neuronal (Ma et al., 2015). De plus, *in vitro*, les CPE favorisent la prolifération de neurones immatures dans les cultures de neurones corticaux (Santo et al., 2020).

Bien que les CPE possèdent de nombreuses qualités au sein de la FVS, il existe une coopération entre l'ensemble des sous-populations cellulaires de la FVS qui participent à la maturation du système vasculaire en un réseau vasculaire fonctionnel au sein du TA (Bora & Majumdar, 2017).

Les synergies d'actions intercellulaires s'établissant au sein de la FVS seront abordées dans une prochaine section (voir section 2.3.2).

2.3.1.2.3 Cellules d'origine hématopoïétique

La FVS contient également une proportion significative de cellules leucocytaires possédant des fonctions immunomodulatrices, qui peuvent être classées en cellules immunitaires innées et adaptatives. Les cellules immunitaires innées comprennent les macrophages et les neutrophiles, alors que les cellules immunitaires adaptatives comprennent divers sous-types de lymphocytes T (Figure 18).

Les macrophages sont issus des monocytes et constituent les cellules leucocytaires les plus représentées dans la FVS. Ils appartiennent à une lignée cellulaire présentant une forte plasticité et hétérogénéité et peuvent être polarisés en différents phénotypes en fonction du microenvironnement ou de divers stimuli. On distingue d'abord les macrophages de type M1 qui vont être définis comme pro-inflammatoires en raison de leur capacité à engendrer la réponse inflammatoire à travers la sécrétion de cytokines, telles que l'IL-1β, l'IL-6 et le TNF-α. Ensuite, le phénotype de macrophages M2 est dit anti-inflammatoire de par sa capacité à sécréter des cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL-10, l'IL-4 et le TGF-β et pro-angiogéniques, dont le VEGF et le FGF (Murray et al., 2014). La proportion de macrophages dans la FVS en condition physiologique n'est qu'environ de 10%, mais elle peut atteindre 50% chez les personnes atteintes d'obésité (Weisberg et al., 2003). En condition physiologique, les macrophages M2 de la FVS favorisent la clairance des adipocytes morts par exocytose lysosomale, augmentent les taux d'UCP-1 dans les adipocytes et favorisent leur brunissement. De plus, ces macrophages interagissent avec les adipocytes pour maintenir le métabolisme énergétique, la glycolyse et les interactions avec le système nerveux. En revanche, en cas d'obésité, qui se caractérise par une augmentation de la lipotoxicité, de l'hypoxie ou encore du stress oxydatif dans le microenvironnement du TA, les macrophages subissent un changement vers un phénotype M1, qui vont jouer un rôle essentiel dans l'initiation et le maintien de l'inflammation du TA (Y. Li et al., 2020). Par ailleurs il a également été montré que les macrophages résidents jouent un rôle important dans la formation et le maintien de l'intégrité du réseau vasculaire au sein de la FVS (Ramakrishnan & Boyd, 2018).

Les neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants dans le système immunitaire et sont rapidement recrutés dans les sites d'inflammation aigües. Dans le TA, une inflammation chronique, comme celle engendrée par l'obésité, induit la sécrétion de l'IL-8 par les adipocytes, qui médie le recrutement des neutrophiles. Une fois dans le tissu, les neutrophiles recrutent davantage de neutrophiles circulant via la libération dans le sang du ligand de chimiokine à motif CXC2. Une fois activés, les neutrophiles sécrètent les cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-1β, favorisation l'activation des macrophages, exacerbant la réponse inflammatoire dans

le TA. De plus, la leptine, via son récepteur, régule positivement le taux de neutrophiles via l'activation de la voie de signalisation médiée par la protéine NF-κB, entraînant l'inhibition de l'apoptose des neutrophiles (Uribe-Querol & Rosales, 2022).

La FVS comporte également des populations de cellules lymphocytaires majoritairement représentées par les lymphocytes T innés appelés « natural killer » (NTK) et les lymphocytes TCD4 et TCD8. Les NTK régulent les réponses immunitaires innées et adaptatives. Contrairement à la majorité des cellules immunitaires qui sont activées par des antigènes peptidiques, une sous-population de NTK, appelée NTK invariante (NTKi), est sensible à la variation des taux intra-tissulaires d'antigènes lipidiques, dont l'α-galactosylcéramide, présents dans le TA. Une fois activées, les NTKi produisent des cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL-4 et l'IL-10, et régulent la fonction des macrophages M2 et des lymphocytes T régulatrices (Treg), qui contribuent au maintien de l'homéostasie du TA (J. Park et al., 2018). La FVS contient également des lymphocytes TCD4 naïfs qui se différencient en plusieurs sous-populations de lymphocytes T auxiliaires (Th), telles que les lymphocytes Th1 et Th17 qui régulent les réponses pro-inflammatoires, et les lymphocytes Th2 et Treg qui contribuent aux réponses anti-inflammatoires. Enfin, la FVS possède des lymphocytes TCD8 qui sécrètent cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6 et le TNF-α qui favorisent la différenciation des monocytes en macrophages dans le TA (Huh et al., 2014). Par ailleurs, il a également été décrit que les adipocytes seraient des cellules présentatrices d'antigènes pour les lymphocytes T et réguleraient l'activation et la prolifération des cellules immunitaires adipeuses (Huh et al., 2014).

La plupart des effets immunomodulateurs des cellules immunitaires au sein du TA sont régis par des interactions entre les différentes sous populations cellulaires de la FVS. Les synergies d'actions immunomodulatrices entre ces sous-populations seront abordées dans une prochaine section (voir section 2.3.2.2).

2.3.1.2.4 Péricytes

Les péricytes se situent autour des parois des petits vaisseaux sanguins, en particulier des capillaires et des microvaisseaux. Il existe une grande variété de péricytes qui diffèrent

en fonction de leur localisation tissulaire, de leur état développemental ainsi que du type de vaisseaux sanguin qu'ils entourent. Au sein du TA, ils participent au maintien de l'intégrité vasculaire en sécrétant notamment des protéines de la MEC, principalement du collagène IV et de la glycoprotéine laminine. De plus, les péricytes augmentent la cohésion et la communication inter-cellulaire du fait de leur enroulement autour des cellules endothéliales (Picoli et al., 2024). Ces cellules participent également aux processus d'angiogenèse en initiant la prolifération des cellules endothéliales. En effet, les cellules endothéliales sécrètent le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF-β) qui se lie à son récepteur bêta du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR-β) présent à la surface des péricytes, qui une fois activés modulent l'angiogenèse en favorisant le recrutement et l'adhésion des péricytes aux cellules endothéliales. Les péricytes expriment également l'angiotensine-1 et le VEGF qui jouent un rôle essentiel dans la formation de nouveaux vaisseaux (Manocha et al., 2022). Par ailleurs, les péricytes jouent également un rôle dans le maintien du flux sanguin en modulant la contractilité des vaisseaux à l'instar des cellules musculaires lisses, via l'expression de la protéine α-actine musculaire lisse. Enfin, comme les CSA, les péricytes possèdent une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation multipotente, à travers l'action autocrine du FGF (Picoli et al., 2024).

2.3.2 Propriétés physiologiques et mécanismes d'action de la fraction vasculaire stromale

A travers leur communication paracrine, l'ensemble des sous-populations cellulaires de la FVS agissent en synergie et influencent divers processus physiologiques, tels que la régénérescence, l'immunomodulation et l'angiogenèse. Ces phénomènes contribuent au maintien de l'intégrité du TA et de l'homéostasie métabolique.

2.3.2.1 Propriétés régénératives

Les propriétés régénératives du TA sont en grande partie liées aux CSA. Ces cellules sont abondantes dans le TA et peuvent être obtenues facilement et de manière peu invasive à partir d'une petite quantité de graisse (Dos-Anjos & Catalán, 2019). Elles peuvent être mise en culture et possèdent une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation multipotente,

ce qui leur permet de se différencier en plusieurs types cellulaires, tels que les adipocytes, les chondrocytes, les myocytes et les ostéoblastes (Miana & González, 2018). Cependant, la capacité régénératrice des FVS ne se limite pas aux CSA. Elle résulte de l'hétérogénéité de ses constituants, qui participent à de nombreux mécanismes régénératifs par le biais de la signalisation paracrine. Cette signalisation implique des interactions entre les sous-populations cellulaires de la FVS et leur environnement hôte. Ce phénomène a été démontré dans des co-cultures de cellules de la FVS avec des adipocytes (Blaber et al., 2012), ainsi que dans des co-cultures d'adipocytes, de macrophages et de CSA, induisant une production accrue de cytokines dans le milieu extracellulaire (Chazenbalk et al., 2011). Par ailleurs, la prolifération et la différentiation des cellules de la FVS sont également influées par le microenvironnement du tissu hôte (Tsuji et al., 2014). *In vitro*, les CSA sont capables de sécréter de nombreux facteurs de croissances, tels que le facteur de croissance des kératinocytes, facteur de croissance des hépatocytes (HGF) le TGF-β1, le FGF, l'EGF, le PDGF-β, le BDNF et le VEGF qui jouent un rôle crucial dans la régénérescence tissulaire, et notamment dans la cicatrisation des plaies, en favorisant la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire (Dubey et al., 2018 ; El-Habta et al., 2021 ; Tsuji et al., 2014). De plus, les CSA de la FVS expriment plusieurs types de récepteurs de facteurs de croissance et sont particulièrement sensibles aux facteurs FGF et PDGF-β respectivement sécrétés par la MEC et les plaquettes, qui lors d'une lésion tissulaire activent la prolifération et la différentiation des CSA, favorisant la régénérescence tissulaire (Tsuji et al., 2014).

Les capacités régénératives de la FVS ont été mises en évidence lors de son injection dans différents tissus de modèles animaux. Dans le TA, l'administration de FVS a permis une régénérescence tissulaire à travers la libération du facteur trophique FGF qui a stimulé la différentiation en adipocytes des CSA issues de la FVS administrée (M. Zhu et al., 2015). De plus, l'injection de FVS a amélioré la cicatrisation des brûlures en modulant notamment la prolifération cellulaire et l'activité des fibroblastes par la sécrétion des facteurs VEGF, FGF-β, PDGF-β et HGF (Atalay et al., 2014). Le traitement à la FVS influence également l'ostéogénèse et la cicatrisation osseuse dans un modèle expérimental de rat présentant des

défauts osseux zygomatiques, médiée par la sécrétion des mêmes facteurs trophiques (Sananta et al., 2022 ; Toplu et al., 2017). Par ailleurs, les péricytes de la FVS sécrètent également des facteurs de croissances et sont capables de régénérer le tissu musculaire lorsqu'ils sont injectés dans un muscle endommagé de souris (Corselli et al., 2013). Enfin, la capacité des cellules stromales à sécréter des composants de la matrice extracellulaire induit une amélioration de l'adhérence cellulaire, de la migration, de l'interaction cellule-matrice et de la régénérescence tissulaire (Choi et al., 2011).

Cependant, une régénérescence efficace nécessite de contrôler la réponse inflammatoire pour limiter le microenvironnement inhibiteur, ainsi que d'obtenir une revascularisation fonctionnelle pour fournir l'oxygène et les nutriments essentiels aux processus de régénératifs. De plus, une compréhension approfondie des interactions cellulaires de la FVS ainsi que des mécanismes moléculaires impliqués dans la régénérescence et la cicatrisation tissulaire est cruciale pour orienter le développement de thérapies efficaces chez l'Homme.

2.3.2.2 Propriétés immunomodulatrices

Le TA constitue le siège de diverses réponses inflammatoires. Les propriétés immunomodulatrices de la FVS sont principalement médiées par l'interaction de trois populations cellulaires : les CSA, les macrophages et les lymphocytes Treg (Gandolfi et al., 2023). A l'état physiologique, ces cellules interagissent entre elles et avec les autres cellules de la FVS afin de maintenir l'homéostasie tissulaire à travers des processus anti-inflammatoires. Par exemple, les lymphocytes T sécrètent l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13 qui stimulent la polarisation M2 des macrophages dans le TA sain (Huh et al., 2014). En revanche, dans un contexte pathologique tel que l'obésité, ces cellules participent à la réaction inflammatoire via la sécrétion des facteurs tels que TNF-α, l'IL-6 et l'IL-1β. Il a également été rapporté qu'en fonction de l'état physiologique ou pathologique du TA, les macrophages de la FVS influencent le devenir des CSA. En effet, le TNF-α et l'IL-1β produits par les macrophages M1 inhibent la différenciation des CSA en adipocytes et favorisent leur différentiation vers un phénotype fibrotique. A l'inverse, les macrophages M2 inhibent l'apoptose des CSA et favorisent leur survie à travers l'activation

des voies PI3K-Akt et MEK-ERK1/2 (Kloc et al., 2023). De plus, des études *in vivo* ont montré que les interactions entre les CSA et les cellules inflammatoires renforcent les capacités immunosuppressives des CSA. En effet, l'expression accrue des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interféron-γ et le TNF-α par les lymphocytes et les macrophages M1 renforce l'expression de l'enzyme immunosuppressive indoleamine 2-3 dioxygénase 1 via l'induction des lymphocytes Treg (Gandolfi et al., 2023 ; Laurans & Taleb, 2018).

L'administration de la FVS, dans certains modèles de maladies, tend à réduire la production des cytokines pro-inflammatoires. Zhu et al. ont mis en évidence l'effet de la FVS sur la régulation de l'inflammation à la suite d'une greffe de TA et son impact sur la rétention du greffon graisseux. Ces auteurs montrent que la FVS a réduit l'inflammation liée à la greffe de TA en diminuant les taux de cytokines pro-inflammatoires IL-6 et TNF-α et a favorisé la production d'IL-10. A travers ces phénomènes, la FVS a favorisé la rétention du greffon graisseux lors de la transplantation (M. Zhu et al., 2019). De manière similaire, le traitement à la FVS a diminué l'expression des ARNm myocardiques codant pour les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-α et l'IL-6, ainsi que la métalloprotéinase 1 (MMP-1) et l'inhibiteur tissulaire de la MMP-1 dans un modèle d'insuffisance cardiaque ischémique (Premaratne et al., 2011).

La FVS peut également agir sur la fibrose via leurs effets immunomodulateurs. En effet les CSA de la FVS sont capables d'induire la polarisation phénotypique des cellules immunitaires en cellules anti-inflammatoires, favorisant l'expression de l'IL-10. Cette cytokine possède des propriétés anti-fibrotiques en inhibant l'invasion des neutrophiles et des macrophages et en réduisant la libération de ROS. De plus, la sécrétion accrue de HGF, TGF-β3 et MMP-1 par les CSA au cours des réponses inflammatoires semble être étroitement liée aux effets anti-fibrotiques du FVS (Gandolfi et al., 2023).

Par conséquent, la FVS joue un rôle important dans la réponse immunitaire à travers l'expression et la suppression de diverses cytokines. Ainsi, les propriétés immunomodulatrices de la FVS sont liées à la fois à la libération directe de cytokines et à ses effets paracrines sur les tissus environnants, favorisant les processus de régénérescence tissulaire.

2.3.2.3 Propriétés angiogéniques

Les cellules de la FVS ont la capacité de s'auto-assembler *in vivo* pour former un système vasculaire fonctionnel. Cette capacité serait principalement médiée par des interactions structurelles et moléculaires entre les CSA et les CPE (Bora & Majumdar, 2017 ; Traktuev et al., 2008, 2009). De nombreuses études *in vitro* ont mis en évidence les effets synergiques entre ces deux populations cellulaires dans la formation des vaisseaux (Holnthoner et al., 2015 ; Traktuev et al., 2008 ; Verseijden et al., 2010). Récemment, Gan et al. ont mis en évidence la communication paracrine entre les CSA et les CPE, en révélant les effets bénéfiques du surnageant des cultures de CSA sur la migration et l'invasion des CPE, ainsi que sur leur capacité à former de nouveaux capillaires (Gan et al., 2022). En effet, les CSA sécrètent les facteurs pro-angiogéniques tels que VEGF, IGF-1, FGF, HGF, IL-6, TGF-β et les angiopoïétines 1 et 2 (ANGPT-1 et 2) ainsi que les molécules d'adhésion des cellules endothéliales incluant la cadhérine 5, et l'intégrine 1β qui favorisent la prolifération, la différentiation et la maturation des CPE en cellules endothéliales, stimulant ainsi le potentiel angiogénique de ces cellules (da Silva Meirelles et al., 2009 ; Gan et al., 2022 ; H. M. Kwon et al., 2014 ; Trzyna & Banaś-Ząbczyk, 2021). Il a également été montré que le VEGF sécrété par les CSA favorise la libération du PDGF-β par les CPE qui stimule à son tour la migration et la prolifération des CSA (Traktuev et al., 2008, 2009). Par ailleurs, les CSA peuvent se différencier en péricytes pour stabiliser la structure des nouveaux vaisseaux (L.-n. Sun & Liu, 2019). La Figure 20 issue de Bora & Majumdar illustre les mécanismes d'interactions potentiels entre les CSA et les CPE de la FVS dans la formation et la stabilisation de structures tubulaires *in vitro* et de nouveaux vaisseaux sanguins *in vivo*, à travers la sécrétion de divers facteurs.

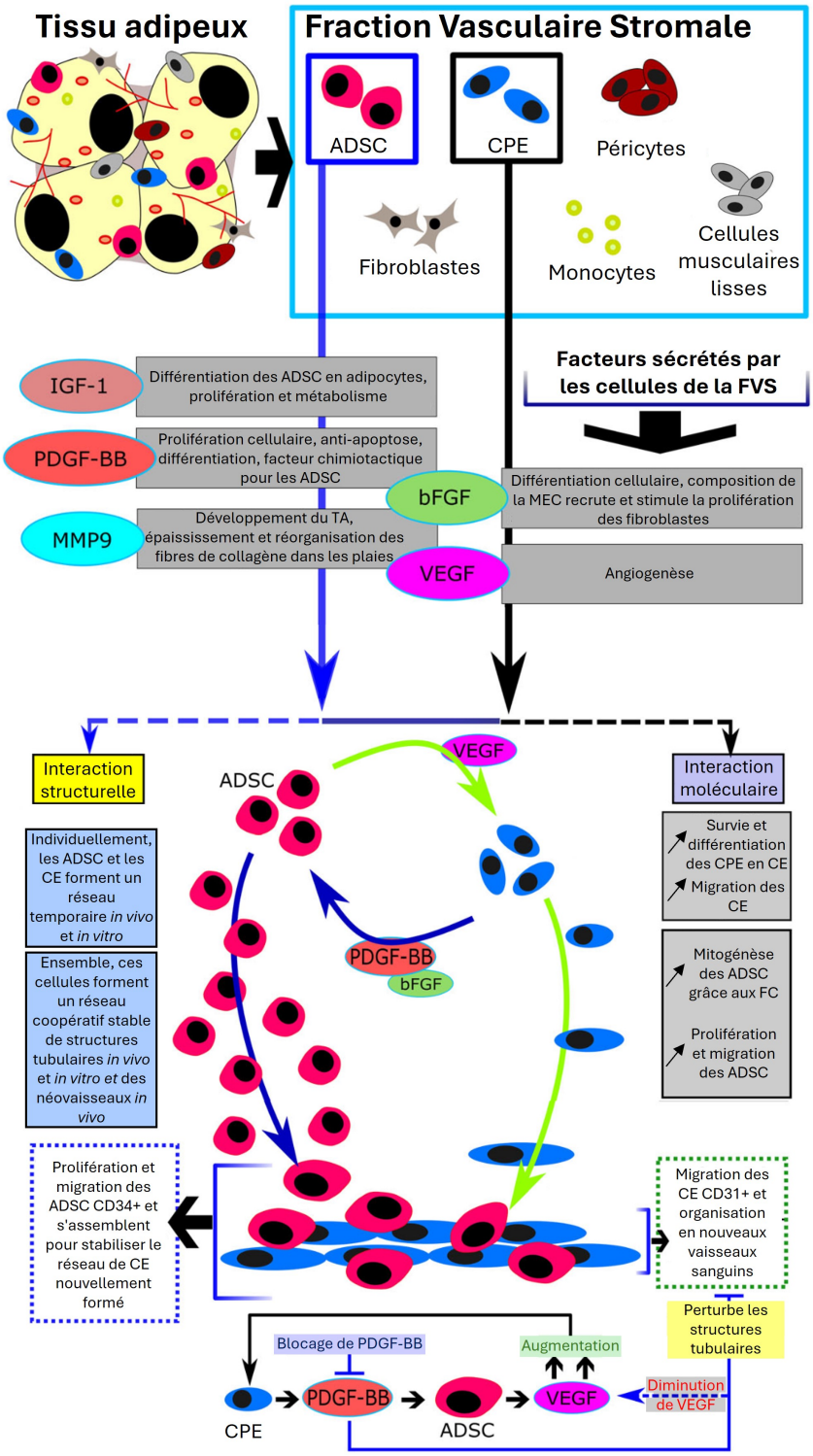


FIGURE 20 – **Mécanismes d'actions potentiels des CSA et des CE présentes dans le FVS pour l'angiogenèse.** Les cellules de la FVS sécrètent des facteurs solubles bioactifs. Les CSA et les CPE interagissent par l'intermédiaire du VEGF et du PDGF-BB, respectivement (entre autres composants), favorisant la prolifération cellulaire, la migration vers le site lésionnel ou encore la néovascularisation. *CSA = cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux, bFGF = facteur de croissance basique des fibroblastes, CE = cellules endothéliales, CPE = cellules progénitrices endothéliales, FC = facteur de croissance, IGF-1 = facteur de croissance analogue à l'insuline-1, MMP = métalloprotéinase matricielle, PDGF = facteur de croissance dérivé des plaquettes, VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.* (Adaptée de BORA et MAJUMDAR, 2017).

Des études précliniques ont démontré le potentiel thérapeutique de la FVS pour la revascularisation des tissus après la blessure de divers organes. Le traitement par FVS a stimulé la prolifération des cellules endothéliales et augmenté la libération de VEGF dans les plaies par brûlure, favorisant ainsi leur cicatrisation (Atalay et al., 2014). La FVS a également facilité la revascularisation fonctionnelle et la reperfusion de la peau dans un modèle murin de plaies ischémiques non cicatrisantes (Vuerich et al., 2022). Les auteurs démontrent que les CPE dérivées de la FVS, lorsqu'elles sont initialement injectées, colonisent le tissu hôte et s'y implantent. Par la suite, les CSA stimulent leur expansion en un réseau vasculaire fonctionnel. Par ailleurs, il a été démontré que les macrophages jouent un rôle crucial dans l'angiogenèse. Cai et al. ont mis en évidence qu'une déplétion des macrophage M2 réduit le potentiel angiogénique de la FVS, entrainant ainsi une diminution de la rétention du greffon graisseux (J. Cai et al., 2018). Les macrophages M2 expriment le VEGF et l'ANGPT2, qui se lient à leurs récepteurs respectifs VEGF-R et Tie2 à la surface des CPE et des cellules endothéliales, stimulant l'angiogenèse (Hubbard et al., 2005). Des études récentes suggèrent que la liaison de l'ANGPT à son récepteur Tie2 joue un rôle plus important que le VEGF dans l'angiogenèse médiée par les CPE, favorisant la formation de nouveaux vaisseaux pour réparer les lésions vasculaires associées à l'ischémie tissulaire (Gan et al., 2022).

Ainsi, l'action synergique des cellules de la FVS favorisant la régénérescence à travers des processus anti-inflammations et angiogéniques font de la FVS une thérapie intéressante pour des applications cliniques (Figure 21).

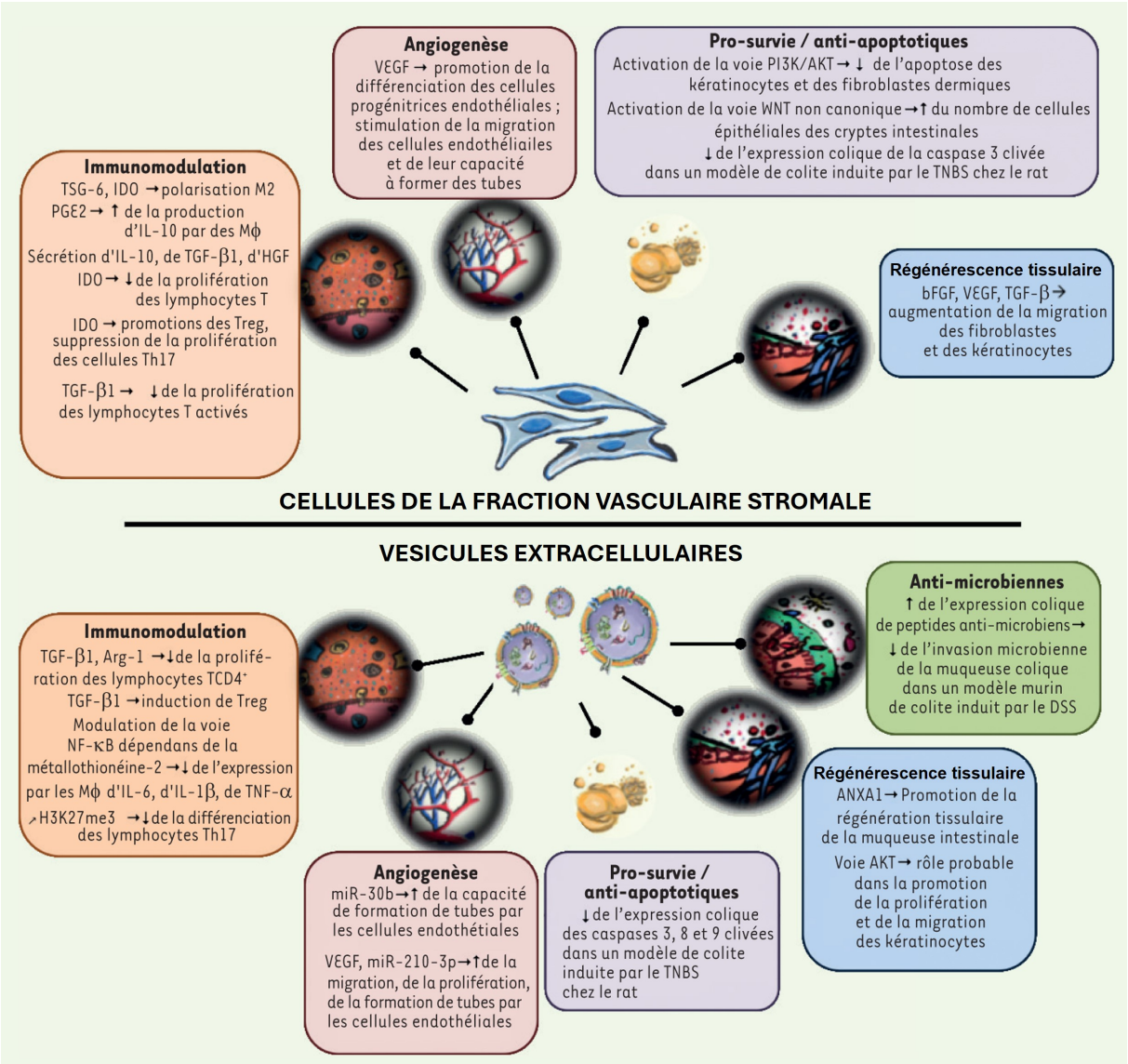


FIGURE 21 – **Mécanismes d'action possibles des cellules de la fraction vasculaire stromale et de leurs vésicules extracellulaires dans une contexte d'inflammation et de régénérescence tissulaire.** *TSG-6 = gène 6 stimulé par le facteur de nécrose tumorale, IDO = indoleamine 2,3-dioxygénase, PGE2 = prostaglandine E2 ; MΦ = macrophage ; IL-10 = interleukine 10, TGF-β = facteur de croissance transformant β ; HGF : facteur de croissance des hépatocytes, Treg = lymphocyte T régulateur, Th17 = lymphocyte T auxilliaire (helper) 17, VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, PI3K = phosphoinositide 3-kinase, bFGF = facteur de croissance basique des fibroblastes, Arg-1 : arginase 1, NF-κB = facteur nucléaire κB, IL-6 = interleukine 6, IL-1β = interleukine 1β, TNF-α = facteur de nécrose tumorale α, H3K27me3 = triméthylation de la lysine 27 de l'histone 3, miR-30b = micro-ARN 30b, miR-210-3p = micro-ARN 210-3p, TNBS = acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique, ANXA1 = annexine A1, DSS = sel de sodium au sulfate de dextrane.* (Adaptée de SEBBAGH et al., 2021).

2.3.2.4 Applications cliniques de la fraction vasculaire stromale

En raison de ses effets régénératifs, immunomodulateurs et angiogéniques, la FVS autologue est couramment utilisée dans la recherche clinique en médecine régénérative, notamment dans les domaines de l'orthopédie, de la chirurgie plastique et reconstructive, et cardiovasculaire.

Dans le domaine de l'orthopédie, l'injection intra-articulaire de FVS a été étudiée pour le traitement de l'arthrose et des tendinopathies. Des études ont démontré son innocuité et son efficacité dans l'arthrose du genou et de la hanche (Hong et al., 2021 ; D. J. Kim et al., 2023 ; Onoi et al., 2023 ; Q. Tang et al., 2022). Les auteurs rapportent que le traitement à la FVS réduit les douleurs liées à l'arthrose, favorise la régénérescence du cartilage et améliore l'amplitude des mouvements articulaires. Perdomo-Pantoja et al. ont montré que les effets thérapeutiques de la FVS sont similaires à ceux des BMSC dans la fusion vertébrale, ce qui suggère sa viabilité dans la chirurgie vertébrale (Perdomo-Pantoja et al., 2021). Par ailleurs, Usuelli et al. ont révélé l'efficacité de l'injection intratendineuse de FVS dans la tendinopathie d'Achille récalcitrante (Usuelli et al., 2018).

En chirurgie plastique et reconstructive, la greffe de graisse enrichie en FVS améliore la survie du greffon, accélère la cicatrisation des plaies, améliore l'esthétique des cicatrices et favorise le rajeunissement de la peau soumise aux processus de vieillissement (Gentile et al., 2015 ; Roshdy et al., 2022 ; Surowiecka et al., 2021 ; van Dongen et al., 2022 ; Vriend et al., 2022). De plus, le traitement à la FVS accélère la régénérescence post-lésionnelle, notamment dans les cas de brûlures, en stimulant la prolifération cellulaire et en améliorant l'esthétique et la fonctionnalité des zones brûlées (Malekzadeh et al., 2023 ; Yasti et al., 2022 ; H.-J. You & Han, 2014). La FVS est également bénéfique dans la gestion des lésions cutanées induites par la radiothérapie, en favorisant la néovascularisation et la réhydratation du tissu lésé (Rigotti et al., 2007), et a démontré son efficacité dans la régénérescence cutanée induite par l'étirement mécanique (P.-C. Tan et al., 2021). De plus, l'administration de FVS combinée ou non à du plasma riche en plaquettes s'est avérée efficace dans le traitement de l'ulcère du pied diabétique (Didangelos et al., 2018 ; Zhao et al., 2020). Par ailleurs, Cai et al. montrent que l'application d'un gel de FVS constitue un traitement efficace et durable pour les plaies chroniques (Y. Cai et al., 2023).

La FVS constitue également un traitement efficace pour les pathologies cardiaques et vasculaires. Carstens et al. ont démontré que de multiples injections intramusculaires de FVS stimulent l'angiogenèse fonctionnelle, la régénérescence des tissus, réduisent la douleur et améliorent la qualité de vie des patients atteints d'ischémie critique des membres. Le traitement présente un effet thérapeutique durable à long terme, empêchant la progression de la maladie (M. H. Carstens et al., 2017, 2020). De plus, l'administration intra-myocardique de FVS favorise la régénérescence tissulaire et restaure l'intégrité fonctionnelle du myocarde chez des patients atteints de cardiomyopathie ischémique chronique (Comella et al., 2016 ; Khalpey et al., 2014).

Ainsi, la FVS offre des perspectives prometteuses en médecine régénérative, démontrant une efficacité et une sécurité thérapeutiques significatives dans diverses disciplines médicales. Ses propriétés régénératrices sont médiées par les actions trophiques, angiogéniques et immunomodulatrices synergiques de ses différentes sous-populations cellulaires. Une compréhension approfondie de ces mécanismes permettra le développement de traitements innovants visant à améliorer les résultats cliniques et la qualité de vie des patients.

2.3.3 Tissu adipeux comme un organe endocrine

Le TA constitue le plus grand organe endocrinien du corps humain et joue un rôle crucial dans le maintien de l'homéostasie de l'organisme. En plus de son rôle dans le stockage de l'énergie, il régule également divers processus physiologiques, notamment le métabolisme, la prise alimentaire et la régulation des systèmes immunitaire et neuroendocrinien. Le TA sécrète des hormones : les adipokines, et des cytokines, telles que le TNF-α et l'IL-6, qui régulent l'homéostasie du glucose, influençant la signalisation de l'insuline, et interviennent dans divers processus métaboliques et inflammatoires (Ahima, 2006 ; Coelho et al., 2013 ; Kershaw & Flier, 2004). Le Tableau 2 montre certaines molécules sécrétées par le TA et leurs fonctions/effets sur leurs cibles. Une dérégulation de ces facteurs peut entrainer des troubles métaboliques tels que l'obésité, le diabète ou encore les maladies cardiovasculaires. Parmi les adipokines importantes sécrétées par le TA on retrouve l'adiponectine, la leptine, la résistine et l'angiotensine (Ahima, 2006).

Molécule	Fonctions/effets
Adiponectine	Rôle protecteur dans la pathogenèse du diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires
Leptine	Signaux au cerveau concernant les réserves de graisse corporelle. Régulation de l'appétit et de la dépense énergétique. Grande variété de fonctions physiologiques
Résistine	Rôle hypothétique dans la résistance à l'insuline
Angiotensinogène	Précurseur de l'angiotensine II ; régulateur de la tension artérielle et de l'homéostasie électrolytique
VEGF	Stimule l'angiogenèse
TNF-α	Affecte la signalisation du récepteur de l'insuline, cause possible du développement de la résistance à l'insuline dans l'obésité
IL-6	Pro-inflammatoire, métabolisme des lipides et du glucose, régulation du poids corporel
IGF-1	Stimule la prolifération d'une grande variété de cellules et agit comme médiateur pour de nombreuses cellules et pour de nombreux effets de l'hormone de croissance
PAI-1	Inhibiteur du système fibrinolytique par inhibition de l'activation du plasminogène
Stéroïdes sexuels	Stimulent l' adipogenèse

TABLEAU 2 – **Exemples de facteurs sécrétés par le tissu adipeux et leurs fonctions/effets respectifs sur leurs cibles.** *TNF-α = facteur de nécrose tumorale α, IL-6 = interleukine-6, PAI-1 = inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1, VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, IGF-1 = facteur de croissance analogue à l'insuline 1.* (Adapté de COELHO et al., 2013).

L'adiponectine

Il s'agit d'une hormone produite majoritairement par les adipocytes matures. Elle est présente en grande quantité dans la circulation systémique et est plus répandue chez les femmes que chez les hommes en raison de l'influence des hormones sexuelles féminines (COELHO et al., 2013). Elle exerce des effets anti-inflammatoires et elle sensibilise les tissus à l'action de l'insuline, favorisant ainsi le métabolisme du glucose (OUCHI & WALSH, 2007). Cependant, les taux plasmatiques d'adiponectine sont réduits dans les pathologies métaboliques et les cas d'obésité, contrairement à la majorité des adipokines sécrétées par le TA (KADOWAKI & YAMAUCHI, 2005). L'adiponectine exerce ses effets par l'intermédiaire de deux récepteurs, AdipoR1 et

AdipoR2. L'AdipoR1 est principalement exprimé sur les membranes externes des myocytes des muscles squelettiques, tandis que l'AdipoR2 est principalement exprimé sur les membranes externes des hépatocytes (Booth et al., 2016). Par ailleurs, ses récepteurs sont également présents sur la paroi des microvaisseaux cérébraux, et l'adiponectine a également été mise en évidence dans le LCS humain. Par conséquent, l'adiponectine doit pouvoir traverser la BHE, mais peut également être directement produite au niveau central, bien que les concentrations dans le LCS soient sensiblement inférieures à celles du sérum (Bloemer et al., 2018). Par ailleurs, il a été montré que l'adiponectine est associée au maintien de l'homéostasie endothéliale via la régulation de la protéine oxyde nitrique synthase endothéliale, jouant un rôle essentiel dans la fonction endothéliale et l'angiogenèse (Ouchi & Walsh, 2007).

La leptine

La leptine est une hormone majoritairement produite par les adipocytes, et également en faible quantité par d'autres organes tels que l'intestin, les muscles squelettiques et le cerveau (Ahima, 2006). Cette adipokine est impliquée dans la régulation de l'appétit et du métabolisme énergétique, et elle est également présente en plus grande quantité chez les femmes (Coelho et al., 2013). Elle traverse la BHE et module la régulation de l'appétit via ses récepteurs cérébraux, situés principalement au niveau de l'hypothalamus. Lorsque la leptine se lie à ces récepteurs, elle active des voies neuronales qui influent sur la régulation de l'appétit et du métabolisme (Booth et al., 2016). Contrairement à l'adiponectine, les concentrations plasmatiques de leptine augmentent en cas de pathologies. Lors d'un jeûne prolongé, la diminution du taux de leptine à pour conséquences l'inhibition de l'activité du SNS, de la thermogenèse et de l'immunité. Au niveau cérébral, un déficit en leptine est associé à une diminution du volume cérébral, une démyélinisation et à une réduction de plusieurs protéines neuronales et gliales (Ahima, 2006 ; Galic et al., 2010).

La résistine

La résistine est une hormone peptidique pro-inflammatoire sécrétée par les adipocytes et par les cellules immunocompétences du TA. Elle est considérée comme un antagoniste de l'adiponectine et joue un rôle important dans la résistance à l'insuline induite par l'obésité (Coelho et al., 2013 ; H. S. Jung et al., 2006). La libération de résistine semble être stimulée par l'inflammation. *In vitro*, il a été constaté que les taux de résistine augmentent fortement en présence de facteurs pro-inflammatoires tels que l'IL-1β, l'IL6 et le TNF-α (Trzeciak-Ryczek et al., 2011). Chez l'Homme, l'expression de la résistine augmente dans les conditions pathologiques impliquant une inflammation (Tripathi et al., 2020). Par ailleurs, la résistine est généralement considérée comme ne passant pas facilement la BHE, mais elle est capable d'altérer son intégrité en cas de pathologie cérébrale inflammatoire, telles que les scléroses, Parkinson et Alzheimer (Daryabor et al., 2022 ; Salameh et al., 2018 ; Xiaoying et al., 2019).

L'angiotensine

Il s'agit d'une pro-hormone qui appartient au système rénine-angiotensine et qui est impliquée dans divers processus physiologiques, notamment le contrôle de la pression artérielle, la fibrose et la régénérescence des tissus (Bernasconi & Nyström, 2018 ; Liao et al., 2019 ; Tyurin-Kuzmin et al., 2020). Cette hormone existe sous différents isoformes, notamment l'angiotensine I (Ang I), l'Angiotensine II (Ang II) et l'Angiotensine-(1-7), un dérivé peptidique de l'Ang II. Elle est produite par les adipocytes mais également par les CSA. L'Ang II favorise la croissance et la différenciation des CSA en adipocytes par ses actions autocrines et paracrines avec ses récepteurs ATR1 et ATR2 qui sont présents sur la membrane externe des CSA (Sysoeva et al., 2017). Par ailleurs, il a été rapporté un effet angiogénique de l'Ang II et de son récepteur ATR2 impliquant le VEGF, un facteur qui est également produits par les CSA et les CPE dérivées du TA (Bora & Majumdar, 2017 ; Mateos et al., 2016 ; Tamarat et al., 2002). De plus, les récepteurs ATR2, MasR, et le récepteur de l'Ang-(1-7) sont également exprimés sur la membrane des neurones, au niveau des terminaisons synaptiques, et pourraient moduler la croissance axonale (Janatpour et al., 2019 ; Lucius et al., 1998).

2.4 Stratégies thérapeutiques à base de tissu adipeux pour le système nerveux central

2.4.1 Utilisation thérapeutique du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central

Le TA a suscité un intérêt grandissant en tant que source potentielle pour des thérapies ciblant les troubles du SNC, notamment en raison de sa composition cellulaire et des facteurs et hormones qu'il sécrète, ce qui lui confèrent des propriétés immunomodulatrices, neurorégénératives et neuroprotectrices.

2.4.1.1 Utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central

Les CSA sont une source thérapeutique très intéressantes en médecine régénérative, et font l'objet de recherches approfondies visant à traiter les troubles du SNC (Bora & Majumdar, 2017 ; Zuk et al., 2001). Ces cellules sont capables de se diviser en neurones et en astrocytes, et favorisent la croissance axonale *in vitro* et *in vivo* (Huang et al., 2007 ; Liu et al., 2011 ; Ou et al., 2011). De plus, elles présentent des propriétés immunomodulatrices, régénératives, néoangiogéniques et anti-apoptotiques, ce qui en fait une source prometteuse pour le développement de nouveaux traitements des lésions du SNC (Dong et al., 2023 ; Hassanshahi et al., 2019 ; Mazini et al., 2019 ; Trevor et al., 2020).

Dans le contexte de maladies neurodégénératives, il a été démontré que la transplantation des CSA au niveau de l'hippocampe induit une neuroprotection en réduisant l'expression des facteurs pro-inflammatoires et pro-apoptotiques, tels que le TNF-α et les protéines Bax et caspase-3, et en favorisant la sécrétion de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 sur un modèle de la maladie d'Alzheimer, contribuant à l'atténuation des déficits cognitifs (Babaei et al., 2023). De plus, des études ont démontré une réduction significative de la perte neuronale et une augmentation de la neurogenèse dans l'hippocampe de rats atteints de la maladie d'Alzheimer traités avec des CSA (Kazemiha et al., 2019 ; Yan et al., 2014). Par ailleurs, l'utilisation thérapeutique de CSA a également favorisé la neurogenèse et la neuroprotection en atténuant

l'activation microgliale. De plus, les CSA transplantés ont libéré des facteurs neurotrophiques, tels que GDNF, NGF, BDNF, qui ont favorisé la survie des neurones dopaminergiques dans des modèles animaux de la maladie de Parkinson (K. Li et al., 2021), et a conduit à des améliorations fonctionnelles chez des patients parkinsoniens (Shigematsu et al., 2022). Les CSA ont également montré des effets bénéfiques dans le traitement des scléroses. Effet, elles ont diminué drastiquement la neuroinflammation, favorisé la remyélinisation et amélioré les fonctions motrices chez un modèle murin d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (Bowles et al., 2017 ; Hedayatpour et al., 2013), et elles auraient ralenti la progression de la maladie chez des patients atteints de la sclérose latérale amyotrophique (Shigematsu et al., 2021). Enfin, les CSA ont restauré une angiogenèse fonctionnelle, permettant une reperfusion des tissus lésés à la suite d'un accident vasculaire cérébrale (AVC) (B. Ryu et al., 2019), et à conduit à des améliorations des fonctions neurologiques chez l'Homme (Chiu et al., 2022).

Néanmoins, étant donné que les CSA ont une capacité limitée à traverser la BHE, il semble donc qu'en fonction du degré d'altération de la BHE, la plupart de leurs effets thérapeutiques sur les troubles du SNC soient associés à leur activité paracrine, ce qui est notamment le cas lorsque la BHE n'est pas altérée. Cette communication paracrine se manifeste par l'élaboration et la libération de facteurs trophiques, d'immunomodulateurs et de protéines de la MEC, qui ensemble forment le sécrétome des CSA (Figure 19). Après une lésion du SNC, l'administration de ces molécules apportent un environnement favorable à la survie, la croissance et la différenciation cellulaire et peuvent réguler les mécanismes locaux tels que la cicatrisation, la myélinisation, la revascularisation, et l'apoptose. Elles modulent également les réponses immunitaires et inflammatoires post-lésionnelles, contribuant ainsi à réduire les dommages tissulaires et améliorer les récupérations fonctionnelles. En revanche, si la BHE est altérée, l'effet paracrine persiste, mais peut s'ajouter à cela la migration des CSA transplantés au site lésionnel, où elles peuvent libérer des facteurs trophiques et anti-inflammatoires supplémentaires, contribuant ainsi à la régénérescence et à la récupération des tissus lésés (Assunção-Silva et al., 2018 ; Dong et al., 2023).

2.4.1.2 Utilisation thérapeutique des adipokines dérivées du tissu adipeux dans les troubles du système nerveux central

Les études sur les adipokines se sont longuement focalisées sur leurs fonctions dans le métabolisme du TA. Cependant, contrairement aux cellules du TA, ces facteurs peuvent traverser la BHE. En raison de leurs propriétés anti-inflammatoires et de leur capacité à interagir avec le SNC, des recherches se sont intéressées à leurs effets thérapeutiques potentiels sur les lésions du SNC (Parimisetty et al., 2016).

Des études précliniques ont rapporté que le traitement des maladies neurodégénératives par l'adiponectine favorise l'épargne tissulaire, la neurogenèse et la plasticité synaptique. L'adiponectine agit par l'intermédiaire de ses récepteurs AdipoR1 et AdipoR2 pour moduler la voie de signalisation de la protéine AMPK, qui est essentielle au bon fonctionnement synaptique et à la plasticité neuronale (Formolo et al., 2022 ; Marinangeli et al., 2018 ; Ng et al., 2021 ; Pousti et al., 2018 ; Song et al., 2015). Elle a également montré des effets anti-inflammatoires en réduisant l'activation microgliale et astrocytaire, et en diminuant les taux des cytokines pro-inflammatoires IL-1β et TNF-α, entrainant une amélioration des fonctions cognitives chez un modèle murin de maladie d'Alzheimer (Ng et al., 2021). Par ailleurs, son administration a augmenté la néovascularisation dans le tissu cérébral de souris atteintes d'AVC, entrainant une réduction du volume lésionnel et une récupération fonctionnelle (Miao et al., 2013 ; Shibata et al., 2004) La leptine joue également un rôle dans la neuroprotection à la suite d'une neurodégénérescence. En effet, elle aide à réguler la neurogenèse, la synaptogenèse et l'excitabilité neuronale (McGregor & Harvey, 2018). En plus d'avoir un effet direct sur les neurones en favorisant notamment leur survie, leur prolifération et la croissance axonale (Paz-Filho, 2016 ; R. Tan et al., 2023), elle agit également sur les cellules gliales, telles que les astrocytes, la microglie et les oligodendrocytes, et permet notamment la remyélinisation après une lésion (Fujita & Yamashita, 2019). Par ailleurs, une étude a montré que le traitement à la leptine diminue la neuroinflammation et améliore les déficits cognitifs chez le modèle murin d'Alzheimer (Greco et al., 2010). L'angiotensine, quant à elle, possède un effet anti-inflammatoire lors qu'elle est utilisée comme traitement pour l'AVC. Dans ce sens,

l'Ang-(1-7) réduit la libération de cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α par les cellules microgliales, et inhibe l'expression de la protéine oxyde nitrique synthase induite. Par ailleurs, elle diminue la taille de l'infarctus cérébral, limite la réaction astrogliale et améliore les performances neurologiques des animaux (Regenhardt et al., 2013). Les études évaluant les effets thérapeutiques de la résistine dans les troubles du SNC sont plus rares. Cependant, des études ont révélé les potentiels anti-apoptotiques et neuroprotecteurs de la résistine chez les souris atteintes d'ischémie cérébrale. Le traitement aurait réduit le volume lésionnel et permis une reperfusion des tissus lésés, entrainant des récupérations des fonctions neurologiques des animaux, telles que la capacité d'équilibre et la force musculaire (Behrouzifar et al., 2018 ; J. Zhu et al., 2017).

Les recherches sur les effets thérapeutiques des adipokines sur les affections neurologiques sont limitées. Toutefois, London et al., ont évalué la plasticité à court terme de la matière grise associée au déficit et au remplacement de la leptine (London et al., 2011). Les auteurs ont mis en évidence les effets plastiques à court terme de la leptine aux niveaux cortical et cérébelleux, et suggèrent que la leptine pourrait impacter la modulation des fonctions cérébrales dépendantes de la plasticité.

2.4.2 Utilisation thérapeutique du tissu adipeux pour les lésions de la moelle épinière

2.4.2.1 Tissu adipeux mécaniquement activé

2.4.2.1.1 Activation mécanique du tissu adipeux : propriétés immunomodulatrices et activation génique

Lors du développement embryonnaire, les forces mécaniques exercées jouent un rôle primordial dans le remodelage tissulaire, la capacité mitotique des cellules et la migration cellulaire (Vogel & Sheetz, 2006). Il a été démontré que les cellules du TA sont capables de percevoir et de répondre à des forces mécaniques provenant soit du milieu extérieur, soit au sein du TA lui-même (Lecoutre et al., 2022). Ces forces mécaniques modulent le comportement cellulaire en favorisant l'activation de canaux ioniques mécanosensibles, la libération de facteurs

de croissance, la modulation du cytosquelette et de la MEC, la modification des interactions cellule-cellule, et peut influencer l'expression génique (Fang et al., 2019 ; Iyer et al., 2012 ; Lecoutre et al., 2022 ; Na et al., 2008 ; Pruitt et al., 2014 ; L. M. Walker et al., 2000). Ainsi, l'activation mécanique du TA consiste à augmenter la mécanotransduction intra- et intercellulaire du TA, qui constitue une méthode de signalisation 40 fois plus rapide que les signaux chimiques classiques, afin de potentialiser l'activité cellulaire (Na et al., 2008).

In vitro, Fang et al. ont rapporté que l'étirement mécanique de CSA humaines mises en culture favorisait la prolifération et la différentiation cellulaire, l'adhésion et la migration des CSA, supprime l'apoptose cellulaire et augmente la production de cytokines favorables à la régénérescence tissulaire, telles que le VEGF, le TGF-β1 et l'FGF. Ils rapportent également que les voies PI3K/AKT et MAPK pourraient participer aux effets de l'étirement mécanique sur les CSA (Fang et al., 2019). Par ailleurs, Carelli et al. ont récemment démontré que l'application d'une force elliptique de 97×g d'une durée de 10 minutes sur le TA abolit ses propriétés inflammatoires en réduisant l'expression du TNF-α et en favorisant l'expression de cytokines anti-inflammatoires, telles que le gène 6 stimulé par le TNF-α (TSG-6) (Carelli et al., 2018). De plus, les auteurs ont observé une augmentation de la prolifération cellulaire, en accord avec l'activation des gènes Nanog, Oct4 et Sox2 exprimés par les CSA, qui sont impliqués dans la pluripotence et l'auto-renouvellement cellulaire (Carelli et al., 2015). Par conséquent, outre la promotion de l'action anti-inflammatoire, le caractère « souche » des cellules stromales est également accru par l'application de forces mécaniques elliptiques sur le TA. Par ailleurs, les CSA mécaniquement activées expriment davantage de marqueurs neuronaux, tels que MAP-2, ainsi que le marqueur oligodendrocytaire 4 et la GFAP (Carelli et al., 2015). Enfin, une culture de TA soumis à des forces mécaniques elliptiques présente des adipocytes plus petits et une composante stromale plus conséquente, richement vascularisée par rapport à un TA contrôle (Gorio et al., 2024).

2.4.2.1.2 Tissu adipeux mécaniquement activé dans les lésions expérimentales de la moelle épinière

Récemment, Carelli et al. ont évalué les effets thérapeutiques de la transplantation intraspinale aiguë de TA humain mécaniquement activé, ou graisse activée (GA) après une contusion thoracique T9-T10 chez la souris (Carelli et al., 2019). La GA a été activée par l'application d'une force mécanique elliptique de 97×g d'une durée de 10 minutes. L'étude a mis en évidence les propriétés neuroprotectrices et anti-inflammatoires de la GA sur la LME. La greffe de GA a réduit l'infiltration des macrophages ainsi que l'expression des cytokines pro-inflammatoires, telles que les IL-1β, IL-6, IL-8 et TNF-α, dans le site de la lésion. En revanche, elle a induit une augmentation de l'expression du TSG-6. Enfin, la GA a amélioré l'épargne tissulaire et a favorisé la neurogénèse et la régénérescence axonale, conduisant à une amélioration des récupérations sensorimotrices chez les souris lésées. L'augmentation significative des taux d'adiponectine et de leptine au niveau de la lésion suggère que les cellules activées, notamment les CSA, sont capables de migrer du greffon de GA vers le site lésionnel, favorisant les processus anti-inflammatoires et de régénérescence. De plus, les auteurs révèlent que les cellules souches épendymaires endogènes ont été stimulées par la greffe de GA et ont favorisé la neurogenèse précoce dans la moelle épinière lésée.

Cependant, il est crucial de souligner que ces observations encourageantes ont été réalisées dans le cadre d'un modèle murin, lequel se caractérise par une régénérescence axonale et une récupération fonctionnelle spontanées accrues après une LME, par rapport à l'Homme. Afin de mieux comprendre la pertinence clinique et translationnelle de ces résultats, il serait particulièrement intéressant d'étendre ces investigations à un modèle de rat, qui présente une physiopathologie de la LME plus comparable à celle de l'Homme.

2.4.2.2 Fraction vasculaire stromale

2.4.2.2.1 Utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux pour les lésions de la moelle épinière

Les CSA constituent une part significative de la FVS. Comme mentionné précédemment, l'administration de CSA a montré plusieurs avantages thérapeutiques dans les lésions du SNC. En raison de leurs effets immunomodulateurs, neuroprotecteurs, neurorégénératifs et angiogéniques, les effets thérapeutiques des CSA ont également été évalués dans le contexte des LME.

Plusieurs études ont rapporté les effets neuroprotecteurs des CSA sur les LME. Il a été démontré que le traitement possède des propriétés anti-inflammatoires, en réduisant l'infiltration des cellules immunocompétentes et en diminuant l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α au niveau de la lésion. De plus, le traitement limite la formation de la cicatrice gliale et des cavités kystiques chez des rongeurs ayant subi une contusion médullaire. Par ailleurs, les CSA possèdent un effet anti-apoptotique, favorisant la survie cellulaire et l'épargne tissulaire (Aras et al., 2015 ; S. Gao et al., 2019 ; L. Tang et al., 2016 ; Vialle et al., 2023 ; Z. Zhou et al., 2020). Le traitement à base de CSA joue également un rôle neurorégénérateur au niveau du tissu lésé. En effet, il augmente l'angiogenèse fonctionnelle et favorise la différenciation des cellules en neurones, en astrocytes et en oligodendrocytes (S. Gao et al., 2019 ; Menezes et al., 2020 ; Naeimi et al., 2022 ; Sarveazad et al., 2017). Les CSA libèrent également des facteurs neurotrophiques qui permettent le développement d'un microenvironnement favorable à la régénérescence axonale, la remyélinisation et la synaptogénèse au sein du tissu lésé (Aras et al., 2015 ; S. Gao et al., 2019 ; Menezes et al., 2020). Pour finir, des analyses électrophysiologiques révèlent la capacité de ce traitement à restaurer l'intégrité fonctionnelle des réseaux neuronaux locaux et des voies ascendantes et descendantes, permettant une restauration de la communication entre les voies sous-lésionnelles et les centres supraspinaux. Cette restauration fonctionnelle des voies spinales permise par le traitement aux CSA améliore les récupérations sensorimotrices chez les rats lésés (S. Gao et al., 2019 ; J. Li et al., 2022 ; Naeimi et al., 2022 ; Ohta et al., 2017 ; Rafiei Alavi et al., 2021 ; Sarveazad et al., 2017 ; Z. Zhou et al., 2020).

Des études ont évalué l'amélioration des effets thérapeutiques des CSA lorsqu'elles sont combinées à d'autres stratégies sur les LME. Une étude menée par Li et al. a révélé que la combinaison des CSA avec un nano-hydrogel avait des effets bénéfiques plus importants que l'utilisation des CSA seules. Cette combinaison a induit un effet anti-inflammatoire supérieur et a favorisé la survie cellulaire, la croissance axonale et la récupération sensorimotrice chez des rats souffrant d'une contusion de la moelle épinière thoracique (J. Li et al., 2022). Une autre étude a combiné les CSA avec l'enzyme bactérienne chondroïtinase ABC qui a déjà montré des effets bénéfiques sur les LME en recherche préclinique (Bradbury et al., 2002). Les auteurs rapportent les effets thérapeutiques de cette combinaison, qui a significativement amélioré les récupérations fonctionnelles par rapport au traitement avec les CSA seules, et a augmenté la myélinisation et la différenciation des CSA en neurones et astrocytes (Sarveazad et al., 2017). Par ailleurs, il a été montré que l'ajout de l'entrainement sur tapis roulant à la thérapie de CSA renforce leurs effets bénéfiques après une contusion médullaire thoracique sévère chez le rat (Keikhaei et al., 2023 ; Takahashi et al., 2023). Les auteurs ont souligné les effets neuroprotecteurs, immunomodulateurs et angiogéniques de cette thérapie combinée. En effet, les animaux traités et greffés présentaient une expression accrue de VEGF associée à une vascularisation plus riche et à une épargne tissulaire plus importante. De plus, la thérapie combinée induit un effet anti-inflammatoire, se traduisant par une augmentation de l'expression du ligand de la chimiokine 2, favorisant la différentiation des monocytes en macrophage M2 qui sécrètent la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (Giri et al., 2020). La thérapie combinée a également réduit l'infiltration des macrophages M1 au niveau du site de la lésion entrainant une réduction de la libération de cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α. De plus, les auteur suggèrent que l'entrainement physique aurait augmenté l'expression des neurotrophines BDNF et NT3 au niveau lésionnel, favorisant la régénérescence axonale et la synaptogenèse. Enfin, les animaux traités et entrainés ont montré une récupération fonctionnelle supérieure à celle des animaux traités uniquement par les CSA (Keikhaei et al., 2023 ; Takahashi et al., 2023). Ainsi, l'utilisation de thérapies combinées impliquant des CSA est très prometteuse pour le traitement de la LME.

Bien que les résultats précliniques soient encourageants, peu d'études cliniques ont évalué les potentiels thérapeutiques des CSA sur les LME. Jusqu'à présent, la recherche clinique s'est majoritairement concentrée sur le traitement des LME chroniques. Ra et al. ont souligné la fiabilité et la sécurité de l'administration de CSA autologues par voie intraveineuse chez des patients atteints de LME chroniques, mais n'ont pas montré d'effet thérapeutique lié à une telle procédure (Ra et al., 2011). Cependant, une récente étude de cas clinique réalisée chez un patient tétraplégique a confirmé l'innocuité et la faisabilité de l'injection intraveineuse de CSA autologues, et a également montré des améliorations significatives de la fonction neurologique du patient, ainsi qu'une qualité de vie améliorée (Vij et al., 2023). Par ailleurs, Hur et al. ont rapporté que l'administration intraspinale de CSA autologues n'a induit aucun effet indésirable significatif chez des patients atteints de LME chroniques. De plus, les patients traités présentaient des améliorations des fonctions motrices et l'un d'eux a montré une amélioration de la réponse du nerf médian lors du test de potentiel évoqué somatosensoriel (Hur et al., 2016). Une étude de cas clinique a également rapporté que l'injection intraspinale de CSA chez un patient présentant une LME complète de grade C a présenté des signes cliniques d'efficacité, améliorant les scores moteurs et sensoriels quelques mois après le traitement (Bydon et al., 2020).

Récemment, Tien et al. ont évalué la sécurité et la faisabilité de la transplantation autologue de CSA pour le traitement des LME aiguës, en termes de signes cliniques, de signes mentaux et de qualité de vie (Tien et al., 2019). Ils rapportent que la transplantation n'induit aucun effet indésirable et que tous les patients ont présenté des récupérations des fonctions motrices et vésicales. De plus, une analyse par IRM a montré que le traitement a induit un épaississement de la moelle épinière au niveau du site lésionnel. Enfin, tous les patients ayant bénéficié de la transplantation ont signalé une nette amélioration de leur qualité de vie.

A ce jour d'autres essais cliniques évaluant les effets thérapeutiques des CSA sur les LME aigües sont en cours.

2.4.2.2.2 Fraction vasculaire stromale : une alternative aux cellules souches mésenchymateuses dérivées du tissu adipeux en thérapie

L'utilisation des CSA a déjà montré de nombreux avantages en thérapies régénératives. Ces cellules peuvent être obtenues en très grand nombre et de manière peu invasive. Chez l'Homme comme chez l'animal, elles démontrent des propriétés thérapeutiques neuroprotectrices, immunomodulatrices et neurotrophiques dans de nombreuses pathologies du SNC (J. Chen et al., 2022 ; Dos-Anjos & Catalán, 2019 ; S. Gao et al., 2019 ; Hur et al., 2016 ; Shigematsu et al., 2022 ; Tien et al., 2019). Néanmoins, leur utilisation en clinique présente certains inconvénients. Tout d'abord, le processus d'isolement des CSA est coûteux et leur utilisation requiert une mise en culture, constituant un processus chronophage qui peut entraver la réactivité nécessaire au traitement aiguës des pathologies. Cette étape de mise en culture accroît également le risque de contamination, soulevant des préoccupations quant à la qualité et à la sécurité des thérapies basées sur les CSA (Al-kharboosh et al., 2022 ; Cobo et al., 2007 ; Khazaei et al., 2022). En revanche, les cellules de la FVS peuvent être isolées en quelques minutes pour une utilisation immédiate, sans passer par une étape de culture, offrant ainsi une solution plus pratique pour une action rapide (Solodeev et al., 2023). Par ailleurs, des études ont montré que les CSA et les FVS ont des effets similaires en médecine régénérative, notamment grâce à leur effet paracrine (J. Chen et al., 2022 ; Karina et al., 2019 ; Senesi et al., 2023 ; Yang et al., 2022).

En recherche préclinique, la FVS a démontré de nombreux effets bénéfiques dans le traitement des pathologies neurodégénératives, principalement en raison de son efficacité régulatrice sur les facteurs inflammatoires (Al-kharboosh et al., 2022). Des études ont montré que la FVS présente des avantages significatifs par rapport aux traitements par les CSA lors d'interventions précoces. En effet, la FVS induit une réduction de l'infiltration et de l'activation des macrophages, module la libération de cytokines inflammatoires et contribue à l'épargne tissulaire, se traduisant par des récupérations fonctionnelles supérieures à celles obtenues avec le traitement par les CSA (Al-kharboosh et al., 2022 ; Bora & Majumdar, 2017 ; Bowles et al., 2016, 2017, 2018). Les propriétés immunomodulatrices, neuroprotectrices

et angiogéniques de la FVS ont également été mises en évidence à la suite de traumatismes crâniens (Berman et al., 2018). De plus, elle favorise la repousse axonale de nerfs périphériques par la sécrétion de facteurs angiogéniques, neurotrophiques et anti-apoptotiques (Mohammadi et al., 2015 ; K. Tada et al., 2021).

Les applications cliniques de la FVS présentent un potentiel prometteur dans le traitement des pathologies du SNC. Carsten et al. ont rapporté que le traitement par la FVS permet une amélioration des récupérations sensorimotrices et un gain d'autonomie chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (M. Carstens et al., 2020). De plus, une injection intracérébroventriculaire de FVS autologue a réduit la neuroinflammation et a amélioré les fonctions cognitives et motrices de patients atteints de la maladie d'Alzheimer et de la sclérose en plaques (Duma et al., 2019 ; Riordan et al., 2009). Riordan et al. rapportent que de telles améliorations n'avaient pas été observées dans leur précédente étude où seules les CSA avaient été utilisées, soulignant l'intérêt thérapeutique supérieur du traitement par la FVS dans ce contexte pathologique (Riordan et al., 2009). Des études ont également évalué les effets thérapeutiques de la FVS sur les AVC. Michalek et al. ont rapporté que l'injection intraveineuse de FVS réduisait les sensations douloureuses, améliorait significativement la motricité et l'équilibre, et augmentait nettement l'autonomie et la qualité de vie du patient (Michalek et al., 2019). De plus, Lee et al. ont constaté que les injections intramusculaires de FVS combinées à une thérapie physique quotidienne permettaient une récupération motrice des membres supérieurs chez les patients ayant subi un AVC (H.-B. Lee et al., 2020).

Par conséquent, l'ensemble de ces observations révèlent que la FVS seule ou combinée à d'autres stratégies, telles que la neuroréhabilitation par l'entrainement physique, constitue une alternative prometteuse aux CSA dans le contexte des thérapies neurorégénératives, suggérant son efficacité potentielle en tant que traitement des LME.

3 Objectifs de la thèse

La LME est une pathologie handicapante qui entraine des déficits fonctionnels, notamment des troubles moteurs et sensitifs. Les conséquences peuvent être dévastatrices, affectant de manière significative la qualité de vie des personnes touchées et générant des coûts élevés en matière de soins de santé et de rééducation. Bien que les résultats précliniques soient prometteurs, il n'existe actuellement aucune stratégie efficace pour restaurer l'intégrité anatomique et fonctionnelle de la moelle épinière des personnes atteintes de LME.

Dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, nous avons souligné l'intérêt des thérapies cellulaires dans le traitement des LME. Parmi les nombreuses thérapies cellulaires existantes, l'utilisation du TA constitue une ressource thérapeutique prometteuse en raison de sa composition cellulaire diversifiée et de sa fonction endocrine, lui conférant la capacité de régénérer les tissus, de moduler la réponse inflammatoire et de favoriser l'angiogenèse.

L'objectif des deux premières études était d'évaluer les effets thérapeutiques du TA sur la modulation de la réponse inflammatoire, le maintien de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales et la promotion des récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire thoracique chez le rat. Deux méthodes distinctes ont été utilisées et appliquées dans les quatre heures suivant la lésion : le dépôt de GA humaine sur la dure-mère au niveau de la lésion (**Article I**) et l'injection sous-durale de la FVS autologue au site lésionnel (**Article II**). Les hypothèses de ces études sont que ces thérapies appliquant du TA au niveau lésionnel réduirait l'inflammation endogène post-lésionnelle, entrainerait une préservation des voies épargnées par la lésion initiale, rétablirait la fonctionnalité de la boucle sensorimotrice intrasegmentaire et la communication entre les voies sus- et sous-lésionnelles, conduisant à des récupérations sensorimotrices significatives après une LME.

L'**Article III** présente une étude qui visait à coupler l'approche de thérapie cellulaire avec un programme d'entrainement physique sur tapis roulant, qui a montré des effets bénéfiques après les LME. Dans cette étude nous suggérons que la combinaison d'un entrainement

physique sur tapis roulant avec une greffe de FVS autologue potentialise les effets bénéfiques de la FVS observés dans l'**Article II**. Ainsi, nous nous attendons à ce que cette thérapie combinée ait davantage d'effets bénéfiques sur la réduction de l'inflammation endogène, sur la restauration de l'intégrité de la boucle sensorimotrice et de la communication entre les voies sus- et sous-lésionnelles, conduisant ainsi à des récupérations sensorimotrices accrues chez des rats présentant une contusion médullaire thoracique.

Enfin, l'**Annexe 1** présente les résultats préliminaires d'une étude en cours qui a pour objectif d'évaluer les effets bénéfiques de la combinaison d'une greffe de GA et d'un entrainement physique sur tapis roulant après une contusion médullaire thoracique. Dans cette étude nous suggérons que cette thérapie combinée améliore les effets bénéfiques obtenus après la greffe de GA observés dans l'**Article I**. Nous nous attendons à ce que cette approche combinée conduise à des résultats similaires à ceux exposés l'**Article III**.

4 Méthodologie de la recherche

4.1 Modèle animal

Comme nous l'avons décrit dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, il existe différents modèles expérimentaux de LME reflétant la variabilité des traumatismes médullaires observés en clinique humaine. Dans cette étude, nous avons choisi d'utiliser le modèle de contusion pour différentes raisons. Tout d'abord, la contusion constitue le type de LME le plus fréquemment observé en pathologie humaine (Sharif-Alhoseini et al., 2017). De plus, ce modèle est pertinent pour étudier à la fois les interventions neuroprotectrices et les approches neurorégénératives, permettant d'évaluer l'efficacité des traitements (Krishna et al., 2013). Par ailleurs, il s'agit d'un modèle largement adopté dans la recherche préclinique, qui fournit de nombreuses données permettant de comparer nos résultats à la littérature existante.

Dans nos études, la contusion dorsale a été réalisée au niveau de la 10ème vertèbre thoracique (T_{10}) à l'aide de l'impacteur Infinite Horizon (IH-0400, PSI) permettant un contrôle précis de la force, de la surface, de la profondeur et du temps d'impaction. L'utilisation d'un impacteur automatisé limite la variabilité inter-individuelle et permet une bonne reproductibilité des lésions (Verma et al., 2019). Afin de limiter davantage la variabilité inter-individuelle, la pointe hémisphérique convexe de l'impacteur a été remplacée par une pointe hémicylindrique concave (longueur 2,54 mm, rayon : 1,27 mm). Cette modification permet de répartir uniformément la pression des deux côtés de la moelle épinière, permettant d'obtenir une lésion symétrique (Seblani et al., 2024). De plus, nous avons utilisé un dispositif de contention conçu par le Dr. Mostafa Seblani sur la base du modèle de Walker et al. Ce dispositif améliore l'exposition et la fixation de la moelle épinière en utilisant des pinces de stabilisation vertébrale (Seblani et al., 2024 ; M. J. Walker et al., 2015). L'impact a été appliqué avec une force de 200 kdyn, induisant une lésion considérée comme sévère (Scheff et al., 2003), fragilisant la BHS et rendant perméable la couche méningée, facilitant ainsi l'infiltration des composants

greffés.

Dans nos études, nous avons utilisé le modèle du rat, choisi pour sa similitude physiopathologique avec la LME humaine, comme détaillée dans le cadre théorique de ce manuscrit (voir section 2.1.2).

4.2 Chronologie expérimentale

La chronologie expérimentale est semblable dans chacune des études présentées dans ce manuscrit de thèse. Dans la Figure 22, l'**ÉTUDE 1**, correspondant à l'étude présentée dans l'**Article I**, concerne l'évaluation de l'efficacité de la greffe de GA sur les récupérations sensorimotrices des rats présentant une contusion médullaire au niveau T_{10}. L'**ÉTUDE 2**, correspondant à l'étude présentée dans l'**Article II**, concerne l'évaluation de l'efficacité de l'autogreffe de la FVS sur les récupérations sensorimotrices des rats présentant une contusion médullaire au niveau T_{10}. L'**ÉTUDE 3**, correspondant à l'étude présentée dans l'**Article III**, concerne l'évaluation de l'efficacité de la combinaison d'un entrainement sur tapis roulant et de l'autogreffe de la FVS sur les récupérations sensorimotrices des rats présentant une contusion médullaire au niveau T_{10}. Enfin l'**ANNEXE 1** présente des résultats préliminaires d'une étude en cours qui vise à évaluer l'efficacité de la combinaison d'un entrainement sur tapis roulant et de la greffe de la GA sur les récupérations sensorimotrices des rats présentant une contusion médullaire au niveau T_{10}.

À leur arrivée à l'animalerie, tous les animaux ont été soumis à une période d'habituation de deux semaines. Cette période était nécessaire pour limiter la variabilité inter-individuelle et obtenir des performances optimales. À la fin de cette période, les valeurs de référence (PRE-) pour chaque test fonctionnel, tels que le test BBB (Basso et al., 1995), le test de l'échelle (Semler et al., 2011) et l'analyse de la marche (Hamers et al., 2006), ont été mesurées. L'intervention chirurgicale, la contusion médullaire et l'administration de sérum physiologique ou des différents traitements dérivés du TA (GA pour l'**ÉTUDE 1** et l'**ANNEXE 1** et FVS pour l'**ÉTUDE 2** et l'**ÉTUDE 3**) et ont été réalisées à la semaine S0. Chaque administration a eu lieu dans les quatre heures suivant la lésion médullaire. A S2, soit deux semaines après la

LME, certains animaux (5 par groupes) ont été euthanasiés afin de prélever la moelle épinière pour une évaluation de l'inflammation endogène au niveau du site lésionnel. Les récupérations sensorimotrices ont été évaluées chaque semaine, de S1 à S12, à l'aide des tests du BBB et de l'échelle inclinée. A S12, les paramètres de la marche ont été mesurés, et des enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés (Bianco et al., 2011 ; Bonnet, Alluin et al., 2020 ; Decherchi et al., 2007 ; Gueye et al., 2015 ; Nawrotek et al., 2017 ; R. D. Skinner et al., 1996).

Dans la Figure 22, les différents protocoles expérimentaux ont été classés par couleur : en bleu, les études dans lesquelles les animaux n'ont pas été entrainés, en orange les études pour lesquelles certains groupes d'animaux ont reçu un entrainement sur tapis roulant de S2 à S12. L'entrainement consistait en une séance de 15 minutes par jour, 5 jours par semaine, à une vitesse allant de 15 à 30 mètres par minute en fonction du niveau de récupération sensorimoteur. Si les rats étaient incapables de supporter leur poids et de maintenir une démarche régulière, ils étaient soutenus manuellement et une stimulation périnéale était effectuée pour générer des patrons de marche induits par la stimulation des afférences locales (Alluin et al., 2011 ; Bonnet, Alluin et al., 2020 ; Rossignol et al., 2015 ; T. Sun et al., 2013).

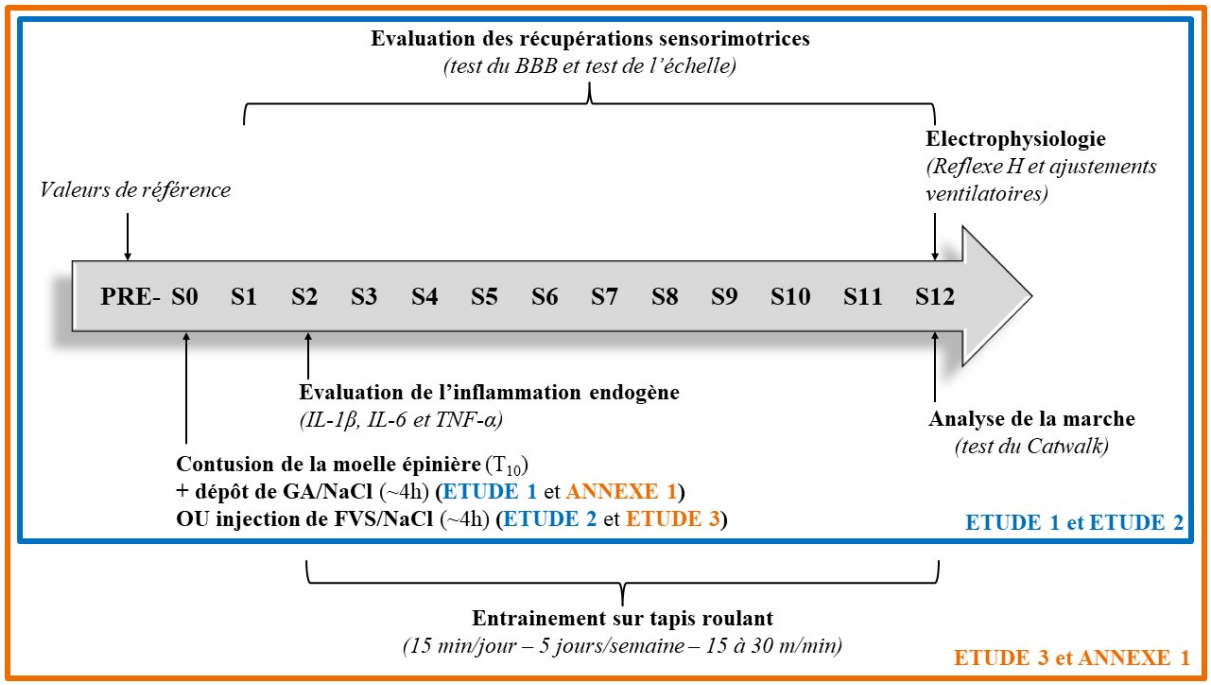


FIGURE 22 – **Chronologie expérimentale des études conduites pendant ce travail doctoral.**

Comme nous l'avons indiqué dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, il existe différentes méthodes d'entrainement physique qui peuvent être adaptées au niveau de déficience neurologique des personnes atteintes de LME. Pour cette étude, nous avons choisi la méthode d'entrainement sur tapis roulant car il s'agit de la méthode d'entrainement la plus couramment utilisée en pratique clinique montrant des récupérations sensorimotrices significatives (WERNIG et al., 2000). L'entrainement débutait 14 jours après la lésion, à la fois pour permettre aux animaux de récupérer après la contusion, mais aussi parce qu'un entrainement précoce peut avoir des effets délétères, aggravant la lésion, et limitant les récupérations sensorimotrices (MARQUES et al., 2018). Le protocole a été choisi sur la base de publications antérieures qui ont utilisé des modèles de contusion thoracique chez le rat et dont l'entrainement a permis des récupérations sensorimotrices significatives (ALLUIN et al., 2011 ; BONNET, ALLUIN et al., 2020 ; ROSSIGNOL et al., 2015 ; T. SUN et al., 2013).

4.3 Matériel biologique dérivé du tissu adipeux nécessaire à l'étude

4.3.1 Prélèvement du matériel biologique

4.3.1.1 Prélèvement du tissu adipeux humain

Les échantillons de TA nécessaires à l'étude ont été obtenus par le Dr. Christophe Desouches à son cabinet de chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, dans le bloc opératoire stérile. Le protocole de prélèvement consistait en des aspirations de liposuccion esthétique de TA sous-cutané péri-ombilical. La récupération des échantillons de graisse a été permise après avoir obtenu le consentement écrit auprès de jeunes femmes donneuses adultes en bonne santé : 3 donneuses pour l'étude présentée dans l'**Article I** (27,67 $\pm$ 1,33 ans) , et 6 donneuses pour l'étude présentée dans l'**Annexe 1** (27,33 $\pm$ 1,33 ans). Nous avons privilégié du TA provenant de femmes car il a été montré que le TA de femmes en bonne santé sans traitement médicamenteux, présentait des caractéristiques optimales après activation (Carelli et al., 2015). De plus, étant donné l'influence de l'âge sur la composition et la qualité du TA chez les femmes, surtout après la ménopause, nous avons sélectionné du TA provenant de femmes jeunes afin de garantir la qualité du TA utilisé dans nos études (Lovejoy et al., 2008). Les échantillons ont ensuite été immédiatement acheminés à l'Institut des Sciences du Mouvement pour être préparés et greffés sur les rats lésés.

4.3.1.2 Prélèvement de tissu adipeux de rat

Après avoir été profondément anesthésiés, le TA épididymaire des rats a été prélevé (Figure 23). Pour cela, une incision ventrale médiane de 1 cm a été réalisée à travers la paroi abdominale pour accéder à la cavité abdominale. Ensuite, un volume d'environ 1,3 $\pm$ 0,3 cm^3 de TA épididymaire a été prélevé pour chaque animal, avant de refermer les muscles et la peau. Les prélèvements ont ensuite été immédiatement acheminés à l'Unité de Thérapie Cellulaire de l'hôpital de la Conception afin d'en isoler la FVS.

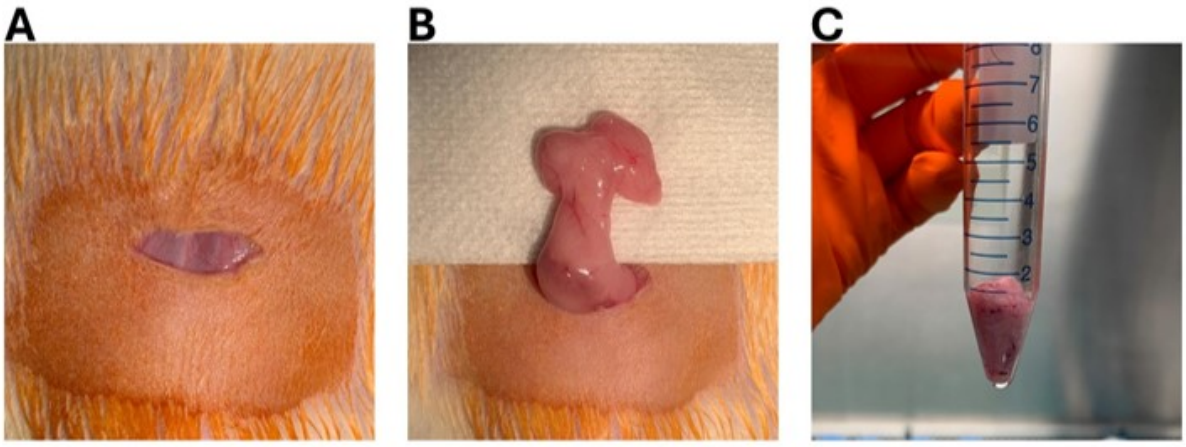


FIGURE 23 – **Étapes de prélèvement de tissu adipeux de rat. A)** Incision ventrale médiane de 1 cm de la peau, étape précédant l'ouverture des muscles et de la paroi abdominale. **B)** TA épididymaire de rat. **C)** Volume d'environ 1,3 ± 0,3 cm^3 de TA épididymaire de rat.

4.3.2 Préparation du matériel biologique

4.3.2.1 Activation mécanique du tissu adipeux humain

Pour notre étude, nous avons choisi d'utiliser du TA humain car selon les observations du Dr. Stephana Carelli, chercheuse à l'Université de Milan, l'application de forces mécaniques elliptiques ne semble pas entrainer l'activation du TA chez le rat, contrairement à ce qui est observé chez l'humain (données non publiées). Avant l'étape d'activation, plusieurs étapes de lavage du TA sont réalisées. Tout d'abord, le TA lipoaspiré est laissé décanter dans la seringue de prélèvement, ce qui permet de séparer le contenu en trois couches distinctes : une couche lipidique superficielle, une couche intermédiaire de TA lipoaspiré, et une couche basale aqueuse composée des liquides chirurgicaux (NaCl et épinéphrine) contenant les hématies (Figure 24). Ensuite, la couche basale est éliminée et le TA est lavé avec du sérum physiologique (NaCl, 0,9%) jusqu'à obtenir une substance jaune pâle.

Pour activer mécaniquement le TA, nous l'avons exposé à une force mécanique selon un protocole précédemment décrit (CARELLI et al., 2018, 2019). Environ 10 à 15 ml de TA lipoaspiré lavé ont été mécaniquement activés par application de forces mécaniques à l'aide d'un agitateur vortex pendant 7 minutes à température ambiante. Le processus d'activation du TA a été effectué 30 à 60 minutes avant la greffe. Le produit résultant a été appelé graisse

activée (GA). Des échantillons de GA ont été stockés à -80°C pour des analyses ultérieures.

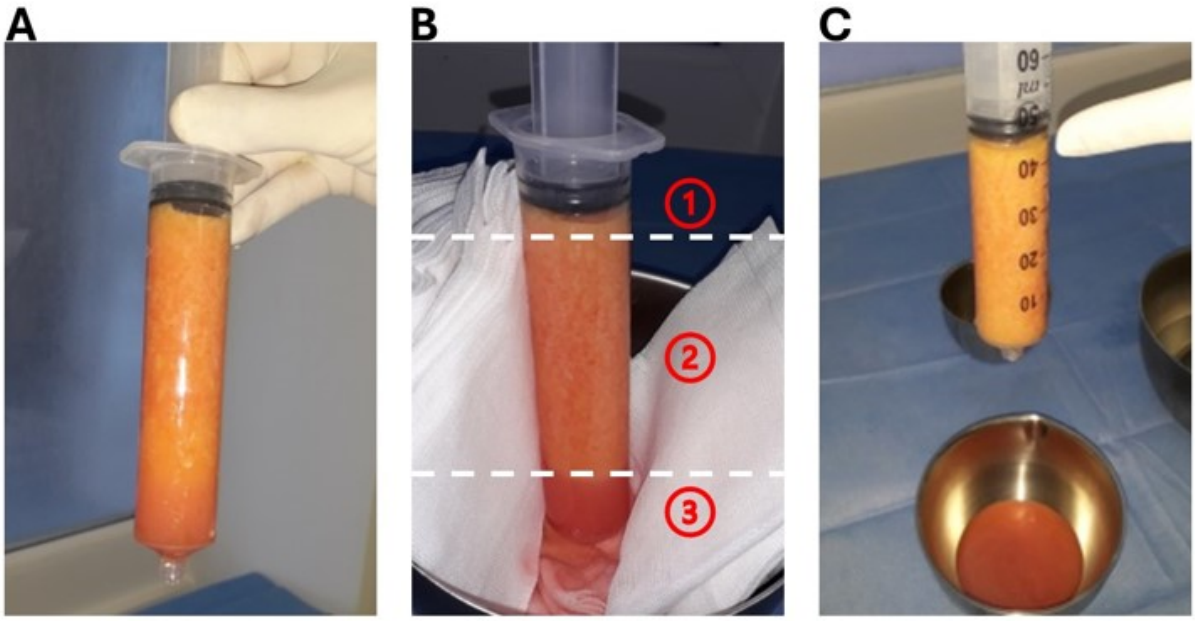


FIGURE 24 – **Étapes de lavage du tissu adipeux humain. A)** TA humain lipoaspiré. **B)** Après décantation en présence de NaCl 0,9%, le TA humain se divise en 3 couches distinctes : 1. couche lipidique superficielle, 2. couche intermédiaire de TA humain lipoaspiré, 3. couche basale aqueuse contenant les hématies. **C)** Élimination de la couche basale aqueuse.

4.3.2.2 Isolement de la fraction vasculaire stromale

L'échantillon de FVS a été purifié à l'aide d'une méthode manuelle décrite précédemment (FRANÇOIS et al., 2020). Les différentes étapes d'isolement de la FVS sont illustrées dans la Figure 25. Le TA a été rincé avec du Ringer Lactate à 37°C (VIAFLO) puis a été finement émincé à l'aide de ciseaux courbés. Le TA émincé a ensuite été lavé 3 fois avec du Ringer Lactate. Après lavage, une digestion enzymatique a été réalisée par une collagénase (SERVA NB4) dosée à 0,25U/ml, à 37°C sous agitation, pendant 60 min. La concentration optimale de collagénase nécessaire à la digestion a été mesurée par la formule suivante :

$$\frac{0.25 \times (\text{volume de graisse après lavage (ml)} + \text{volume Ringer Lactate ajouté(ml)})}{20} \times 1000 \text{ (µl)}$$

Après inactivation de l'enzyme par ajout de 10 ml de NaCl 0,9% à 37°C, le TA digéré a été filtré à l'aide d'un tamis cellulaire de 70 µm. Le TA a ensuite été soumis à une centrifugation de 5

min à 1500 rotations par minute (rpm) afin de séparer des adipocytes de la FVS. Les adipocytes, regroupés dans la couche superficielle après centrifugation, sont éliminés avec le surnageant pour ne conserver que le culot cellulaire, correspondant à la FVS. Le culot cellulaire est ensuite remis en suspension dans du NaCl, puis lavé 3 fois avec 20 ml de NaCl par centrifugation à 1500 rpm pendant 5 min, avant d'être resuspendu dans 5 ml de NaCl. La concentration de cellules nucléées viables et le pourcentage de viabilité cellulaire ont été déterminés en duplicat à l'aide du compteur cellulaire LUNA-FX7™ (Aligned Genetics, Logos Biosystem, France). La concentration finale de la FVS nécessaire pour obtenir 1 million de cellules dans 50 µl de solution cellulaire a été mesurée par la formule suivante :

$$\frac{\text{Nombre total de cellules vivantes} \times \text{volume de FVS purifié (ml)} \times 0{,}05\ \text{(ml)}}{1000}\ \text{(µl)}$$

Une viabilité supérieure ou égale à 80% était nécessaire pour valider l'extraction de la FVS. Le rendement de récupération correspond au nombre total de cellules de la FVS par rapport au volume total de TA. Enfin, la FVS a été conditionnée à température ambiante pour être administrée dans les quatre heures suivant la contusion médullaire.

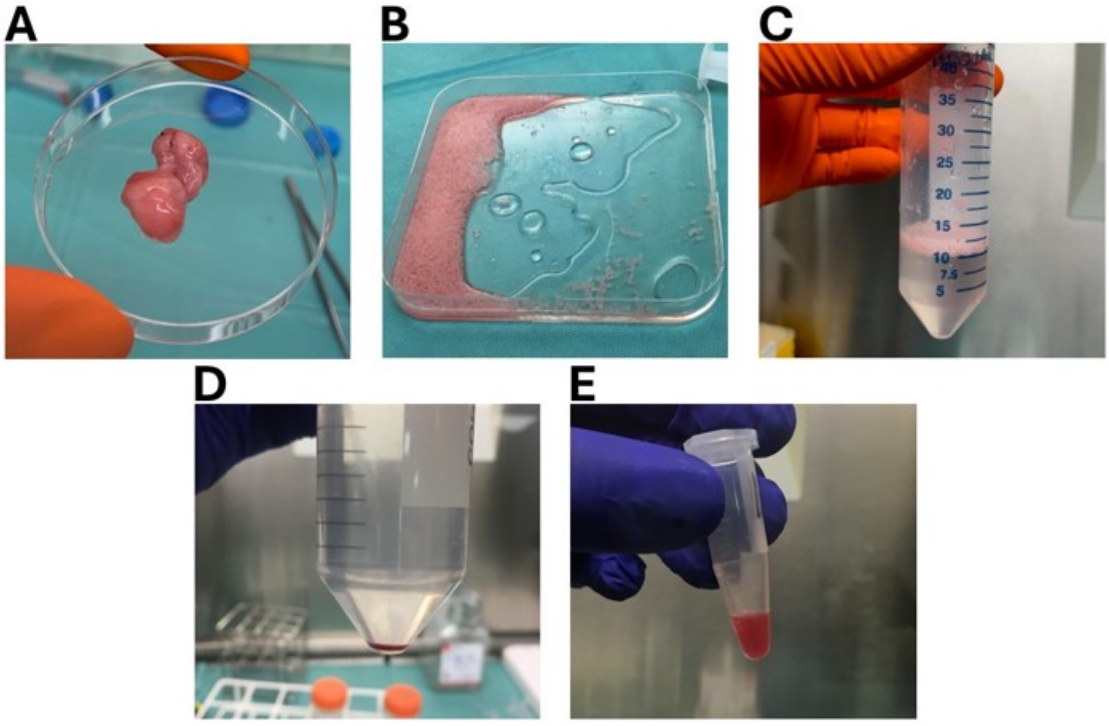


FIGURE 25 – **Étapes d'isolement de la fraction vasculaire stromale à partir du tissu adipeux épididymaire de rat. A)** Volume d'environ 1,3 ± 0,3 cm^3 de TA épididymaire de rat. **B)** Émincage du TA. **C)** Lavage du TA émincé au NaCl, détermination du volume de TA lavé et ajout de l'enzyme de digestion. **D)** Culot contenant les cellules de la FVS. **E)** Remise en suspension du culot cellulaire pour obtenir une solution cellulaire de concentration 1 million de cellules / 50 µl.

4.3.3 Méthodes d'administration

4.3.3.1 Dépôt de tissu adipeux humain mécaniquement activé

Dans nos études, des rats mâles ont été utilisés afin de s'affranchir du cycle menstruel et donc de limiter les potentiels effets neuroprotecteurs des hormones sexuelles féminines (DATTO et al., 2015).

La greffe cellulaire consistait à déposer 1 ml de GA sur la dure-mère de la moelle épinière lésée des rats, afin d'en recouvrir totalement la surface (voir Figure 2C de l'**Article I**). Les muscles et la peau sont ensuite refermés.

4.3.3.2 Injection de fraction vasculaire stromale

La FVS purifiée est injectée au site de la lésion par une injection sous-durale, de manière tangentielle par rapport à la surface dorsale de la moelle, à l'aide d'une seringue Hamilton® de 100 µl. Un volume de 50 µl de FVS contenant 1 million de cellules est injectée.

5 Articles de recherche

5.1 Article I. Activated Human Adipose Tissue Transplantation Promotes Sensorimotor Recovery After Acute Spinal Cord Contusion In Rats

Objectifs de l'étude

Le TA est une ressource thérapeutique précieuse en médecine régénérative en raison de sa composition cellulaire diversifiée, qui comprend des adipocytes, des péricytes, des macrophages, des lymphocytes T, des CPE et des CSA. Des recherches antérieures ont démontré que l'application de forces elliptiques au TA humain entraine une augmentation de la production de facteurs de croissance et anti-inflammatoires par les cellules activées. De plus, cette activation par stimulation mécanique entraine une augmentation de l'expression des gènes Nanog, Oct4 et Sox2 exprimés par les CSA, qui sont impliqués dans la pluripotence et l'auto-renouvellement cellulaire (Carelli et al., 2015, 2018). Une étude antérieure a évalué les effets thérapeutiques de la greffe de GA humain après une contusion thoracique médullaire chez la souris. Les auteurs ont montré que la greffe de GA a eu un effet neuroprotecteur sur la lésion et a réduit l'inflammation endogène post-lésionnelle, à travers une réduction de l'expression des facteurs pro-inflammatoires IL-1β, IL-6, IL-8 et TNF-α, et une augmentation de sécrétion du facteur anti-inflammatoire TSG-6. De plus, la greffe a entraîné une augmentation des gènes Nanog, Oct4 et Sox2, favorisant la survie du greffon et la prolifération cellulaire. La greffe a également favorisé la préservation tissulaire, la neurogenèse et la régénérescence axonale dans le tissu lésé, conduisant à une amélioration des récupérations sensorimotrices chez les souris atteintes de LME (Carelli et al., 2019).

Ces résultats encourageants ont été obtenus dans un modèle murin, caractérisé par une régénérescence axonale spontanée et une récupération fonctionnelle accrues après la LME. L'extension de ces résultats à un modèle de rat, dont la physiopathologie de la LME est plus

proche celle de l'Homme, est une étape indispensable pour une meilleure compréhension de la pertinence clinique de la greffe de GA dans le traitement des LME.

Ainsi, notre étude présentée dans l'**Article I** vise à évaluer les effets thérapeutiques de la greffe de GA sur les récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire aiguë au niveau T_{10} chez le rat.

L'hypothèse est que la greffe de GA réalisée immédiatement après une contusion de la moelle épinière thoracique chez le rat réduit la neuroinflammation post-lésionnelle, permet une épargne fonctionnelle, rétablit l'intégrité fonctionnelle des réseaux neuronaux locaux et la communication avec les centres supraspinaux, et améliore les récupérations sensorimotrices.

cells

MDPI

Article

Activated Human Adipose Tissue Transplantation Promotes Sensorimotor Recovery after Acute Spinal Cord Contusion in Rats

Maxime Bonnet [1,†], Céline Ertlen [1,†], Mostafa Seblani [1], Jean-Michel Brezun [1], Thelma Coyle [1], Cristina Cereda [2], Gianvincenzo Zuccotti [3,4], Mattia Colli [5], Christophe Desouches [6], Patrick Decherchi [1,‡], Stephana Carelli [2,3,*,‡] and Tanguy Marqueste [1,*,‡]

[1] Aix Marseille Univ, CNRS, ISM, UMR 7287, Institut des Sciences du Mouvement: Etienne-Jules MAREY, Equipe «Plasticité des Systèmes Nerveux et Musculaire» (PSNM), Parc Scientifique et Technologique de Luminy, CC910-163, Avenue de Luminy, CEDEX 09, F-13288 Marseille, France; jean-michel.brezun@univ-amu.fr (J.-M.B.); patrick.decherchi@univ-amu.fr (P.D.)
[2] Center of Functional Genomics and Rare Diseases, Department of Paediatrics, Buzzi Children's Hospital, Via Ludovico Castelvetro 32, 20154 Milano, Italy
[3] Pediatric Clinical Research Center «Romeo ed Enrica Invernizzi», Department of Biomedical and Clinical Sciences, University of Milano (UNIMI), Via G.B. Grassi 74, 20157 Milan, Italy; gianvincenzo.zuccotti@unimi.it
[4] Department of Paediatrics, Buzzi Children's Hospital, Via Ludovico Castelvetro 32, 20154 Milano, Italy
[5] Podgora7 Clinic, Via Podgora 7, 20122 Milano, Italy
[6] Clinique Phénicia—CD Esthétique, 5 Boulevard Notre Dame, F-13006 Marseille, France
* Correspondence: stephana.carelli@unimi.it (S.C.); tanguy.marqueste@univ-amu.fr (T.M.); Tel.: +39-(0)2-50-32-18-3 (S.C.); +33-(0)4-13-94-59-78 (T.M.)
† These authors contributed equally to this work.
‡ These authors also contributed equally to this work.

Abstract: Traumatic spinal cord injuries (SCIs) often result in sensory, motor, and vegetative function loss below the injury site. Although preclinical results have been promising, significant solutions for SCI patients have not been achieved through translating repair strategies to clinical trials. In this study, we investigated the effective potential of mechanically activated lipoaspirated adipose tissue when transplanted into the epicenter of a thoracic spinal contusion. Male Sprague Dawley rats were divided into three experimental groups: SHAM (uninjured and untreated), NaCl (spinal cord contusion with NaCl application), and AF (spinal cord contusion with transplanted activated human fat). Pro-inflammatory cytokines (IL-1β, IL-6, TNF-α) were measured to assess endogenous inflammation levels 14 days after injury. Sensorimotor recovery was monitored weekly for 12 weeks, and gait and electrophysiological analyses were performed at the end of this observational period. The results indicated that AF reduced endogenous inflammation post-SCI and there was a significant improvement in sensorimotor recovery. Moreover, activated adipose tissue also reinstated the segmental sensorimotor loop and the communication between supra- and sub-lesional spinal cord regions. This investigation highlights the efficacy of activated adipose tissue grafting in acute SCI, suggesting it is a promising therapeutic approach for spinal cord repair after traumatic contusion in humans.

Keywords: fat; reflex; inflammation; sensorimotor; paraplegia; neuroprotection; injury

check for updates

Citation: Bonnet, M.; Ertlen, C.; Seblani, M.; Brezun, J.-M.; Coyle, T.; Cereda, C.; Zuccotti, G.; Colli, M.; Desouches, C.; Decherchi, P.; et al. Activated Human Adipose Tissue Transplantation Promotes Sensorimotor Recovery after Acute Spinal Cord Contusion in Rats. *Cells* **2024**, *13*, 182. https://doi.org/10.3390/cells13020182

Academic Editors: Brandon Lucke-Wold and William Dodd

Received: 23 November 2023
Revised: 9 January 2024
Accepted: 15 January 2024
Published: 17 January 2024

Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

From a societal point of view, the incidence of spinal cord injury (SCI) exhibits regional and international variability, reflecting the influence of diverse factors such as the expanding scope of human activities. In 2013, the World Health Organization reported a staggering 500,000 new cases of SCI annually worldwide. A comprehensive meta-analysis encompassing studies from 23 developing countries revealed an overall incidence rate of 22.55 cases per million inhabitants per year [1].

Individuals with spinal cord injuries have a significantly reduced life expectancy compared to healthy individuals [2]. This is due to an increased probability of developing secondary disorders such as respiratory, cardiovascular, and digestive diseases, cancer, urinary dysfunction, and sepsis [2–5]. In addition to the profound physical and emotional toll, SCI imposes a substantial financial burden, encompassing hospital treatment costs and implications for both patients and their families [6,7]. The costs associated with SCI can be categorized into three phases: immediate medical intervention, direct costs, and indirect costs. In the United States, immediate medical interventions required to treat the injury and stabilize the patient's condition range from USD 92,220 to USD 337,400 [8]. Annual direct costs encompass expenses related to the long-term management of SCI, including regular medical care and rehabilitation treatments, ranging from USD 27,437 to USD 69,469 [9]. Additionally, annual indirect costs associated with managing and adapting to life with SCI fall within the range of USD 35,246 to USD 100,838 [10].

From a pathophysiological point of view, SCI is a severe condition that compromises the sensory, motor, and autonomic functions of the body, significantly affecting patients' overall quality of life, including their psychological and psychosocial well-being [6,7,11]. Functional studies reported changes in the connectivity of cortical sensorimotor regions after SCI [12]. MRI investigations have recently shown increased sensorimotor network connectivity in complete SCI, indicating that the connectivity had changed because of post-injury events [13]. Indeed, the pathogenesis of SCI unfolds through a primary mechanical trauma followed by a secondary cascade of cellular and molecular events, contributing to the propagation of tissue damage. This intricate sequence of events culminates in the impairment or malfunction of crucial neural relay circuits that govern respiratory function, motor skills, bladder control, autonomic regulation, and may also induce sensory dysfunctions [10]. In rodents, spinal cord contusion disrupts various spinal tracts situated in both the white matter and central gray matter, resulting in alterations to the neural circuitry. Studies have demonstrated that the disruption of these circuits strongly correlates with locomotor and neuron impairments, particularly in the spared white matter (WM). The WM houses critical tracts, such as the reticulospinal, spinothalamic, posterior column-medial lemniscus, and propriospinal tracts, and the degree of preservation in these regions significantly influences motor and sensory outcomes [14,15]. These events which follow the SCI have been highly investigated and reviewed [16]. Briefly, the primary injury, caused by mechanical impact, triggers a cascade of complex secondary processes, including inflammation, excitotoxicity, oxidative stress, demyelination, and cell death. These contribute to further spinal cord degeneration, consolidation of functional deficits, and impairment of the recovery [16]. Thus, a more precise understanding of SCI resultant lesional environment variability could clarify differences in endogenous plasticity and repair responses [17].

Even if recent clinical trials have demonstrated that spinal neurostimulation allowed some patients to regain the ability to move [18,19] and transplantation of olfactory ensheathing cells (OECs) allowed patients with partial SCI to regain motor function [20], all clinical strategies proposed to limit the progression of the damage and to improve outcomes in SCI (including high-dose administration of methylprednisolone, surgical interventions for vertebra stabilization and tissue decompression, and rehabilitative care), showed that the functional preservation and recovery in patients with complete SCI still remains unsatisfactory [21–26].

Basic research on animal models has also extensively explored various strategies aimed at protecting damaged spinal cord, reducing secondary injury, inhibiting glial scar formation, and promoting axonal regeneration [27,28]. Among these strategies, cellular therapies have emerged as a promising approach for repairing SCI through transplantation of various cell types. Indeed, neural stem and progenitor cells (NPCs), oligodendrocyte progenitor cells (OPCs), mesenchymal stem cells (MSCs), Schwann cells, OECs, and emerging stem cell scaffolds have all shown a potential for inducing functional improvement after SCI in animal studies [29–34]. The latter cell types were investigated for their neurotrophic and neuroprotective abilities, replacement of dead cells, immunomodulation, axon sprouting

and/or regeneration, and myelinization [29,31,35]. The diverse mechanisms of action exhibited by these cell types makes them potential candidates for cell therapy in SCI treatment. However, despite promising results in preclinical studies, the translation of these strategies to clinical trials has not led to significant solutions for SCI-affected patients [21,23,26,30,36]. There remains a critical need to explore novel therapeutic approaches able to effectively address the complex pathophysiology of SCI and promote functional recovery in patients.

The use of adipose tissue as a therapeutic approach for SCI looks very promising. Contrary to what has long been thought, adipose tissue does not only contain mature adipocytes, but it is a true endocrine organ, secreting many protective adipokines such as leptin, angiotensinogen, resistin, visfatin, and adiponectin [37–40]. It is also an abundant source of cells such as preadipocytes, fibroblasts, pericytes, macrophages, T-cells, endothelial progenitor, and mesenchymal stem cells (MSCs). These MSCs are also called adipose-derived stem cells (ADSCs); they exhibit neuronal markers and have high regenerative potential due to their ability to differentiate into other tissue types [33,41–45]. Compared to other sources of MSCs, subcutaneous adipose tissue can be easily accessed with minimal patient discomfort, and the isolation procedures for obtaining ADSCs are easier [32,46,47]. Indeed, in experimental rat models of SCI, ADSCs were found to promote functional recovery and neovascularization [48,49]. However, although clinical trials using autologous transplantation of ADSCs to treat acute SCI have shown some improvement in terms of motor function, bladder function, and daily living, recovery has remained insufficient [50].

With respect to functional recovery, recent studies have shown that mechanical forces applied to the adipose tissue can improve its protective and regenerative properties. Specifically, these effects were obtained by upregulating the expression of anti-inflammatory cytokines, like TNF-α-stimulated gene-6 (TSG-6), and favoring the expression of endogenous neural markers in the treated spinal cord [33,43]. This mechanical activation triggers mechano-transduction pathways which involve ion channels, growth factors, cytoskeletal filaments, focal adhesions, and tyrosine kinases [33,51–53]. These pathways lead to signals which communicate messages to the nucleus to modulate gene expression [33,43,54,55]. As the need for prolonged in vitro cell culture is eliminated, this approach provides a more convenient and faster procedure, constituting a promising approach to providing MSCs for SCI treatment [33].

In this study, we aimed to investigate the regenerative potential of mechanically activated lipoaspirated human adipose tissue transplanted into the epicenter of lesioned spinal cord in a reproducible and widely used rat experimental model [56]. We investigated the benefit of using mechanically activated fat in an experimental model of acute spinal cord contusion in rats and focused on sensorimotor recovery, the neural networks involved, and supraspinal modulation. The transplantation was performed immediately after the contusion, and the treated rats were compared to control animals without SCI (SHAM group) and to lesioned animals which received a saline solution (NaCl group). To assess sensorimotor recovery, we conducted a weekly evaluation using the BBB locomotor rating scale [57] and ladder rung climbing test [58,59] for 12 weeks, both before (PRE-) and after the lesion (W1 to W12). Additionally, a separate group of animals was sacrificed two weeks post-injury to evaluate the potential anti-inflammatory effect exerted by the fat transplant [60]. At the end of the sensorimotor evaluation period, gait analysis was performed. Finally, to assess the functioning of the sensorimotor loops under the lesion and the control of supraspinal levels, animals were anesthetized for electrophysiological recording to investigate H-reflex and ventilatory adjustment to muscle fatigue [61].

2. Materials and Methods

2.1. Animals

The experiments were performed on 33 adult male Sprague Dawley rats, weighing between 180 and 200 g (Centre d'Élevage Roger JANVIER®, Le Genest Saint Isle, France), hosted two per cage in smooth-bottomed plastic cages in a laboratory animal house main-

tained on a 12:12 h light/dark photoperiod and at 22 °C. Drinking water and rat chow (Safe®, Augy, France) were available ad libitum. The animals were housed in the animal facility for 2 weeks before the initiation of the experiment. This habituation period allowed the decrease of inter-individual differences in order to reach optimal performance. At the end of this period, PRE-values for each behavioral test (BBB test, ladder-climbing test, and gait analysis) were recorded.

2.2. Ethical Considerations

The experiments were conducted according to the French legislation (decrees and orders N°2013-118 of 1 February 2013, JORF n°0032) concerning animal care guidelines on animal experimentation and following the approval by the Animal Care Committees of Aix-Marseille Université (AMU) and Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). The authorization number granted by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (MESRI) is APAFIS#32782. All persons are licensed to conduct live animal experiments and all experimental rooms have a national authorization to accommodate animals (license n°B13.013.06). Furthermore, the experiments were performed in accordance with the recommendations provided in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health), with the directives 86/609/EEC and 010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 24 November 1986 and of 22 September 2010, respectively, and with the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines.

After surgery, the animals were placed under a heat lamp until their thermoregulation was restored. The health status of the animals was monitored daily, and any animals showing signs of distress such as vocalization, lethargy, hyperactivity, significant weight loss (15 to 20% of initial weight), and self-mutilation behavior were euthanized. All animals operated on received subcutaneous injections (3 mL) of glucose-enriched saline solution to replace the fluid lost during the surgical procedure two to three times per day until they were able to drink and eat on their own. Buprenorphine (0.03 mg/kg, 0.3 mg/mL, Bruprécare® Multi-dose, Axience Santé Animale SAS, Pantin, France) was administered subcutaneously daily for 5 days, and amoxicillin trihydrate (Clamoxyl® L.A, 800 mg, Zoétis France S.A.S, Malakof, France) was diluted (13–20 mg/kg) in drinking water for 1 week to prevent any bacterial infections. If necessary, bladder expression was manually performed at least twice a day. Postoperative nursing care also included visual inspection for skin irritation or pressure ulcers, followed by cleansing the hindquarters with soap and water and rapid drying of the fur with a towel.

2.3. Fat Collection, Purification, and Mechanical Activation

Liposuction aspirates from peri-umbilical subcutaneous adipose tissue were obtained from 3 healthy young adult women volunteers (27.67 $\pm$ 1.33 years old) undergoing elective plastic surgery procedures. The protocol was reviewed and approved by the Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HP) before the study. The liposuction procedure was performed after the consent obtained from the informed donors by signing a specific informed consent form.

Local anesthesia was achieved with an infiltration of lidocaine hydrochloride (Xylocaine® 20 mg/mL, Aspen Pharmacare Canada Inc., Oakville, ON, Canada). As part of the procedure, a solution of saline and epinephrine (2 µg/mL) was infused into the adipose compartment to minimize blood loss and reduce infiltration by peripheral blood cells.

To activate the lipoaspirated adipose tissue, a method described in previously published research was followed [33,43]. Briefly, 10–15 mL of lipoaspirated adipose tissue was mechanically activated by orbital shaking at a speed of 97$\times$ g ($N{\cdot}kg^{-1}$) for a period of 7 min at room temperature. The fat was activated 30–60 min before transplantation. The resulting product was referred to as mechanically activated lipoaspirate or activated fat (AF).

To demonstrate that the procedure of activation of lipospirated adipose tissue does not significantly alter the vitality of the tissue, we isolated human adipose tissue cells using

a procedure previously described [19]. Briefly, 1 cm^3 of AF was plated in a dish (10 cm diameter) and the growth medium was added without covering the tissue and allowing its adhesion to the bottom surface of the dish. After a few days in culture at 37 °C and 5% CO_2, the cells started to grow and after 15–21 days the cells reached 50% confluence. The obtained cells were expanded and characterized for the expression of endothelial, hematopoietic, and mesenchymal markers.

2.4. Experimental Groups and Design of the Study

Following a two-week period of acclimatization, during which the animals underwent familiarization sessions lasting one hour per day, three days per week, involving the open-field test (BBB test), inclined ladder test (ladder-climbing test), and walking corridor (gait analysis), reference values (PRE-) were measured for each behavioral test. Subsequently, the animals were randomly allocated to the three experimental groups: (1) SHAM (n = 11), where a surgery with a laminectomy without spinal lesion was performed; (2) NaCl (n = 11), where a thoracic T10 contusion was induced (W0), followed by immediate application of NaCl on the lesion area; and (3) AF (n = 11), where 150 µL of mechanically activated human adipose tissue was applied immediately after contusion to the exposed dura mater of the spinal cord around the lesion area.

Two weeks (W2) after the injury, a subset of these animals from each group (n = 5 per group) was sacrificed to assess endogenous inflammation at the site of the spinal lesion. The remaining animals (n = 18; 6 animals in each group) were subjected to weekly assessments of sensory and motor recovery in the hindlimbs. Baseline measurements were taken one week prior to the injury (PRE-), and evaluations were continued from one week post-injury (W1) up to twelve weeks (W12) thereafter. The recovery progress was monitored using behavioral tests, namely, the BBB (Basso–Beattie–Bresnahan) and ladder-climbing tests. At the end of the twelve-week period (W12), a gait analysis test was performed, and sensorimotor loops were evaluated through electrophysiological recordings of the M-wave and H-reflex below the lesion site. Additionally, after inducing muscle fatigue, the medullary ventilatory center was evoked via the metabosensitive pathway. The chronological order of our protocol is schematically shown in Figure 1.

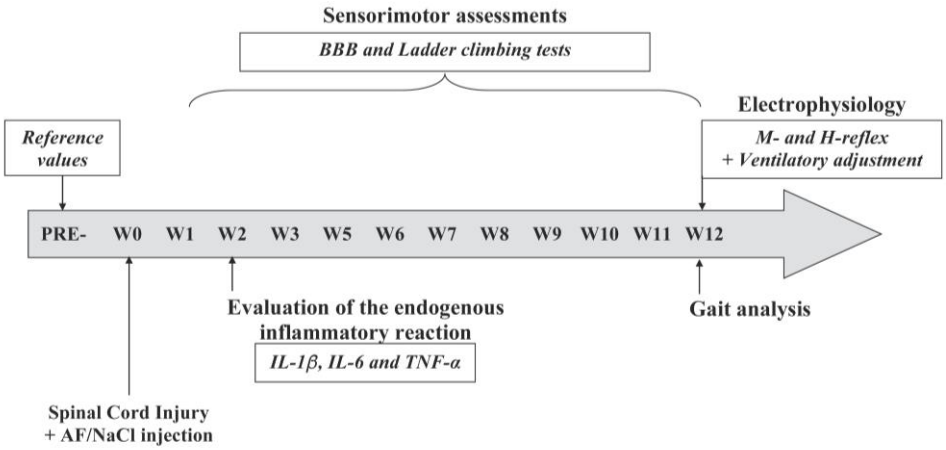


Figure 1. Experimental protocol. One week before the surgery, baseline values (PRE-) for each functional test were recorded. The surgery and the application of saline and activated fat were performed at W0. Subsequently, sensorimotor recovery was measured once a week for 12 weeks (from W1 to W12) using behavioral tests (BBB and ladder-climbing tests). The endogenous inflammatory response was analyzed at W2 (2 weeks after the injury). At the end of W2, a gait analysis test was performed, and electrophysiological tests recorded the M-wave and the H-reflex.

2.5. Surgical Procedure for the SCI

As previously described [56], the surgical procedure for exposing and damaging the spinal cord consisted firstly of anesthetizing the rat with an intraperitoneal injection of

a mixture containing ketamine hydrochloride (75 mg/kg, 100 mg/mL, Ketamidor®, Axience S.A.S., Pantin, France) and medetomidine hydrochloride (0.5 mg/kg, 0.85 mg/mL, Domitor®, Vetoquinol, S.A., Lure, France), along with an injection of buprenorphine (0.03 mg/kg, 0.3 mg/mL, Bruprécare® Multi-dose, Axience, Axience S.A.S., Pantin, France). The animal was placed in a ventral decubitus position, and the back was shaved and disinfected with a 10% povidone-iodine solution (Vétédine® Solution, Vetoquinol S.A, Lure, France).

A midline dorsal incision was made over the T6-T13 spinous processes, and the superficial muscles were retracted using retractors to expose the thoracic vertebrae. A dorsal laminectomy was performed at the T10 level to expose the spinal cord without compromising its integrity. The dura mater was left intact, and stabilization clamps were placed at the posterior processes of vertebrae T9 and T11 to support the vertebral column during traumatism.

Spinal cord contusion was induced at the 10th thoracic vertebra (T10) level using an IH-0400 weight-drop impactor (Infinite Horizon Impactor®, Precisions Systems and Instrumentation, LLC, Lexington, KY, USA). The impact strength was set at 200 kdyn, considered by previous studies to be a moderate [15] or a severe [62] lesion for animals of equivalent weight.

Following SCI, the animals in the NaCl and AF groups received either NaCl or an AF application, respectively, to the exposed dura mater at the lesion site (Figure 2). The muscles and the skin were then closed using synthetic (polyglactine 910 thread coated with polyglactine 370 and calcium stearate) and absorbable and braided sutures (Vicryl® 3-0) for muscle and skin, respectively (Ethicon®, Issy-les-Moulineaux, France).

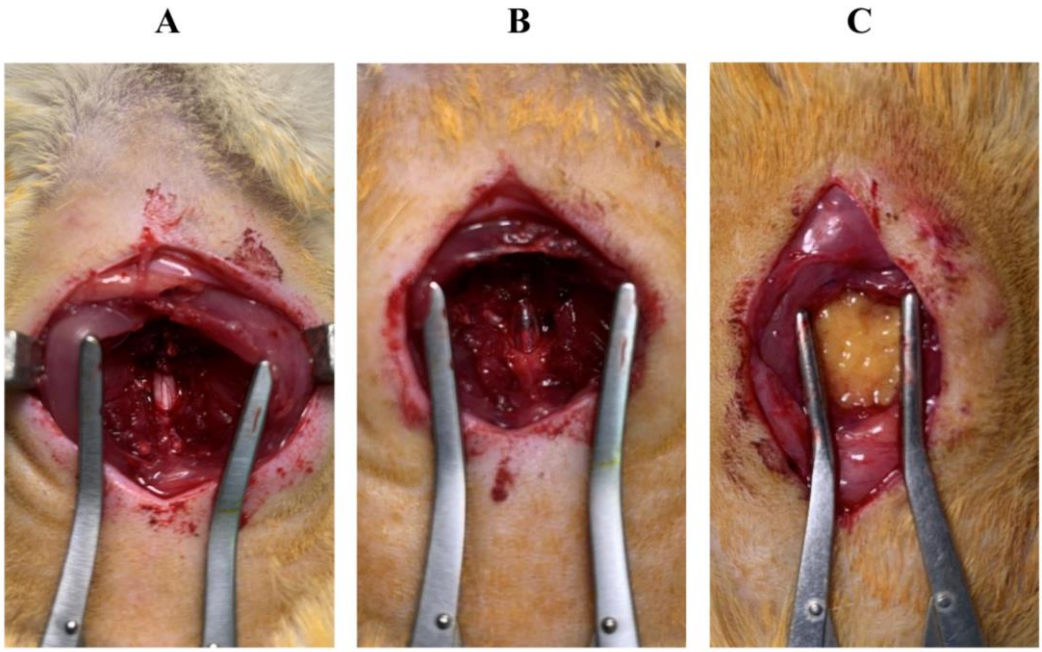


Figure 2. Exposed spinal cord. (**A**) Before the lesion. (**B**) After the contusion. (**C**) After transplantation. The contused spinal cord was covered with activated fat before the wounds were closed.

2.6. Endogenous Inflammation

Two weeks (W2) after the SCI and transplantation, the endogenous inflammatory response at the lesion site was assessed as previously described [56]. Briefly, after euthanasia, a segment of the spinal cord extending 5 mm rostral and caudal to the injury site was carefully harvested and immediately immersed in isopentane. The samples were then stored at −80 °C until further analysis.

Once all the collected samples were ready, the samples were shortened by around 1 mm rostral and caudal to the lesion. They were then individually homogenized in

1 mL of phosphate buffer saline (PBS) using a handheld homogenizer (Ika Ultra Turrax® disperser, Fisher Scientific SAS, Illkirch, France) equipped with plastic pestle tips which facilitate tissue homogenization through vibrating motions. The resulting mixtures were subsequently centrifuged (Sigma 2-16 PK Centrifuge, Fisher Scientific SAS, Illkirch, France) for 12 min at 12,000× *g* and 4 °C. A fraction of the supernatant (50 µL) containing soluble proteins was used for the evaluation of pro-inflammatory cytokines.

The concentrations of pro-inflammatory cytokines (interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor-alpha (TNF-α)) were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits that included specific antibodies (RAB0272, RAB0311, and RAB0480; Sigma Aldrich®, Saint-Quentin Fallavier, France), following the manufacturer's instructions. All samples were run in duplicate, and the absorbance was read at a wavelength of 450 nm using a microplate reader (Multiskan® Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific, Life Technologies SAS, Courtaboeuf, France). Concentrations were determined by referencing a standard curve and considering the weight of the tissue prior to homogenization. Consequently, the levels of cytokines were expressed as picograms per gram (pg/g) of spinal cord tissue.

2.7. Evaluation of Hindlimb Recovery

Prior to the surgery, baseline reference values (PRE-) for each behavioral test were measured. Subsequently, for a period of 12 weeks, starting from one week after the injury (W1) and until the twelfth week (W12), the BBB and ladder-climbing tests were conducted once a week. At W12, gait analysis data were collected. Throughout these assessments, the experimenters involved in the data collection were blinded to the treatment group, ensuring unbiased evaluations.

BBB test. The locomotor functions were assessed using the Basso–Beattie–Bresnahan (BBB) test [57]. The test involved placing the animals in a circular Plexiglas® enclosure arena with an anti-slip floor, measuring 95 cm in diameter and 40 cm in wall height. The animals were allowed to freely walk in the open-field environment, and their locomotion was recorded using a camcorder (GoPro Hero11®, GoPro, Inc., San Mateo, CA, USA). The duration of each session was 4 min. The analysis of locomotor score was performed later using the BBB scale, which consists of 22 levels representing different stages of locomotion, ranging from complete paralysis (level 0) to normal locomotion (level 21). For each rat, the scores of the two hindlimbs were averaged to obtain a single score for each test session.

Ladder-climbing test. Fine sensorimotor coordination was tested during climbing of a 45°-inclined ladder (100 mm × 1500 mm). This test does not require conditioning and evaluates the capacity of the animals to correctly place their paws on round metal rungs (4 mm in diameter) spaced at equal intervals of 20 mm, with 150 mm high side walls [56,59,61,63]. The animals were placed at the bottom of the ladder, and their climbing behavior was video-recorded from a position below the ladder, providing a ventral view of both hindlimbs using a camcorder (GoPro Hero11®). At the top of the ladder, the animals had access to a dark box. The video recordings were carefully analyzed using slow-motion playback. The placement of the hind paws on the ladder rungs was scored as follows: 0: hindlimb hanging in front of or behind the rungs without supporting climbing, 1: hindlimb used to support climbing but hind paw not placed correctly on the rung, and 2: hind paw correctly placed on the rung, maintaining the position while the trunk and the contralateral limb moved upward. The scores obtained on each side were averaged, and a climbing score ranging from 0 (no successful grip with the hind paws) to 20 (climbing 20 rungs of the ladder without faults, i.e., 10 grips with each hind paw) was calculated. To evaluate the progress of the animals over time, the mean climbing score ratio obtained at each session was expressed as a percentage of the mean ratio obtained at week 0 (PRE-).

Gait analysis. Motor function and coordination were quantitatively assessed using a custom-made gait analysis system. The system consisted of a long glass walking plate placed in a corridor (110 cm long, 8 cm wide, with opaque walls 15 cm tall), a fluorescent light directed onto the glass plate, and a camcorder (GoPro Hero11®) positioned beneath

the glass plate. The recordings were conducted in a dark environment, with the footprints of the animal generating a downward reflection of the light which was recorded on the video. To obtain data, the animal needed to achieve at least a weight-supported stepping (BBB score of 9 or higher) [64,65]. The animal performed unforced and uninterrupted crossings on the glass walkway at least three times. For each run, average values were calculated for further analysis of the parameters.

Gait analysis parameters were collected for each animal. The first and last steps, which correspond to the run-up and slow-down phases, were excluded [66]. Their five best consecutive steps were chosen based on the limit length of the device corridor. This method was used to best represent the walking performance. Data analysis was performed using a customized function developed in the MATLAB R2022b environment (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA). The function was based on the MouseWalker system [67], with the added feature that any incorrectly labeled footprints were manually corrected frame by frame.

The following parameters were studied to evaluate motor function and coordination during gait analysis:

− Average speed: The speed of forward locomotion across the runway, measured in centimeters per second (cm/s).
− Stride length: The distance between successive placements of the same paw, measured in centimeters (cm).
− Stance phase: The duration of paw contact with the glass plate, measured in seconds (s).
− Swing phase: The duration during which the paw was not in contact with the glass plate, measured in seconds (s).
− Step cycle: The time between two successive placements of a single paw, calculated as the sum of the stance and swing phases, measured in seconds (s).
− Phase dispersion: This parameter evaluated the synchrony of the initial contact between pairs of limbs. It indicates the timing between the first contacts of paw pairs (e.g., RF-LH) relative to the step cycle of the anchor paw. Phase dispersion is expressed as a percentage (%).
− Step sequence patterns: The stepping patterns were categorized as normal when the animal sequentially placed its four paws in an alternating, cruciate, or rotating pattern.
− Regulatory index (RI): This index measures the degree of coordination among the limbs and is expressed as a percentage (%).

2.8. Electrophysiological Recordings

At 12 weeks post-injury (W12), the animals underwent electrophysiological recordings after being prepared according to previously described procedures [56,61,68,69]. Briefly, animals were initially sedated with isoflurane (3–5% in oxygen, Isoflo® 100%, Zoetis SAS, Malakoff, France). Then, to ensure deep anesthesia, a mixture containing ketamine hydrochloride (75 mg/kg, 100 mg/mL, Ketamidor®) and medetomidine hydrochloride (0.5 mg/kg, 0.85 mg/mL, Domitor®) was administered via an intraperitoneal injection. The peroneal nerves from both hindlimbs were carefully dissected free from the surrounding tissues. This step allowed for nerve stimulation during the electrophysiological recordings. The Tibialis anterior muscles from both hindlimbs were exposed to facilitate electromyographic (EMG) recording and stimulation.

Physiological reflexes. As previously described, ventilatory adjustments were measured through a cannula inserted into the trachea during and after the Tibialis anterior muscles' stimulation [41,52,53,55,58,59]. The changes induced by electrically induced muscle fatigue (EIF) were expressed as a percentage (Δcycle/min (%)) of the mean cycles recorded two minutes before the muscle stimulation.

M- and H-waves. As previously described, the Tibialis anterior muscles' M- and H-waves were recorded after electrical stimulation of the peroneal nerve [56,68–73]. The rate-dependent depression (RDD), also known as rate-sensitive depression (RSD), frequency-related depression (FRD), frequency-dependent depression (FDD), or low-frequency depression (LFD) was examined. For that, the Hmax and Mmax were recorded and the

Hmax/Mmax ratio was calculated at different stimulation frequencies (1, 5, and 10 Hz) and compared to the Hmax/Mmax ratio obtained at the baseline frequency of 0.3 Hz. This analysis allowed for the assessment of the decrease in reflex magnitude relative to the repetition rate of stimulation.

2.9. Euthanasia

According to ethical recommendations, at the end of the electrophysiological recordings, animals were killed with an i.p. overdose of pentobarbital sodium (390 mg/kg, Euthasol® Vet.) and the spinal cord was removed and stored at −80 °C for future analysis.

2.10. Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using the SigmaStat–SigmaPlot 14.0 software environment for statistical computing (SigmaStat®, San Jose, CA, USA) and GraphPad Prism 8.0.2 for graphics (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA, USA). The analysis of the ELISA data was performed using a one-way design experiment (groups factor), with a Kruskal–Wallis one-way analysis of variance, followed by a Dunn test. For two-way design experiments (groups factor × time or stimulation frequency factor) we used Scheirer–Ray–Hare, followed by a Dunn test, allowing a comparison of behavioral scores from all groups and over time and Hmax/Mmax ratios from all groups. Data were expressed as median ± SD and differences were considered to be significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Expression of Mesenchymal Markers

In vitro characterization of cell cultures from AF showed that expanded cells expressed endothelial, hematopoietic, and mesenchymal markers (Figure 3).

A

	Endothelial	Hematopoietic			Mesenchymal								
	CD31	CD34	CD45	CD133/2	CD44	CD56	CD73	CD90	CD105	CD144	CD146	CD166	KDR
S1	14.25±3.4	3.24±0.9	4.07±1.9	4.25±0.4	97.15±3.2	3.96±1.2	97.55±2.4	98.69±0.7	95.87±4.4	4.75±2.3	8.08±2.8	57.75±10.4	3.3±1.4
S2	18.84±0.8	4.87±1.6	2.07±0.8	0.8±1.2	89.14±10.4	6.53±1.5	99.54±1.1	99.94±0.5	96.18±3.2	4.89±2.1	10.18±1.6	92.21±6.2	9.53±2.1

B

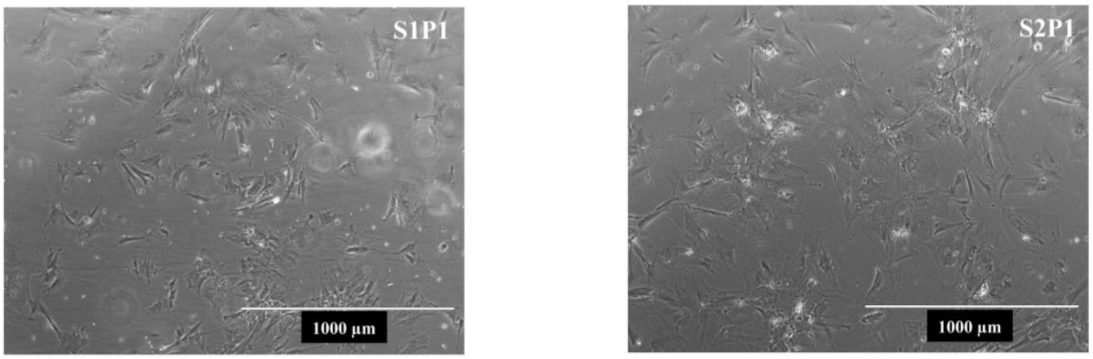


Figure 3. In vitro characterization of human adipose tissue cell cultures from AF. (**A**) Expression of cell surface markers. All percentages were obtained by flow cytometry analysis [27]. Results are expressed as mean ± SD of three independent experiments. (**B**) Live morphology of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (hADSCs) obtained from AF. Pictures refer to two different preparations (sample 1: S1, and sample 2: S2) kept in culture at passage 1 (P1).

3.2. Animals

After SCI, all animals exhibited dramatic and bilateral hindlimb paralysis with no movement or only slight joint movements. Throughout the experimental period, the weight of the animals did not show any significant drop, indicating that their overall health and nutritional status were maintained. Furthermore, we did not observe any significant

difference in terms of body weight among the different groups at W12. The mean weight of all rats was 280 ± 5 g at the beginning of the experiment and 660 ± 30 g, 648 ± 43 g, and 652 ± 36 g at W12 in the SHAM, NaCl, and AF groups, respectively.

3.3. Endogenous Inflammation

Measurement of IL-1β, IL-6, and TNF-α concentrations at the lesion site revealed differences in the inflammatory response among the groups two weeks after the SCI. Specifically, the SHAM and AF groups exhibited a lower level of pro-inflammatory cytokines compared to the NaCl group. Indeed, compared to the NaCl group, the concentrations of IL-1β, IL-6, and TNF-α were significantly lower ($p < 0.001$) in the SHAM group and the concentrations of IL-6 and TNF-α were significantly lower ($p < 0.05$) in the AF group. No difference was found between the SHAM and AF groups with respect to the concentrations of IL-6 and TNF-α. Only, the concentration of IL-1β was higher ($p < 0.01$) in the AF group compared to the SHAM group (Figure 4).

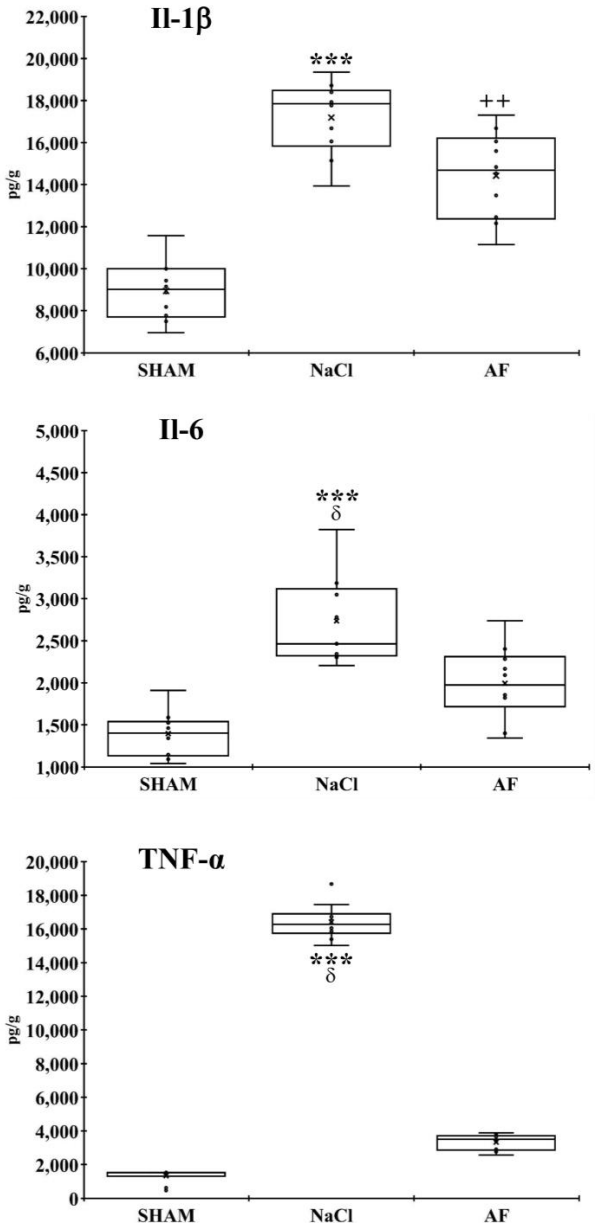


Figure 4. Inflammatory reaction at the lesion site. Concentrations of IL-1β, IL-6, and TNF-α at the site of injury in the SHAM, NaCl, and AF groups, two weeks post-injury indicated that the level of

inflammation was higher in the NaCl group compared to the two other groups. Measurements were performed twice. Significant difference is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group), + (AF group vs. SHAM group), or δ (NaCl group vs. AF group); 1 symbol, $p < 0.05$; 2 symbols, $p < 0.01$; and 3 symbols, $p < 0.001$. x and ● indicate the mean and individual response, respectively. n = 5 per group.

3.4. Behavioral Tests

BBB test. The analysis of the BBB scores revealed a significant drop ($p < 0.001$) at W1 in all groups with spinal cord lesions (NaCl and AF) compared to pre-injury (PRE-) scores. Although the scores of these two groups remained lower than the SHAM group throughout the study, a slow recovery was observed during the following eleven weeks. Specifically, in the AF group the improvement in the BBB score was significantly appreciable already at W1 post-injury. Moreover, the improvement in the AF-treated group was continuous for the following observational period. At W12, the NaCl group achieved a score of 12 ± 0.52, indicating an intermediate stage characterized by intervals of uncoordinated stepping. Interestingly, the AF group showed a higher score of 16 ± 4.59, indicating a late stage characterized by consistent forelimb and hindlimb coordination with consistent weight support (Figure 5).

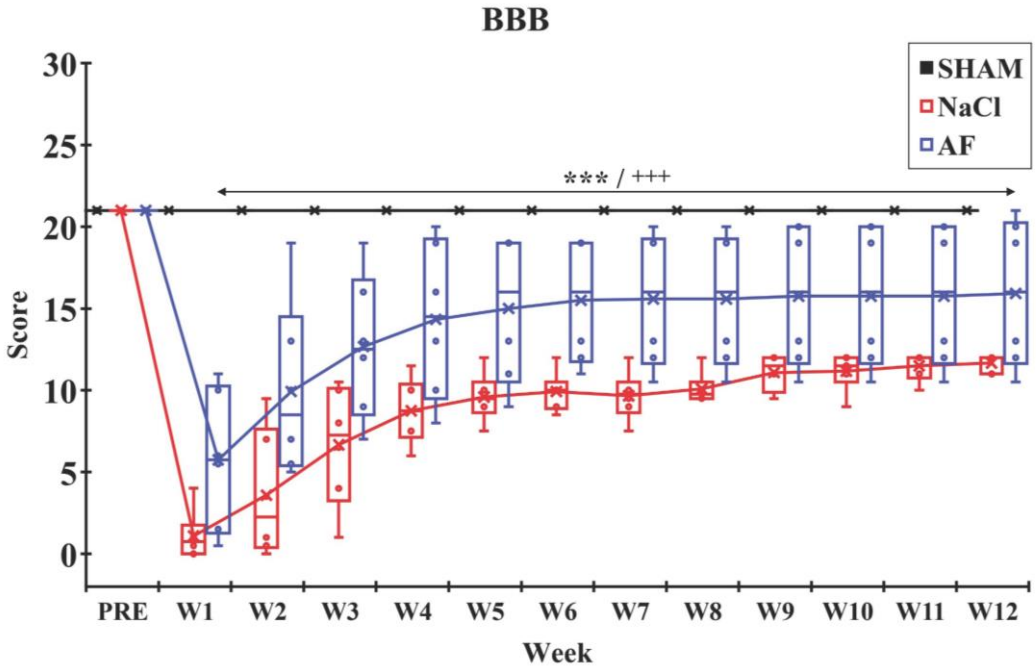


Figure 5. BBB locomotor rating scale. After the SCI, the BBB score in each injured group dropped significantly, and then a recovery was observed until W12. Data indicate a faster recovery in the AF group compared to the NaCl group. Significant difference in the BBB scores is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group) or + (AF group vs. SHAM group); 3 symbols, $p < 0.001$. x and ● indicate the mean and individual response, respectively. n = 6 per group.

Ladder-climbing test. The analysis of the ladder-climbing scores during the 12 weeks following the surgery revealed distinct patterns between the un-lesioned SHAM group and the two lesioned groups (NaCl and AF). The SHAM group demonstrated relatively stable scores, close to the maximal pre-surgery values, throughout the study period. In contrast, both lesioned groups showed a significant drop ($p < 0.001$) in scores at W1 post-surgery. Even though the scores in the two lesioned groups remained lower than the SHAM group over the 3-month period, interestingly, in the AF group, a fast recovery was observed from W3 to W6, indicating an improvement in climbing ability during this period. Furthermore, at W12, the score in the NaCl group (37.88 ± 8.10%) did not reach the score of the AF group (63.87 ± 32.20%) (Figure 6).

Cells **2024**, *13*, 182

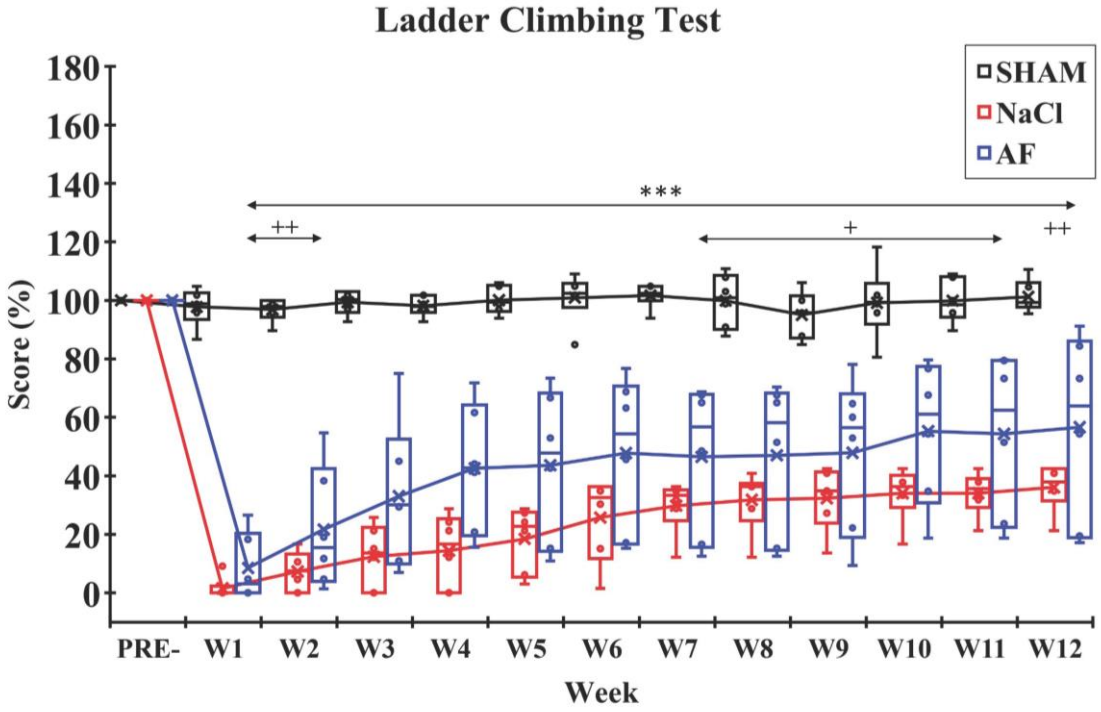


Figure 6. Ladder-climbing test. After the SCI, the climbing score in each injured group dropped significantly, and then a slow recovery was observed until W12. Significant difference in the climbing scores is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group) or + (AF group vs. SHAM group); 1 symbol, $p < 0.05$; 2 symbols, $p < 0.01$; and 3 symbols, $p < 0.001$. x and ● indicate the mean and individual response, respectively. n = 6 per group.

Gait analysis. At W12, the regulatory index was 100% in the SHAM and AF groups, and significantly ($p < 0.01$) reduced in the NaCl group (66.67 ± 2.23%). Moreover, animals from the NaCl (15.78 ± 3.27%) group showed a significant increase in phase dispersion compared to the SHAM (3.13 ± 1.02%, $p < 0.01$) and AF (3.43 ± 2.04%, $p < 0.05$) groups. No difference was found between the SHAM and AF groups (Figure 7A). Furthermore, there were no significant differences in the average crossing speeds on the glass plate between the three groups (SHAM: 41.61 ± 6.88 cm·s^{-1}; NaCl: 21.14 ± 10.65 cm·s^{-1}; AF: 39.92 ± 11.79 cm·s^{-1}) (Figure 7B). However, the stride length was significantly decreased ($p < 0.01$) for the NaCl (12.60 ± 1.74 cm) group compared to the SHAM (15.92 ± 1.53 cm) and AF (14.77 ± 2.43 cm) groups. No difference was found between the SHAM and AF groups (Figure 7C). Finally, there was no difference between the three groups concerning the time-of-step cycle (SHAM: 0.38 ± 0.05 cm·s^{-1}; NaCl: 0.34 ± 0.13 cm·s^{-1}; AF: 0.33 ± 0.05 cm·s^{-1}) (Figure 7D), the time-of-swing phase (SHAM: 0.14 ± 0.015 cm·s^{-1}; NaCl: 0.12 ± 0.03 cm·s^{-1}; AF: 0.13 ± 0.02 cm·s^{-1}) (Figure 7E), and the time-of-stance phase (SHAM: 0.24 ± 0.04 cm·s^{-1}; NaCl: 0.23 ± 0.13 cm·s^{-1}; AF: 0.20 ± 0.04 cm·s^{-1}) (Figure 7F).

Examination of the frequency of regular step patterns revealed a prevalence of the "alternate" step pattern across all groups (97.78% for the SHAM group, 84.44% for the AF group, and 70.59% for the NaCl group). The "cruciate" and "rotate" step patterns, typically employed by healthy animals, accounted for 2.22% and 0%, respectively, in the SHAM group, 2.22% and 13.33% in the AF group, and 17.65% and 11.77% in the NaCl group (Figure 7G).

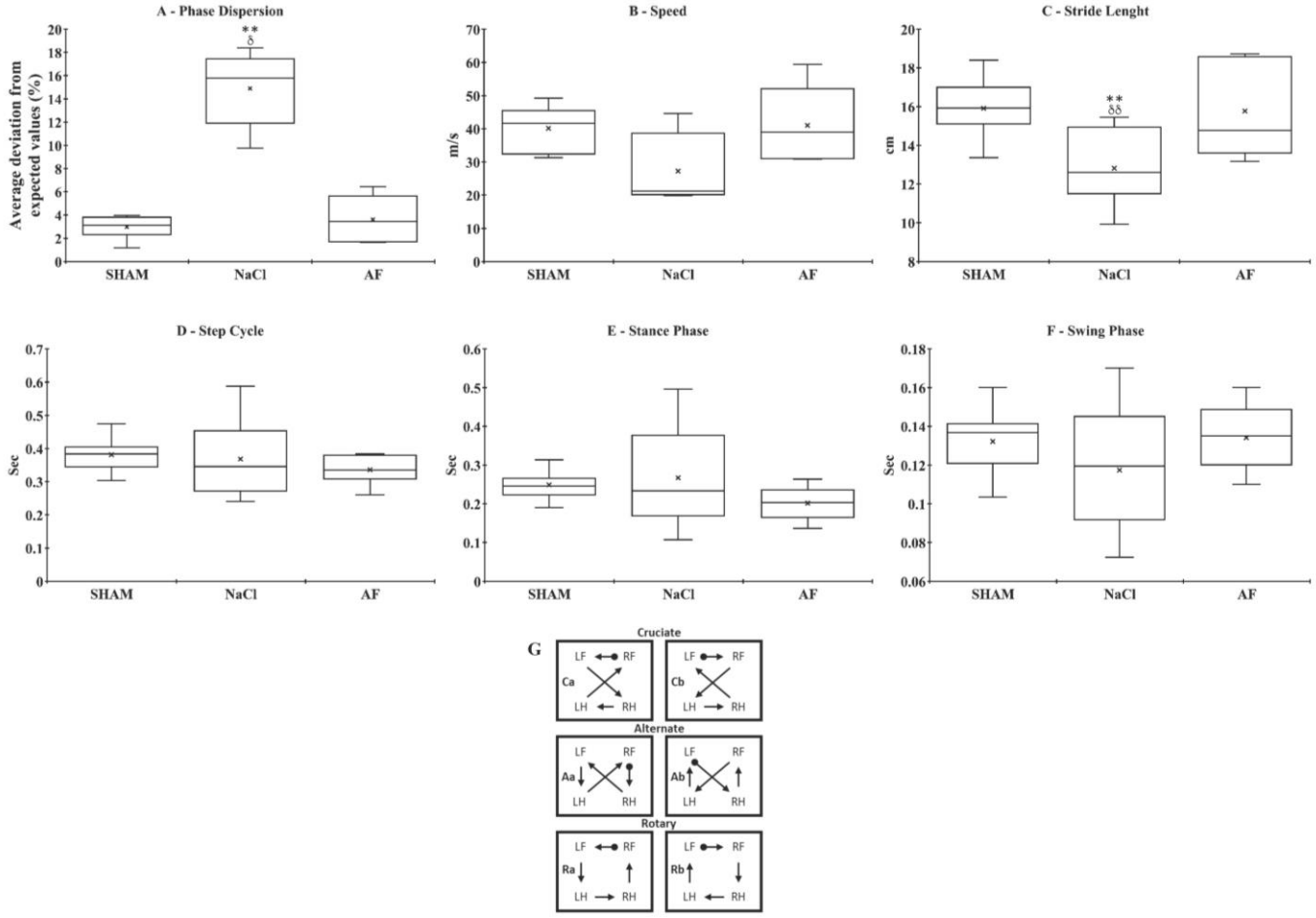


Figure 7. Gait analysis parameters. (**A**) Phase dispersion. Average deviation between hindlimbs from the expected value of 50%: animals treated with NaCl showed a significant increase compared to the SHAM and AF groups. (**B**) Average speed. The average crossing speed on the glass plate was similar in the 3 experimental groups. (**C**) Stride length. Average stride length between hindlimbs was significantly decreased in the NaCl group compared to the SHAM and AF groups. (**D**) Step cycle. Average step cycle between hindlimbs was similar in the 3 experimental groups. (**E**) Stance phase. Average stance phase between hindlimbs was similar in the 3 experimental groups. (**F**) Swing phase. The average time of the swing phase between hindlimbs was similar in the 3 experimental groups. (**G**) Step sequence patterns seen in normal rats (adapted from [20]). Significant difference is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group) or δ (NaCl group vs. AF group); 1 symbol, $p < 0.05$; and 2 symbols, $p < 0.01$. x indicates the mean. n = 6 per group.

3.5. Electrophysiological Recordings

Analysis of ventilatory adjustments during and after the activation of metabosensitive afferent fibers by repetitive stimulation of the Tibialis anterior muscle and under regional circulatory occlusion showed that there was a significant increase in ventilatory frequency ($p < 0.001$) only in the SHAM and AF groups. Additionally, data analysis revealed a significant difference between the NaCl group and the SHAM and AF groups during ($p < 0.01$) and after ($p < 0.001$) stimulation. Notably, the NaCl group exhibited an absence of ventilatory response. No significant difference was observed between the SHAM and AF groups (Figure 8).

Cells **2024**, 13, 182

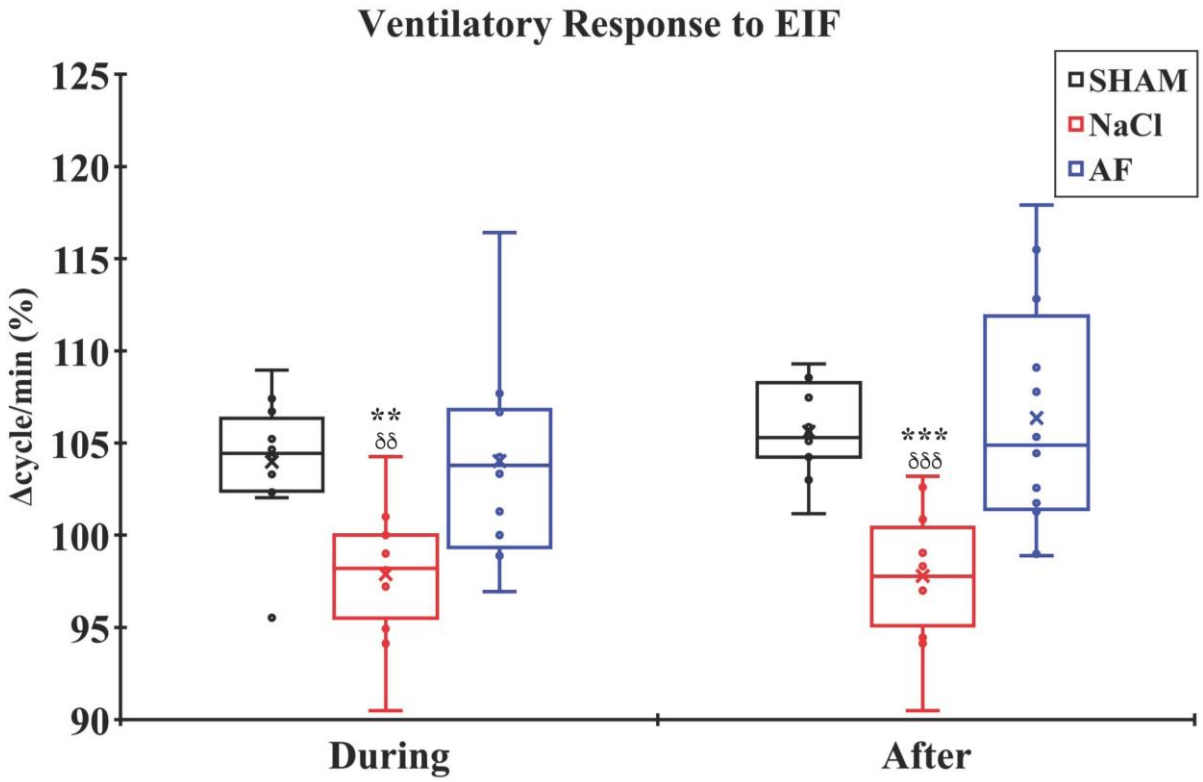


Figure 8. Ventilatory adjustment to 3 min EIF. The ventilatory activity significantly increased in the SHAM and AF groups during and after 3 min muscle stimulation of the Tibialis anterior muscle under local regional circulatory occlusion. Significant difference in the mean ventilatory frequency is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group) or δ (NaCl group vs. AF group); 2 symbols, $p < 0.01$; and 3 symbols, $p < 0.001$. x and ● indicate the mean and individual response, respectively. n = 6 per group.

The baseline Hmax/Mmax ratios measured at a stimulation frequency of 0.3 Hz were 0.36 ± 0.12, 0.32 ± 0.11, and 0.34 ± 0.12 for the SHAM, NaCl, and AF groups, respectively, and they showed no statistical difference. Analysis of the Hmax/Mmax ratio when increasing stimulation frequency revealed its decrease only in SHAM and AF groups. Indeed, in the SHAM group, the Hmax/Mmax ratio values at 1, 5, and 10 Hz were 97.26 ± 9.00%, 82.06 ± 15.71%, and 65.74 ± 19.88% of the ratio measured at the baseline stimulation, respectively. In the AF group, the corresponding values were 89.84 ± 9.62%, 63.57 ± 14.99%, and 49.68 ± 14.47%, respectively. In the NaCl group, the Hmax/Mmax ratio values at 1, 5, and 10 Hz were 95.89 ± 4.72%, 89.70 ± 16.81%, and 85.54 ± 12.19%, respectively. Data analysis revealed significant differences between the NaCl and AF groups at 1 Hz ($p < 0.05$), 5 Hz ($p < 0.001$), and 10 Hz ($p < 0.001$), and with the SHAM group at 5 Hz ($p < 0.05$) and 10 Hz ($p < 0.01$). No significant difference was found between the SHAM and AF groups regarding the depression of the H-reflex response at any of the tested frequencies (Figure 9).

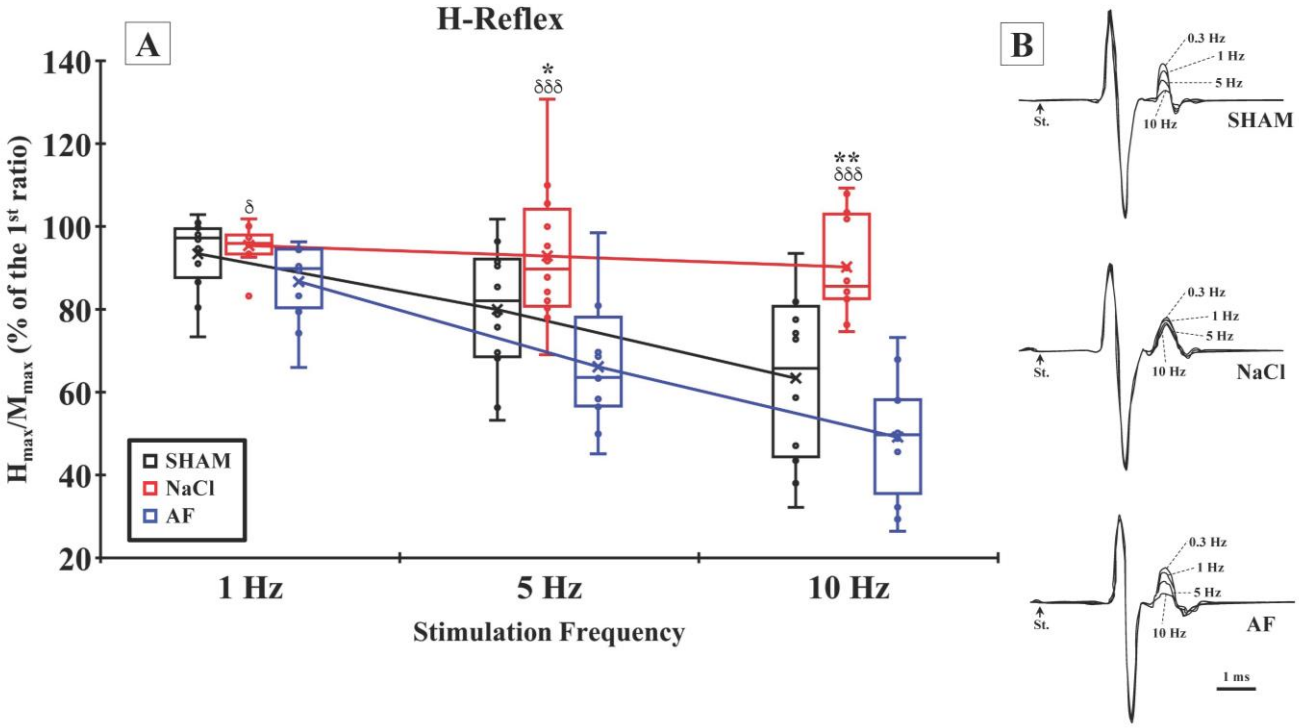


Figure 9. H-reflex rate sensitivity. (**A**) Hmax/Mmax ratio, measured after increasing the frequency of 548 stimulation, showed, from 1 Hz stimulation, a significant depression in the SHAM and AF groups. For a given frequency, significant difference in the Hmax/Mmax ratio is indicated by * (NaCl group vs. SHAM group) or δ (NaCl group vs. AF group); 1 symbol, $p < 0.05$; 2 symbols, $p < 0.01$; and 3 symbols, $p < 0.001$. x and ● indicate the mean and individual response, respectively. n = 6 per group. (**B**) Representative examples of H-reflex recorded at different stimulation frequencies in the SHAM (upper traces), NaCl (middle traces), and AF (bottom traces) groups.

4. Discussion

In this work, we investigated the efficacy of grafting mechanically activated human lipoaspirate on sensorimotor recovery after an acute spinal cord contusion in rats. We hypothesized that the activated fat, directly transplanted after the SCI at the lesion site, would reduce the neuroinflammation by reducing the amounts of the cytokines TNF-alpha and IL-6, two master regulators of chronic inflammation, and induce improvements in sensorimotor recovery.

Our results indicated that after a spinal cord thoracic contusion the inflammatory response was significantly reduced two weeks after the SCI in the treated animals (AF group) compared to the non-treated animals (NaCl group). In addition, the data showed locomotor recovery that was maintained over the 3-month study period. Finally, electrophysiological recordings twelve weeks after the trauma indicated a restoration of the sensorimotor loop and reconnection between supra- and sub-lesioned spinal cord.

These findings suggest that mechanically activated fat may provide neuroprotective and/or neuroregenerative factors which can increase tissue preservation following a secondary injury created by a series of biological and functional changes and/or regrowth of injured axons.

4.1. Activated Fat Reduced Neuroinflammation after SCI

Following SCI, the immediate consequence of trauma is a neuroinflammatory response at the injury site, characterized by local secretion of pro-inflammatory cytokines [74] and infiltration of peripheral immune cells such as macrophages, neutrophils, lymphocytes, leukocytes, and mast cells [66,75,76]. This reaction initiates within the first hours following the injury and persists for several weeks, with a peak of reactive astrocytes and

macrophages around fourteen days post-injury [77]. These events, which are involved in the healing processes, can induce, if allowed to persist, tissue degeneration, further exacerbating the damage caused by the injury and limiting spontaneous regeneration [16].

Several studies have investigated the use of xenogeneic transplants of human ADSCs to repair the spinal cord after SCI [45,78–80]. These studies have shown that such grafts usually do not trigger immune responses. For instance, adipose tissue has the property of not expressing human leukocyte antigen II (HLA II), which is responsible for initiating the immune response [81,82]. Additionally, ADSCs secrete factor H, which strongly inhibits complement activation and prevents rejection of the fat graft [83]. In a previous study, the activated fat graft was used as a therapeutic approach for spinal cord repair after thoracic contusion in mice. In this study, the authors demonstrated the engraftment of adipose tissue at the cord injury site 35 days after contusion and transplantation [43]. Similarly, in our study we observed that the graft was still present around the lesion area fourteen days after the injury and transplantation (as reported previously in [43]). Consequently, the sustained presence of the graft may contribute to the observed modulation of inflammation.

Our study was, therefore, initially devoted to verifying that the graft of activated fat did not induce additional endogenous inflammation beyond that which develops spontaneously after SCI. For this reason, levels of the pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α were measured at the injury site at the 14-day time point. Our results showed a significant reduction in the concentrations of TNF-α and IL-6 in the AF group compared to the NaCl group, while no difference was observed between the AF and SHAM groups. Additionally, the concentrations of IL-1β were similar between the untreated injured group and the treated injured group. This means that activated fat treatment does not induce additional endogenous inflammation and helps in limiting the activation of a chronic response by counteracting the increase in IL-6 and TNF-α concentrations at the injury site.

The fat used in our study was obtained through liposuction of adipose tissue from young adult women. This adipose tissue contains elements with anti-inflammatory properties, such as adiponectin and ADSCs, which could explain the reduction in neuroinflammation observed in our study. Adiponectin is a hormone secreted by adipocytes naturally present in adipose tissue, known for its anti-inflammatory effects. Indeed, studies have shown that adiponectin can interrupt the activation of pro-inflammatory M1 macrophages and support the activation of anti-inflammatory M2 macrophages, thereby limiting the production of TNF-α and IL-6 cytokines while increasing the release of the anti-inflammatory interleukin IL-10 [84]. Other studies have revealed that the plasma adiponectin concentration is higher in women than in men [85] and it is able to cross the blood–brain barrier [86]. Leptin, an adipokine primarily secreted by white adipose tissue, was shown to cross the blood–spinal cord barrier (BSCB) and have anti-inflammatory effects following SCI. Fernández-Martos and al. demonstrated that leptin reduced the expression of inflammatory genes, such as IL-1β and nitric oxide synthase (iNOS), which are typically increased in the CNS after SCI in rats [87].

Additionally, Zhou et al. demonstrated, in a mouse model of SCI, that the graft of ADSCs at the site of the lesion was able to reduce the expression of anti-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α through the inactivation of the Jagged1/Notch signaling pathway [88].

In line with our findings, a previous study conducted by Carelli et al. highlighted the enhanced immunomodulatory properties of adipose tissue following mechanical activation [33]. They demonstrated that adipose-derived stem cells (ADSCs) from mechanically activated human adipose tissue exhibit robust anti-inflammatory properties. They inhibited the expression of the cytokines TNF-α and IL-1β and stimulated the expression of the inflammatory protein TSG6 (TNF-stimulated gene-6) when co-cultured with monocytes (THP1 cells) activated by lipopolysaccharide [33]. The increase in TSG-6 is particularly relevant, as one of its protective effects is its ability to suppress neutrophil influx at inflammation sites and the presentation and transport of CXCL8 through endothelial cells. By

binding to glycosaminoglycans in the extracellular matrix, TSG-6 inhibits the presentation of inflammatory chemokines at the cell surface, providing a mechanism by which the cellular presentation of chemokines is regulated. Moreover, they showed that grafting activated fat in acute SCI decreases the number of CD68-positive cells at the lesion site. This suggests a reduction in macrophage invasion at the lesion site [43].

Then, it can be hypothesized that the underlying mechanisms related to both the decrease in intralesional concentration of pro-inflammatory cytokines observed and the recovery of sensorimotor functions could be ascribed to the combination of many factors such as the potential release of protective cytokines [33], the mechanic support exerted by the matrix of activated fat [43], and the presence of ADSCs in the grafted tissue [32,33]. Taken together, all these possible mechanisms could also favor endogenous neurogenesis in the damaged cord [43].

4.2. Activated Fat Improves Sensorimotor Recovery

Consistent with previous studies, after spinal cord contusion the animals showed an immediate significant decline in sensorimotor scores [56,57,89]. However, the BBB test, assessing interlimb coordination, revealed that the injured animals treated with activated fat exhibited consistent coordination between their forelimbs and hindlimbs during locomotion, as well as continuous weight support, contrary to injured animals treated with NaCl, which displayed uncoordinated step intervals until the end of the 12th week. Furthermore, the results of the ladder-climbing test, evaluating the integration of both sensory inputs and motor outputs, indicated that the treated animals in the AF group showed a faster recovery, starting in the 3rd week, whereas rats in the NaCl group exhibited a slower spontaneous recovery, which remained significantly lower than that of the SHAM group.

These results are in accordance with the gait analysis findings, which revealed a significantly reduced phase dispersion for the NaCl group compared to the other two groups, while no difference was observed between the SHAM and AF groups. Interestingly, this indicates a similar limb synchrony in animals of these two groups. Moreover, the achievement of a 100% regulation index between the SHAM and AF groups confirms the restoration of limb coordination during walking in animals treated with activated fat. Precise synchronization of limb movements and different body parts involved in walking is necessary for smooth and efficient locomotion. Altered coordination can lead to an unstable gait, disordered movements, and increased energy expenditure [90,91]. Thus, the improvements observed in the activated-fat-treated animals may allow for better motor control, increased stability, improved balance, and greater movement efficiency during walking. Furthermore, our results also demonstrated that the treatment with activated fat also improved the stride length, as animals belonging to this group had a longer stride length compared to rats from the NaCl group, meaning they took fewer steps to cover the same distance. This can result in smoother joint movements with a greater range of motion during walking. However, no difference was reported in the time to cross the glass plate between the NaCl and AF groups. This could be explained either by the high intra-group variability in the NaCl group for swing and stance phase times or by the fact that the speed was measured considering all the steps taken to cross the glass plate (excluding the first and last steps), whilst for the other parameters only five consecutive full steps were considered.

These results are in accordance with a previous preliminary study showing that mechanically activated human adipose tissue, when grafted in SCI affected mice, promotes neurogenesis, abrogates neuroinflammation, and favors hindlimb functional recovery one month post-injury, suggesting that fat cells may have therapeutic potential [43]. Indeed, the authors demonstrated that transplantation of activated fat at the lesion site stimulated the differentiation of endogenous ependymal stem cells into cells with a neuronal phenotype. This was evidenced by an increase in the neuronal markers β-tubulin 3 and MAP2 (microtubule-associated protein 2). Thus, the authors demonstrated the neuroprotective effects of the activated fat graft, which preserved white matter in injured and treated animals. Additionally, it allowed for increased axonal regrowth across the lesion [43].

It can be hypothesized that in our study the ADSCs present in the fat grafts played a significant role in tissue preservation and repair after SCI. The effects of ADSCs transplantation as a possible regenerative therapy for SCI has been quite extensively investigated. There are multiple studies in preclinical experimental disease models (especially rodents) in which ADSCs, alone or complexed with scaffolds or drugs, have been transplanted into the lesion site [92–96]. These studies have shown evidence relating to functional recovery associated with axonal regeneration [92–95]. Recently, it has been reported that ADSCs transplantation combined with training promoted neurogenesis and axonal regeneration while decreasing glial scar formation and neuronal death after spinal cord contusion in rats [96]. The feasibility of ADSCs transplantation in humans has also been explored in a phase 1 trial in which evidence regarding the safety of the cells' intrathecal administration has been reported [97]. ADSCs have been shown to secrete various neurotrophic factors, including nerve growth factor (NGF), glial-derived neurotrophic factor (GDNF), hepatocyte growth factor (HGF), and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [98]. These factors modulate the PI3K/AKT pathway and the MAP kinase pathways, which are involved in neuronal differentiation, survival, and axonal regrowth [99]. Furthermore, endothelial progenitor cells found in adipose tissue secrete vascular endothelial growth factor (VEGF). This factor stimulates angiogenesis, supplying the injured tissue with oxygen and nutrients necessary for tissue repair [100]. Additionally, VEGF modulates the MAPK/Erk1/2 pathway, which is involved in neuronal survival, cell differentiation, and axonal regrowth [101].

Other studies also reported that adiponectin, a cytokine released by adipose tissue, was able to promote neurogenesis and synaptic plasticity through its action on AdipoR1 and AdipoR2 receptors [102–104]. Furthermore, adiponectin exerts beneficial actions on endothelial homeostasis, acting as a regulator of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), a key determinant of endothelial function and angiogenesis [105]. It has been demonstrated that cerebral ischemia leads to a reduction in lesion size and allows for functional recovery due to its strong angiogenic potential [106,107].

Additionally, leptin, a potent hormone released by adipocytes, showed neuroprotective effects, and the ability to improve sensorimotor recovery after SCI [87,108]. Moreover, a more recent study demonstrated the neuroprotective capacity of leptin via the activation of the JAK2/Stat3 pathway, which increases the expression of Caveolin-1 in mice after SCI. This protein plays a critical role in promoting neuronal survival, reducing excitotoxicity following injury [109].

Therefore, we can hypothesize that the grafting of activated fat, due to the combined actions of ADSCs, endothelial cell progenitors, and the released adipokines, may limit the extension of secondary injury. Moreover, it could shape the injured microenvironment, reduce glial scar formation, promote neurogenesis, facilitate axonal regeneration, allow the formation of new functional synapses between host neurons and neurons formed after the graft, and revascularize the injured tissue, thereby replenishing it with the necessary nutrients and oxygen for proper functioning [33,39,43,110–114]. Thus, it appears that the therapeutic effects on sensorimotor recovery result from the synergistic action of cells contained in the activated fat and trophic factors released.

Our study highlights the potential of activated fat to promote sensorimotor recovery after acute SCI in rats, paving the way for the potential restoration of sensorimotor loop functions.

4.3. Activated Fat Restores Sensorimotor Loops and Their Supraspinal Command

SCI affecting the transmission of information through the ascending and descending spinal pathways may disrupt the functioning of the sub-lesional sensorimotor loops, leading to disorders including spasticity, muscle paralysis, loss of reflexes, and/or hypotonia [115].

In healthy animals, a 3 min muscle stimulation at 10 Hz typically induces muscle fatigue, activating metabosensitive muscle afferent pathways and resulting in an increase in ventilation frequency and amplitude [116]. These ventilatory adjustments to metabosen-

sitive afferent fibers' activation with repetitive stimulation of the Tibialis anterior muscle performed under regional circulatory occlusion allows the isolation and maintenance of the neural drive while eliminating hormonal communication [116]. The ventilatory adjustments rely on the functional integrity of the neuronal network allowing the transmission of impulses from the ascending pathway to the ponto-bulbar respiratory centers. After SCI, the ventilatory response to muscle stimulation is diminished or abolished, depending on the size of the lesion and the spared ascending pathways [61,68,69,71,117]. Our results confirm these conclusions. SCI animals receiving NaCl showed a lack of ventilatory response. In contrast, the AF group demonstrated a similar response to the SHAM group, indicating the beneficial effect of activated fat in re-establishing connections with the ponto-bulbar ventilatory centers.

The H-reflex is a neurophysiological phenomenon involving neural circuits of the monosynaptic stretch reflex of a muscle. It is triggered by the stimulation of Ia afferents, causing excitation of the α-motoneurons and subsequent contraction of the muscle without the intervention of supraspinal centers. The literature reports that high-frequency nerve stimulation leads to an increase in the H-reflex amplitude due to the lack of inhibitory feedback from supraspinal pathways in animals with SCI [68,69,117–119]. Indeed, the interruption of the descending pathway and disorganization of spinal networks lead to spasticity, a condition in which muscles stiffen or tighten, preventing normal fluid movement. The muscles remain contracted, and resist being stretched, thus affecting movement. Hyperreflexia is the most studied component of spasticity that may result from, among other things, a decrease in presynaptic inhibition of Ia afferents by supraspinal structures, changes in α-motoneuron excitability (persistent inward current), and/or changes in synaptic transmission (release of neurotransmitter, post-synaptic receptor, number of synapses, . . .) in the reflex arc [120–122]. Thus, to evaluate this component of spasticity, we recorded the H-reflex and measured the Hmax/Mmax ratio under different frequencies of stimulation. In the absence of SCI, the Hmax/Mmax ratio decreases when the frequency of stimulation increases. However, after an SCI, an attenuation, or indeed the abolition, of the RDD [123] has been identified. The study of the H-reflex amplitude in response to various nerve stimulations can serve as a valuable indicator of neural plasticity and/or spinal tract regeneration, providing information on the efficacy of therapeutic interventions for recovery after an SCI [56,66].

In our study, the electrophysiological recordings performed twelve weeks after SCI showed that AF-treated animals exhibited a significant post-activation depression of the H-reflex, as in non-injured animals, whereas no variation was observed in the NaCl group, despite an increase in electrical stimulation frequency. Additionally, we observed a restoration of ventilatory adjustments in response to electrically induced fatigue of the Tibialis anterior muscle's metabosensitive fibers in animals grafted with activated fat, unlike those in the NaCl group. These results strongly underline the beneficial effect of activated fat on the restoration of sensorimotor loop functionality and the re-establishment of communication in ascending and descending pathways, which may be responsible for improved motor skills and posture in treated animals. Moreover, this also suggests that activated fat enabled a reorganization and/or regeneration and functionalization of the spinal neuronal network.

Recently, Yuan et al. demonstrated significant recovery of motor-evoked potentials recorded at the spinal cord level in rats with SCI infused with ADSCs at the lesion level [124]. Furthermore, another study indicated that the administration of ADSCs in combination with a fibrin matrix in injured rats resulted in the restoration of post-activation depression of the H-reflex 60 days after the injury [125]. Keikhaei et al. also showed a post-activation depression of the H-reflex in animals transplanted with ADSCs twelve weeks after spinal cord contusion [96] and other studies have demonstrated the neuroprotective effects of adiponectin on neural circuits [126–129]. Finally, certain studies have concluded that the RDD restoration is correlated to an increase in neurotrophic factor proteins (BDNF, NT-3, and NT-4) [130–133] and an increase in BDNF upregulating KCC2 expression [134]. Because ADSCs contained in the fat have been shown to secrete NGF, GDNF, HGF, and BDNF,

we cannot exclude an action of this neurotrophic factor on the restoration of the RDD in animals receiving the activated fat.

In view of this scientific literature, our results suggest that the restoration of the sensorimotor loop and spinal pathways after SCI could be attributed to the combination of different effects induced by activated fat, as already described above.

5. Conclusions

The current study takes place in the critical clinical context of acute SCI, a major challenge with a significant impact on patients' quality of life. Our aim was to provide innovative solutions to this problem by exploring the potential of adipose tissue, recognized for its high regenerative potential and accessibility, thereby potentially minimizing discomfort for patients. The particularity of our approach lies in the prior activation of adipose tissue, an innovation compared with previous studies. This specific activation is crucial for its impact on acute anti-inflammatory mechanisms and its long-term stimulation of tissue regeneration. It is essential to underline that adipose tissue is not classified as a heterologous treatment due to its minimal manipulation. In accordance with the criteria of the International Society of Stem Cell Research (ISCCR) and regulatory agencies such as the Food and Drug Administration and the European Medicines Agency, this approach does not exceed the limits to be considered a cell therapy [135–137]. In addition to its positive regulatory status, the results of this study show the beneficial effects of using human mechanically activated fat in acute SCI due to its ability to (i) reduce lesion-induced neuroinflammation, (ii) restore spinal communication between supra- and sub-lesional spinal cord, and (iii) improve sensorimotor recovery.

In conclusion, this study shows that the use of activated fat for acute SCI represents a potential compelling therapeutic strategy. However, many aspects need deeper investigation, particularly with regards to the underlying mechanisms behind the observed recoveries and the importance of each element contained in the fat. Additional studies, including detailed histology analyses, would provide further insights into the underlying mechanisms behind the restoration of segmental neuronal network functions and the transmission of information from these networks to supraspinal centers.

Author Contributions: Conceptualization, M.B., C.E., S.C., P.D. and T.M.; methodology, M.B., C.E., S.C., P.D., T.M. and J.-M.B.; software, T.C.; validation, M.B., C.E., S.C., P.D., T.M., J.-M.B., M.S., C.D. and M.C.; formal analysis, M.B., C.E., S.C., P.D., T.M. and M.S.; investigation, M.B., C.E., S.C., P.D. and T.M.; resources, C.D., C.C. and M.C.; data curation, M.B. and C.E.; writing—original draft preparation, M.B., C.E., S.C., P.D. and T.M.; writing—review and editing, T.C., M.B., C.E., S.C., P.D., T.M. and M.S.; visualization, C.E., P.D. and S.C.; supervision, P.D., T.M. and S.C.; project administration, P.D., T.M., S.C., G.Z. and C.C.; funding acquisition, P.D. and S.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by public (Aix-Marseille Université (AMU) and Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)) and private (NeuroGel en Marche Association) grants.

Institutional Review Board Statement: Experiments were conducted according to the French legislation (decrees and orders N°2013-118 of 1 February 2013, JORF n°0032) concerning animal care guidelines on animal experimentation, and after approval by the Animal Care Committees of Aix-Marseille Université (AMU) and Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). The authorization number granted by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (MESRI) is APAFIS#32782. All persons are licensed to conduct live animal experiments and all experimental rooms have a national authorization to accommodate animals (license n°B13.013.06).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data will be available upon request from the authors.

Acknowledgments: Thank you to the women who generously donated their adipose tissue for this study. Your contributions have been invaluable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Golestani, A.; Shobeiri, P.; Sadeghi-Naini, M.; Jazayeri, S.B.; Maroufi, S.F.; Ghodsi, Z.; Dabbagh Ohadi, M.A.; Mohammadi, E.; Rahimi-Movaghar, V.; Ghodsi, S.M. Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury in Developing Countries from 2009 to 2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology* **2022**, *56*, 219–239. [CrossRef] [PubMed]
2. Shavelle, R.M.; DeVivo, M.J.; Brooks, J.C.; Strauss, D.J.; Paculdo, D.R. Improvements in Long-Term Survival after Spinal Cord Injury? *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **2015**, *96*, 645–651. [CrossRef] [PubMed]
3. Chamberlain, J.D.; Buzzell, A.; Gmünder, H.P.; Hug, K.; Jordan, X.; Moser, A.; Schubert, M.; Zwahlen, M.; Brinkhof, M.W.G.; the SwiSCI Study Group and the Swiss National Cohort. Comparison of All-Cause and Cause-Specific Mortality of Persons with Traumatic Spinal Cord Injuries to the General Swiss Population: Results from a National Cohort Study. *Neuroepidemiology* **2019**, *52*, 205–213. [CrossRef] [PubMed]
4. Dodd, W.; Motwani, K.; Small, C.; Pierre, K.; Patel, D.; Malnik, S.; Lucke-Wold, B.; Porche, K. Spinal Cord Injury and Neurogenic Lower Urinary Tract Dysfunction: Whatdo We Know and Where Are We Going? *J. Mens. Health* **2022**, *18*, 24. [CrossRef] [PubMed]
5. DeVivo, M.J.; Chen, Y.; Wen, H. Cause of Death Trends among Persons with Spinal Cord Injury in the United States: 1960–2017. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **2022**, *103*, 634–641. [CrossRef]
6. Sekhon, L.H.S.; Fehlings, M.G. Epidemiology, Demographics, and Pathophysiology of Acute Spinal Cord Injury. *Spine* **2001**, *26*, S2–S12. [CrossRef]
7. Krueger, H.; Noonan, V.K.; Trenaman, L.M.; Joshi, P.; Rivers, C.S. The Economic Burden of Traumatic Spinal Cord Injury in Canada. *Chronic Dis. Inj. Can.* **2013**, *33*, 113–122. [CrossRef]
8. Malekzadeh, H.; Golpayegani, M.; Ghodsi, Z.; Sadeghi-Naini, M.; Asgardoon, M.; Baigi, V.; Vaccaro, A.R.; Rahimi-Movaghar, V. Direct Cost of Illness for Spinal Cord Injury: A Systematic Review. *Glob. Spine J.* **2022**, *12*, 1267–1281. [CrossRef]
9. Cao, Y.; Krause, J. Economic Costs of Traumatic Spinal Cord Injury—A Population Based Study. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **2021**, *102*, e58–e59. [CrossRef]
10. Cao, Y.; Krause, J.S. The Association between Secondary Health Conditions and Indirect Costs after Spinal Cord Injury. *Spinal Cord* **2021**, *59*, 306–310. [CrossRef]
11. Hartkopp, A.; Brønnum-Hansen, H.; Seidenschnur, A.-M.; Biering-Sorensen, F. Suicide in a Spinal Cord Injured Population: Its Relation to Functional Status. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **1998**, *79*, 1356–1361. [CrossRef] [PubMed]
12. Hawasli, A.H.; Rutlin, J.; Roland, J.L.; Murphy, R.K.J.; Song, S.-K.; Leuthardt, E.C.; Shimony, J.S.; Ray, W.Z. Spinal Cord Injury Disrupts Resting-State Networks in the Human Brain. *J. Neurotrauma* **2018**, *35*, 864–873. [CrossRef] [PubMed]
13. Guo, Y.; Ge, Y.; Li, J.; Dou, W.; Pan, Y. Impact of Injury Duration on a Sensorimotor Functional Network in Complete Spinal Cord Injury. *J. Neurosci. Res.* **2022**, *100*, 1765–1774. [CrossRef]
14. Cao, Q.; Zhang, Y.P.; Iannotti, C.; DeVries, W.H.; Xu, X.-M.; Shields, C.B.; Whittemore, S.R. Functional and Electrophysiological Changes after Graded Traumatic Spinal Cord Injury in Adult Rat. *Exp. Neurol.* **2005**, *191*, S3–S16. [CrossRef] [PubMed]
15. Park, J.H.; Kim, J.H.; Oh, S.-K.; Baek, S.R.; Min, J.; Kim, Y.W.; Kim, S.T.; Woo, C.-W.; Jeon, S.R. Analysis of Equivalent Parameters of Two Spinal Cord Injury Devices: The New York University Impactor versus the Infinite Horizon Impactor. *Spine J.* **2016**, *16*, 1392–1403. [CrossRef] [PubMed]
16. Alizadeh, A.; Dyck, S.M.; Karimi-Abdolrezaee, S. Traumatic Spinal Cord Injury: An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Front. Neurol.* **2019**, *10*, 282. [CrossRef] [PubMed]
17. Hachem, L.D.; Fehlings, M.G. Pathophysiology of Spinal Cord Injury. *Neurosurg. Clin. N. Am.* **2021**, *32*, 305–313. [CrossRef]
18. Darrow, D.; Balser, D.; Netoff, T.I.; Krassioukov, A.; Phillips, A.; Parr, A.; Samadani, U. Epidural Spinal Cord Stimulation Facilitates Immediate Restoration of Dormant Motor and Autonomic Supraspinal Pathways after Chronic Neurologically Complete Spinal Cord Injury. *J. Neurotrauma* **2019**, *36*, 2325–2336. [CrossRef]
19. Hofer, A.-S.; Schwab, M.E. Enhancing Rehabilitation and Functional Recovery after Brain and Spinal Cord Trauma with Electrical Neuromodulation. *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 828–835. [CrossRef]
20. Rao, Y.; Zhu, W.; Liu, H.; Jia, C.; Zhao, Q.; Wang, Y. Clinical Application of Olfactory Ensheathing Cells in the Treatment of Spinal Cord Injury. *J. Int. Med. Res.* **2013**, *41*, 473–481. [CrossRef]
21. Varma, A.K.; Das, A.; Wallace, G.; Barry, J.; Vertegel, A.A.; Ray, S.K.; Banik, N.L. Spinal Cord Injury: A Review of Current Therapy, Future Treatments, and Basic Science Frontiers. *Neurochem. Res.* **2013**, *38*, 895–905. [CrossRef] [PubMed]
22. Silva, N.A.; Sousa, N.; Reis, R.L.; Salgado, A.J. From Basics to Clinical: A Comprehensive Review on Spinal Cord Injury. *Prog. Neurobiol.* **2014**, *114*, 25–57. [CrossRef] [PubMed]
23. Ahuja, C.S.; Wilson, J.R.; Nori, S.; Kotter, M.R.N.; Druschel, C.; Curt, A.; Fehlings, M.G. Traumatic Spinal Cord Injury. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2017**, *3*, 17018. [CrossRef] [PubMed]
24. Tran, A.P.; Warren, P.M.; Silver, J. The Biology of Regeneration Failure and Success after Spinal Cord Injury. *Physiol. Rev.* **2018**, *98*, 881–917. [CrossRef]
25. Rabinstein, A.A. Traumatic Spinal Cord Injury. *Contin. Lifelong Learn. Neurol.* **2018**, *24*, 551–566. [CrossRef] [PubMed]
26. Liu, Z.; Yang, Y.; He, L.; Pang, M.; Luo, C.; Liu, B.; Rong, L. High-Dose Methylprednisolone for Acute Traumatic Spinal Cord Injury: A Meta-Analysis. *Neurology* **2019**, *93*, e841–e850. [CrossRef] [PubMed]
27. Kwon, B. Pathophysiology and Pharmacologic Treatment of Acute Spinal Cord Injury. *Spine J.* **2004**, *4*, 451–464. [CrossRef]
28. Pêgo, A.P.; Kubinova, S.; Cizkova, D.; Vanicky, I.; Mar, F.M.; Sousa, M.M.; Sykova, E. Regenerative Medicine for the Treatment of Spinal Cord Injury: More than Just Promises? *J. Cell. Mol. Med.* **2012**, *16*, 2564–2582. [CrossRef]

29. Assinck, P.; Duncan, G.J.; Hilton, B.J.; Plemel, J.R.; Tetzlaff, W. Cell Transplantation Therapy for Spinal Cord Injury. *Nat. Neurosci.* **2017**, *20*, 637–647. [CrossRef]
30. Flack, J.; Sharma, K.; Xie, J. Delving into the Recent Advancements of Spinal Cord Injury Treatment: A Review of Recent Progress. *Neural Regen. Res.* **2022**, *17*, 283. [CrossRef]
31. Zipser, C.M.; Cragg, J.J.; Guest, J.D.; Fehlings, M.G.; Jutzeler, C.R.; Anderson, A.J.; Curt, A. Cell-Based and Stem-Cell-Based Treatments for Spinal Cord Injury: Evidence from Clinical Trials. *Lancet Neurol.* **2022**, *21*, 659–670. [CrossRef]
32. Carelli, S.; Messaggio, F.; Canazza, A.; Hebda, D.M.; Caremoli, F.; Latorre, E.; Grimoldi, M.G.; Colli, M.; Bulfamante, G.; Tremolada, C.; et al. Characteristics and Properties of Mesenchymal Stem Cells Derived from Microfragmented Adipose Tissue. *Cell Transpl.* **2015**, *24*, 1233–1252. [CrossRef]
33. Carelli, S.; Colli, M.; Vinci, V.; Caviggioli, F.; Klinger, M.; Gorio, A. Mechanical Activation of Adipose Tissue and Derived Mesenchymal Stem Cells: Novel Anti-Inflammatory Properties. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 267. [CrossRef]
34. Hey, G.; Willman, M.; Patel, A.; Goutnik, M.; Willman, J.; Lucke-Wold, B. Stem Cell Scaffolds for the Treatment of Spinal Cord Injury—A Review. *Biomechanics* **2023**, *3*, 322–342. [CrossRef]
35. Siddiqui, A.M.; Khazaei, M.; Fehlings, M.G. Translating Mechanisms of Neuroprotection, Regeneration, and Repair to Treatment of Spinal Cord Injury. In *Progress in Brain Research*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; Volume 218, pp. 15–54. ISBN 978-0-444-63565-5.
36. Tabakow, P.; Jarmundowicz, W.; Czapiga, B.; Fortuna, W.; Miedzybrodzki, R.; Czyz, M.; Huber, J.; Szarek, D.; Okurowski, S.; Szewczyk, P.; et al. Transplantation of Autologous Olfactory Ensheathing Cells in Complete Human Spinal Cord Injury. *Cell Transpl.* **2013**, *22*, 1591–1612. [CrossRef] [PubMed]
37. Coelho, M.; Oliveira, T.; Fernandes, R. State of the Art Paper Biochemistry of Adipose Tissue: An Endocrine Organ. *Arch. Med. Sci.* **2013**, *2*, 191–200. [CrossRef] [PubMed]
38. Lee, J.H.; Park, A.; Oh, K.-J.; Lee, S.C.; Kim, W.K.; Bae, K.-H. The Role of Adipose Tissue Mitochondria: Regulation of Mitochondrial Function for the Treatment of Metabolic Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 4924. [CrossRef] [PubMed]
39. Zhang, Z.; Funcke, J.-B.; Zi, Z.; Zhao, S.; Straub, L.G.; Zhu, Y.; Zhu, Q.; Crewe, C.; An, Y.A.; Chen, S.; et al. Adipocyte Iron Levels Impinge on a Fat-Gut Crosstalk to Regulate Intestinal Lipid Absorption and Mediate Protection from Obesity. *Cell Metab.* **2021**, *33*, 1624–1639.e9. [CrossRef]
40. Zhao, L.; Yang, H.; Li, X.; Zhao, Y. Current Understanding of the Role of microRNAs from Adipose-Derived Extracellular Vesicles in Obesity. *Biochem. Soc. Trans.* **2022**, *50*, 447–457. [CrossRef] [PubMed]
41. Calabrese, G.; Giuffrida, R.; Lo Furno, D.; Parrinello, N.; Forte, S.; Gulino, R.; Colarossi, C.; Schinocca, L.; Giuffrida, R.; Cardile, V.; et al. Potential Effect of CD271 on Human Mesenchymal Stromal Cell Proliferation and Differentiation. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 15609–15624. [CrossRef]
42. Palumbo, P.; Miconi, G.; Cinque, B.; La Torre, C.; Lombardi, F.; Zoccali, G.; Orsini, G.; Leocata, P.; Giuliani, M.; Cifone, M.G. In Vitro Evaluation of Different Methods of Handling Human Liposuction Aspirate and Their Effect on Adipocytes and Adipose Derived Stem Cells. *J. Cell. Physiol.* **2015**, *230*, 1974–1981. [CrossRef] [PubMed]
43. Carelli, S.; Giallongo, T.; Rey, F.; Colli, M.; Tosi, D.; Bulfamante, G.; Di Giulio, A.M.; Gorio, A. Neuroprotection, Recovery of Function and Endogenous Neurogenesis in Traumatic Spinal Cord Injury Following Transplantation of Activated Adipose Tissue. *Cells* **2019**, *8*, 329. [CrossRef] [PubMed]
44. Gimble, J.M.; Guilak, F. Adipose-Derived Adult Stem Cells: Isolation, Characterization, and Differentiation Potential. *Cytotherapy* **2003**, *5*, 362–369. [CrossRef] [PubMed]
45. Gao, S.; Guo, X.; Zhao, S.; Jin, Y.; Zhou, F.; Yuan, P.; Cao, L.; Wang, J.; Qiu, Y.; Sun, C.; et al. Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells into Neuron/Motoneuron-like Cells for Cell Replacement Therapy of Spinal Cord Injury. *Cell Death Dis.* **2019**, *10*, 597. [CrossRef] [PubMed]
46. Zuk, P.A.; Zhu, M.; Mizuno, H.; Huang, J.; Futrell, J.W.; Katz, A.J.; Benhaim, P.; Lorenz, H.P.; Hedrick, M.H. Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Eng.* **2001**, *7*, 211–228. [CrossRef]
47. Tsuji, W.; Rubin, J.P.; Marra, K.G. Adipose-Derived Stem Cells: Implications in Tissue Regeneration. *World J. Stem Cells* **2014**, *6*, 312. [CrossRef] [PubMed]
48. Betz, V.M.; Sitoci-Ficici, K.H.; Uckermann, O.; Leipnitz, E.; Iltzsche, A.; Thirion, C.; Salomon, M.; Zwipp, H.; Schackert, G.; Betz, O.B.; et al. Gene-Activated Fat Grafts for the Repair of Spinal Cord Injury: A Pilot Study. *Acta Neurochir.* **2016**, *158*, 367–378. [CrossRef]
49. Zhang, H.-T.; Luo, J.; Sui, L.-S.; Ma, X.; Yan, Z.-J.; Lin, J.-H.; Wang, Y.-S.; Chen, Y.-Z.; Jiang, X.-D.; Xu, R.-X. Effects of Differentiated Versus Undifferentiated Adipose Tissue-Derived Stromal Cell Grafts on Functional Recovery After Spinal Cord Contusion. *Cell. Mol. Neurobiol.* **2009**, *29*, 1283–1292. [CrossRef]
50. Tien, N.L.B.; Hoa, N.D.; Thanh, V.V.; Van Thach, N.; Ngoc, V.T.N.; Dinh, T.C.; Phuong, T.N.T.; Toi, P.L.; Chu, D.T. Autologous Transplantation of Adipose-Derived Stem Cells to Treat Acute Spinal Cord Injury: Evaluation of Clinical Signs, Mental Signs, and Quality of Life. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* **2019**, *7*, 4399–4405. [CrossRef]
51. Walker, L.M.; Publicover, S.J.; Preston, M.R.; Said Ahmed, M.A.A.; El Haj, A.J. Calcium-Channel Activation and Matrix Protein Upregulation in Bone Cells in Response to Mechanical Strain. *J. Cell. Biochem.* **2000**, *79*, 648–661. [CrossRef]
52. Vogel, V.; Sheetz, M. Local Force and Geometry Sensing Regulate Cell Functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 265–275. [CrossRef]

53. Pruitt, B.L.; Dunn, A.R.; Weis, W.I.; Nelson, W.J. Mechano-Transduction: From Molecules to Tissues. *PLoS Biol.* **2014**, *12*, e1001996. [CrossRef] [PubMed]
54. El Haj, A.J.; Walker, L.M.; Preston, M.R.; Publicover, S.J. Mechanotransduction Pathways in Bone: Calcium Fluxes and the Role of Voltage-Operated Calcium Channels. *Med. Biol. Eng. Comput.* **1999**, *37*, 403–409. [CrossRef] [PubMed]
55. Chen, L.; Wei, S.; Chiu, J. Mechanical Regulation of Epigenetics in Vascular Biology and Pathobiology. *J. Cell. Mol. Med.* **2013**, *17*, 437–448. [CrossRef] [PubMed]
56. Bonnet, M.; Alluin, O.; Trimaille, T.; Gigmes, D.; Marqueste, T.; Decherchi, P. Delayed Injection of a Physically Cross-Linked PNIPAAm-*g*-PEG Hydrogel in Rat Contused Spinal Cord Improves Functional Recovery. *ACS Omega* **2020**, *5*, 10247–10259. [CrossRef]
57. Basso, D.M.; Beattie, M.S.; Bresnahan, J.C. A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats. *J. Neurotrauma* **1995**, *12*, 1–21. [CrossRef]
58. Metz, G.A.; Whishaw, I.Q. Cortical and Subcortical Lesions Impair Skilled Walking in the Ladder Rung Walking Test: A New Task to Evaluate Fore- and Hindlimb Stepping, Placing, and Co-Ordination. *J. Neurosci. Methods* **2002**, *115*, 169–179. [CrossRef]
59. Semler, J.; Wellmann, K.; Wirth, F.; Stein, G.; Angelova, S.; Ashrafi, M.; Schempf, G.; Ankerne, J.; Ozsoy, O.; Ozsoy, U.; et al. Objective Measures of Motor Dysfunction after Compression Spinal Cord Injury in Adult Rats: Correlations with Locomotor Rating Scores. *J. Neurotrauma* **2011**, *28*, 1247–1258. [CrossRef] [PubMed]
60. Donnelly, D.J.; Popovich, P.G. Inflammation and Its Role in Neuroprotection, Axonal Regeneration and Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *Exp. Neurol.* **2008**, *209*, 378–388. [CrossRef] [PubMed]
61. Bonnet, M.; Trimaille, T.; Brezun, J.-M.; Feron, F.; Gigmes, D.; Marqueste, T.; Decherchi, P. Motor and Sensitive Recovery after Injection of a Physically Cross-Linked PNIPAAm-*g*-PEG Hydrogel in Rat Hemisectioned Spinal Cord. *Mater. Sci. Eng. C* **2020**, *107*, 110354. [CrossRef] [PubMed]
62. Scheff, S.W.; Roberts, K.N. Infinite Horizon Spinal Cord Contusion Model. In *Animal Models of Acute Neurological Injuries*; Springer Protocols Handbooks Book Series; Humana Press: Totowa, NJ, USA, 2009; pp. 423–432.
63. Li, Y.; Decherchi, P.; Raisman, G. Transplantation of Olfactory Ensheathing Cells into Spinal Cord Lesions Restores Breathing and Climbing. *J. Neurosci.* **2003**, *23*, 727–731. [CrossRef]
64. Hamers, F.P.T.; Lankhorst, A.J.; Van Laar, T.J.; Veldhuis, W.B.; Gispen, W.H. Automated Quantitative Gait Analysis during Overground Locomotion in the Rat: Its Application to Spinal Cord Contusion and Transection Injuries. *J. Neurotrauma* **2001**, *18*, 187–201. [CrossRef]
65. Cheng, H.; Almström, S.; Giménez-Llort, L.; Chang, R.; Ove Ögren, S.; Hoffer, B.; Olson, L. Gait Analysis of Adult Paraplegic Rats after Spinal Cord Repair. *Exp. Neurol.* **1997**, *148*, 544–557. [CrossRef] [PubMed]
66. Seblani, M.; Ertlen, C.; Coyle, T.; Decherchi, P.; Brezun, J.-M. Combined Effect of Trifluoperazine and Sodium Cromoglycate on Reducing Acute Edema and Limiting Lasting Functional Impairments after Spinal Cord Injury in Rats. *Exp. Neurol.* **2024**, *372*, 114612. [CrossRef] [PubMed]
67. Mendes, C.S.; Bartos, I.; Márka, Z.; Akay, T.; Márka, S.; Mann, R.S. Quantification of Gait Parameters in Freely Walking Rodents. *BMC Biol.* **2015**, *13*, 50. [CrossRef] [PubMed]
68. Nawrotek, K.; Marqueste, T.; Modrzejewska, Z.; Zarzycki, R.; Rusak, A.; Decherchi, P. Thermogelling Chitosan Lactate Hydrogel Improves Functional Recovery after a C2 Spinal Cord Hemisection in Rat. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2017**, *105*, 2004–2019. [CrossRef]
69. Gueye, Y.; Marqueste, T.; Maurel, F.; Khrestchatisky, M.; Decherchi, P.; Feron, F. Cholecalciferol (Vitamin D_3) Improves Functional Recovery When Delivered during the Acute Phase after a Spinal Cord Trauma. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2015**, *154*, 23–31. [CrossRef]
70. Skinner, R.D.; Houle, J.D.; Reese, N.B.; Berry, C.L.; Garcia-Rill, E. Effects of Exercise and Fetal Spinal Cord Implants on the H-Reflex in Chronically Spinalized Adult Rats. *Brain Res.* **1996**, *729*, 127–131. [CrossRef]
71. Bianco, J.; Gueye, Y.; Marqueste, T.; Alluin, O.; Risso, J.-J.; Garcia, S.; Lavault, M.-N.; Khrestchatisky, M.; Feron, F.; Decherchi, P. Vitamin D_3 Improves Respiratory Adjustment to Fatigue and H-Reflex Responses in Paraplegic Adult Rats. *Neuroscience* **2011**, *188*, 182–192. [CrossRef] [PubMed]
72. Pertici, V.; Trimaille, T.; Laurin, J.; Felix, M.-S.; Marqueste, T.; Pettmann, B.; Chauvin, J.-P.; Gigmes, D.; Decherchi, P. Repair of the Injured Spinal Cord by Implantation of a Synthetic Degradable Block Copolymer in Rat. *Biomaterials* **2014**, *35*, 6248–6258. [CrossRef]
73. Caron, G.; Decherchi, P.; Marqueste, T. Does Metabosensitive Afferent Fibers Activity Differ from Slow- and Fast-Twitch Muscles? *Exp. Brain Res.* **2015**, *233*, 2549–2554. [CrossRef]
74. Hellenbrand, D.J.; Quinn, C.M.; Piper, Z.J.; Morehouse, C.N.; Fixel, J.A.; Hanna, A.S. Inflammation after Spinal Cord Injury: A Review of the Critical Timeline of Signaling Cues and Cellular Infiltration. *J. Neuroinflamm.* **2021**, *18*, 284. [CrossRef] [PubMed]
75. Gao, T.-Y.; Huang, F.-F.; Xie, Y.-Y.; Wang, W.-Q.; Wang, L.-D.; Mu, D.; Cui, Y.; Wang, B. Dynamic Changes in the Systemic Immune Responses of Spinal Cord Injury Model Mice. *Neural Regen. Res.* **2021**, *16*, 382. [CrossRef] [PubMed]
76. Skaper, S.D.; Giusti, P.; Facci, L. Microglia and Mast Cells: Two Tracks on the Road to Neuroinflammation. *FASEB J.* **2012**, *26*, 3103–3117. [CrossRef] [PubMed]
77. Dumont, C.M.; Margul, D.J.; Shea, L.D. Tissue Engineering Approaches to Modulate the Inflammatory Milieu Following Spinal Cord Injury. *Cells Tissues Organs* **2016**, *202*, 52–66. [CrossRef]

78. Menezes, K.; Rosa, B.G.; Freitas, C.; Da Cruz, A.S.; De Siqueira Santos, R.; Nascimento, M.A.; Alves, D.V.L.; Bonamino, M.; Rossi, M.I.; Borojevic, R.; et al. Human Mesenchymal Stromal/Stem Cells Recruit Resident Pericytes and Induce Blood Vessels Maturation to Repair Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 19604. [CrossRef]
79. Villanova Junior, J.A.; Fracaro, L.; Rebelatto, C.L.K.; Da Silva, A.J.; Barchiki, F.; Senegaglia, A.C.; Dominguez, A.C.; De Moura, S.A.B.; Pimpão, C.T.; Brofman, P.R.S.; et al. Recovery of Motricity and Micturition after Transplantation of Mesenchymal Stem Cells in Rats Subjected to Spinal Cord Injury. *Neurosci. Lett.* **2020**, *734*, 135134. [CrossRef] [PubMed]
80. Vialle, E.N.; Fracaro, L.; Barchiki, F.; Dominguez, A.C.; Arruda, A.D.O.; Olandoski, M.; Brofman, P.R.S.; Kuniyoshi Rebelatto, C.L. Human Adipose-Derived Stem Cells Reduce Cellular Damage after Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Biomedicines* **2023**, *11*, 1394. [CrossRef]
81. Dominici, M.; Le Blanc, K.; Mueller, I.; Slaper-Cortenbach, I.; Marini, F.C.; Krause, D.S.; Deans, R.J.; Keating, A.; Prockop, D.J.; Horwitz, E.M. Minimal Criteria for Defining Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. *Cytotherapy* **2006**, *8*, 315–317. [CrossRef]
82. Jones, E.Y.; Fugger, L.; Strominger, J.L.; Siebold, C. MHC Class II Proteins and Disease: A Structural Perspective. *Nat. Rev. Immunol.* **2006**, *6*, 271–282. [CrossRef]
83. Tu, Z.; Li, Q.; Bu, H.; Lin, F. Mesenchymal Stem Cells Inhibit Complement Activation by Secreting Factor H. *Stem Cells Dev.* **2010**, *19*, 1803–1809. [CrossRef] [PubMed]
84. Choi, H.M.; Doss, H.M.; Kim, K.S. Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1219. [CrossRef] [PubMed]
85. Wang, Y.; Lam, K.S.L.; Yau, M.; Xu, A. Post-Translational Modifications of Adiponectin: Mechanisms and Functional Implications. *Biochem. J.* **2008**, *409*, 623–633. [CrossRef]
86. Kusminski, C.M.; McTernan, P.G.; Schraw, T.; Kos, K.; O'Hare, J.P.; Ahima, R.; Kumar, S.; Scherer, P.E. Adiponectin Complexes in Human Cerebrospinal Fluid: Distinct Complex Distribution from Serum. *Diabetologia* **2007**, *50*, 634–642. [CrossRef]
87. Fernández-Martos, C.M.; González, P.; Rodriguez, F.J. Acute Leptin Treatment Enhances Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e35594. [CrossRef] [PubMed]
88. Zhou, Z.; Tian, X.; Mo, B.; Xu, H.; Zhang, L.; Huang, L.; Yao, S.; Huang, Z.; Wang, Y.; Xie, H.; et al. Adipose Mesenchymal Stem Cell Transplantation Alleviates Spinal Cord Injury-Induced Neuroinflammation Partly by Suppressing the Jagged1/Notch Pathway. *Stem Cell Res. Ther.* **2020**, *11*, 212. [CrossRef]
89. Scheff, S.W.; Rabchevsky, A.G.; Fugaccia, I.; Main, J.A.; Lumpp, J.E. Experimental Modeling of Spinal Cord Injury: Characterization of a Force-Defined Injury Device. *J. Neurotrauma* **2003**, *20*, 179–193. [CrossRef]
90. Bovonsunthonchai, S.; Hiengkaew, V.; Vachalathiti, R.; Vongsirinavarat, M.; Tretriluxana, J. Effect of Speed on the Upper and Contralateral Lower Limb Coordination during Gait in Individuals with Stroke. *Kaohsiung J. Med. Sci.* **2012**, *28*, 667–672. [CrossRef] [PubMed]
91. Kim, J.-C.; Lim, J.-H. The Effects of Coordinative Locomotor Training on Coordination and Gait in Chronic Stroke Patients: A Randomized Controlled Pilot Trial. *J. Exerc. Rehabil.* **2018**, *14*, 1010–1016. [CrossRef]
92. Naeimi, A.; Zaminy, A.; Amini, N.; Balabandi, R.; Golipoor, Z. Effects of Melatonin-Pretreated Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells (MSC) in an Animal Model of Spinal Cord Injury. *BMC Neurosci.* **2022**, *23*, 65. [CrossRef]
93. Li, F.; Liu, H.; Zhang, K.; Xiao, D.-J.; Wang, C.; Wang, Y.-S. Adipose-Derived Stromal Cells Improve Functional Recovery after Spinal Cord Injury through TGF-B1/Smad3/PLOD2 Pathway Activation. *Aging* **2021**, *13*, 4370–4387. [CrossRef]
94. Li, J.; Ji, Z.; Wang, Y.; Li, T.; Luo, J.; Li, J.; Shi, X.; Li, L.; He, L.; Wu, W. Human Adipose-Derived Stem Cells Combined with Nano-Hydrogel Promote Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *Biology* **2022**, *11*, 781. [CrossRef] [PubMed]
95. Chen, J.; Wang, L.; Liu, M.; Gao, G.; Zhao, W.; Fu, Q.; Wang, Y. Implantation of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Sheets Promotes Axonal Regeneration and Restores Bladder Function after Spinal Cord Injury. *Stem Cell Res. Ther.* **2022**, *13*, 503. [CrossRef]
96. Keikhaei, R.; Abdi, E.; Darvishi, M.; Ghotbeddin, Z.; Hamidabadi, H.G. Combined Treatment of High-intensity Interval Training with Neural Stem Cell Generation on Contusive Model of Spinal Cord Injury in Rats. *Brain Behav.* **2023**, *13*, e3043. [CrossRef]
97. Hur, J.W.; Cho, T.-H.; Park, D.-H.; Lee, J.-B.; Park, J.-Y.; Chung, Y.-G. Intrathecal Transplantation of Autologous Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells for Treating Spinal Cord Injury: A Human Trial. *J. Spinal Cord Med.* **2016**, *39*, 655–664. [CrossRef]
98. Tomita, K.; Madura, T.; Sakai, Y.; Yano, K.; Terenghi, G.; Hosokawa, K. Glial Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells: Implications for Cell-Based Transplantation Therapy. *Neuroscience* **2013**, *236*, 55–65. [CrossRef] [PubMed]
99. Atkinson, E.; Dickman, R. Growth Factors and Their Peptide Mimetics for Treatment of Traumatic Brain Injury. *Bioorg. Med. Chem.* **2023**, *90*, 117368. [CrossRef] [PubMed]
100. Andia, I.; Maffulli, N.; Burgos-Alonso, N. Stromal Vascular Fraction Technologies and Clinical Applications. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2019**, *19*, 1289–1305. [CrossRef] [PubMed]
101. Li, J.; Chen, S.; Zhao, Z.; Luo, Y.; Hou, Y.; Li, H.; He, L.; Zhou, L.; Wu, W. Effect of VEGF on Inflammatory Regulation, Neural Survival, and Functional Improvement in Rats Following a Complete Spinal Cord Transection. *Front. Cell. Neurosci.* **2017**, *11*, 381. [CrossRef] [PubMed]
102. Song, J.; Kang, S.M.; Kim, E.; Kim, C.-H.; Song, H.-T.; Lee, J.E. Adiponectin Receptor-Mediated Signaling Ameliorates Cerebral Cell Damage and Regulates the Neurogenesis of Neural Stem Cells at High Glucose Concentrations: An In Vivo and In Vitro Study. *Cell Death Dis.* **2015**, *6*, e1844. [CrossRef]

103. Bloemer, J.; Pinky, P.D.; Govindarajulu, M.; Hong, H.; Judd, R.; Amin, R.H.; Moore, T.; Dhanasekaran, M.; Reed, M.N.; Suppiramaniam, V. Role of Adiponectin in Central Nervous System Disorders. *Neural Plast.* **2018**, *2018*, 4593530. [CrossRef]
104. Formolo, D.A.; Cheng, T.; Yu, J.; Kranz, G.S.; Yau, S.-Y. Central Adiponectin Signaling—A Metabolic Regulator in Support of Brain Plasticity. *Brain Plast.* **2022**, *8*, 79–96. [CrossRef]
105. Ouchi, N.; Walsh, K. Adiponectin as an Anti-Inflammatory Factor. *Clin. Chim. Acta* **2007**, *380*, 24–30. [CrossRef] [PubMed]
106. Shibata, R.; Ouchi, N.; Kihara, S.; Sato, K.; Funahashi, T.; Walsh, K. Adiponectin Stimulates Angiogenesis in Response to Tissue Ischemia through Stimulation of AMP-Activated Protein Kinase Signaling. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 28670–28674. [CrossRef]
107. Miao, J.; Shen, L.; Tang, Y.; Wang, Y.; Tao, M.; Jin, K.; Zhao, Y.; Yang, G. Overexpression of Adiponectin Improves Neurobehavioral Outcomes after Focal Cerebral Ischemia in Aged Mice. *CNS Neurosci. Ther.* **2013**, *19*, 969–977. [CrossRef] [PubMed]
108. Tian, Y.; Wang, S.; Ma, Y.; Lim, G.; Kim, H.; Mao, J. Leptin Enhances NMDA-Induced Spinal Excitation in Rats: A Functional Link between Adipocytokine and Neuropathic Pain. *Pain* **2011**, *152*, 1263–1271. [CrossRef] [PubMed]
109. Ren, J.; Li, X.; Sun, G.; Li, S.; Liang, S.; Li, Z.; Li, B.; Xia, M. Protective Effect of Leptin-Mediated Caveolin-1 Expression on Neurons after Spinal Cord Injury. *Cell Calcium* **2018**, *76*, 122–128. [CrossRef] [PubMed]
110. Park, J.; Decker, J.T.; Margul, D.J.; Smith, D.R.; Cummings, B.J.; Anderson, A.J.; Shea, L.D. Local Immunomodulation with Anti-Inflammatory Cytokine-Encoding Lentivirus Enhances Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *Mol. Ther.* **2018**, *26*, 1756–1770. [CrossRef] [PubMed]
111. Gonzalez, R.; Glaser, J.; Liu, M.T.; Lane, T.E.; Keirstead, H.S. Reducing Inflammation Decreases Secondary Degeneration and Functional Deficit after Spinal Cord Injury. *Exp. Neurol.* **2003**, *184*, 456–463. [CrossRef]
112. Alexander, J.K.; Popovich, P.G. Neuroinflammation in Spinal Cord Injury: Therapeutic Targets for Neuroprotection and Regeneration. In *Progress in Brain Research*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2009; Volume 175, pp. 125–137. ISBN 978-0-12-374511-8.
113. Kotaka, K.; Nagai, J.; Hensley, K.; Ohshima, T. Lanthionine Ketimine Ester Promotes Locomotor Recovery after Spinal Cord Injury by Reducing Neuroinflammation and Promoting Axon Growth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *483*, 759–764. [CrossRef]
114. Brambilla, R.; Bracchi-Ricard, V.; Hu, W.-H.; Frydel, B.; Bramwell, A.; Karmally, S.; Green, E.J.; Bethea, J.R. Inhibition of Astroglial Nuclear Factor κB Reduces Inflammation and Improves Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *J. Exp. Med.* **2005**, *202*, 145–156. [CrossRef]
115. Hiersemenzel, L.-P.; Curt, A.; Dietz, V. From Spinal Shock to Spasticity: Neuronal Adaptations to a Spinal Cord Injury. *Neurology* **2000**, *54*, 1574–1582. [CrossRef] [PubMed]
116. Decherchi, P.; Dousset, E.; Jammes, Y. Respiratory and Cardiovascular Responses Evoked by Tibialis Anterior Muscle Afferent Fibers in Rats. *Exp. Brain Res.* **2007**, *183*, 299–312. [CrossRef] [PubMed]
117. Pertici, V.; Amendola, J.; Laurin, J.; Gigmes, D.; Madaschi, L.; Carelli, S.; Marqueste, T.; Gorio, A.; Decherchi, P. The Use of Poly(N-[2-Hydroxypropyl]-Methacrylamide) Hydrogel to Repair a T10 Spinal Cord Hemisection in Rat: A Behavioural, Electrophysiological and Anatomical Examination. *ASN Neuro* **2013**, *5*, 149–166. [CrossRef] [PubMed]
118. Thompson, F.J.; Reier, P.J.; Lucas, C.C.; Parmer, R. Altered Patterns of Reflex Excitability Subsequent to Contusion Injury of the Rat Spinal Cord. *J. Neurophysiol.* **1992**, *68*, 1473–1486. [CrossRef]
119. Lee, J.K.; Emch, G.S.; Johnson, C.S.; Wrathall, J.R. Effect of Spinal Cord Injury Severity on Alterations of the H-Reflex. *Exp. Neurol.* **2005**, *196*, 430–440. [CrossRef]
120. Reese, N.B.; Skinner, R.D.; Mitchell, D.; Yates, C.; Barnes, C.N.; Kiser, T.S.; Garcia-Rill, E. Restoration of Frequency-Dependent Depression of the H-Reflex by Passive Exercise in Spinal Rats. *Spinal Cord* **2006**, *44*, 28–34. [CrossRef] [PubMed]
121. Yates, C.C.; Charlesworth, A.; Reese, N.B.; Skinner, R.D.; Garcia-Rill, E. The Effects of Passive Exercise Therapy Initiated Prior to or after the Development of Hyperreflexia Following Spinal Transection. *Exp. Neurol.* **2008**, *213*, 405–409. [CrossRef]
122. Bennett, D.J.; Li, Y.; Harvey, P.J.; Gorassini, M. Evidence for Plateau Potentials in Tail Motoneurons of Awake Chronic Spinal Rats with Spasticity. *J. Neurophysiol.* **2001**, *86*, 1972–1982. [CrossRef]
123. Schindler-Ivens, S.; Shields, R.K. Low Frequency Depression of H-Reflexes in Humans with Acute and Chronic Spinal-Cord Injury. *Exp. Brain Res.* **2000**, *133*, 233–241. [CrossRef]
124. Yuan, X.; Yuan, W.; Ding, L.; Shi, M.; Luo, L.; Wan, Y.; Oh, J.; Zhou, Y.; Bian, L.; Deng, D.Y.B. Cell-Adaptable Dynamic Hydrogel Reinforced with Stem Cells Improves the Functional Repair of Spinal Cord Injury by Alleviating Neuroinflammation. *Biomaterials* **2021**, *279*, 121190. [CrossRef]
125. Mukhamedshina, Y.O.; Akhmetzyanova, E.R.; Kostennikov, A.A.; Zakirova, E.Y.; Galieva, L.R.; Garanina, E.E.; Rogozin, A.A.; Kiassov, A.P.; Rizvanov, A.A. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cell Application Combined with Fibrin Matrix Promotes Structural and Functional Recovery Following Spinal Cord Injury in Rats. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 343. [CrossRef] [PubMed]
126. Pousti, F.; Ahmadi, R.; Mirahmadi, F.; Hosseinmardi, N.; Rohampour, K. Adiponectin Modulates Synaptic Plasticity in Hippocampal Dentate Gyrus. *Neurosci. Lett.* **2018**, *662*, 227–232. [CrossRef] [PubMed]
127. Wang, M.; Jo, J.; Song, J. Adiponectin Improves Long-Term Potentiation in the 5XFAD Mouse Brain. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 8918. [CrossRef] [PubMed]
128. Ng, R.C.-L.; Jian, M.; Ma, O.K.-F.; Bunting, M.; Kwan, J.S.-C.; Zhou, G.-J.; Senthilkumar, K.; Iyaswamy, A.; Chan, P.-K.; Li, M.; et al. Chronic Oral Administration of adipoRon Reverses Cognitive Impairments and Ameliorates Neuropathology in an Alzheimer's Disease Mouse Model. *Mol. Psychiatry* **2021**, *26*, 5669–5689. [CrossRef] [PubMed]
129. Liu, B.; Liu, J.; Wang, J.; Liu, C.; Yan, H. AdipoRon Improves Cognitive Dysfunction of Alzheimer's Disease and Rescues Impaired Neural Stem Cell Proliferation through AdipoR1/AMPK Pathway. *Exp. Neurol.* **2020**, *327*, 113249. [CrossRef] [PubMed]

130. Côté, M.-P.; Gossard, J.-P. Step Training-Dependent Plasticity in Spinal Cutaneous Pathways. *J. Neurosci.* **2004**, *24*, 11317–11327. [CrossRef]
131. Gómez-Pinilla, F.; Ying, Z.; Roy, R.R.; Hodgson, J.; Edgerton, V.R. Afferent Input Modulates Neurotrophins and Synaptic Plasticity in the Spinal Cord. *J. Neurophysiol.* **2004**, *92*, 3423–3432. [CrossRef]
132. Ying, Z.; Roy, R.R.; Edgerton, V.R.; Gómez-Pinilla, F. Exercise Restores Levels of Neurotrophins and Synaptic Plasticity Following Spinal Cord Injury. *Exp. Neurol.* **2005**, *193*, 411–419. [CrossRef]
133. Ying, Z.; Roy, R.R.; Zhong, H.; Zdunowski, S.; Edgerton, V.R.; Gomez-Pinilla, F. BDNF–Exercise Interactions in the Recovery of Symmetrical Stepping after a Cervical Hemisection in Rats. *Neuroscience* **2008**, *155*, 1070–1078. [CrossRef]
134. Boulenguez, P.; Liabeuf, S.; Bos, R.; Bras, H.; Jean-Xavier, C.; Brocard, C.; Stil, A.; Darbon, P.; Cattaert, D.; Delpire, E.; et al. Down-Regulation of the Potassium-Chloride Cotransporter KCC2 Contributes to Spasticity after Spinal Cord Injury. *Nat. Med.* **2010**, *16*, 302–307. [CrossRef]
135. European Medicines Agency. Available online: www.ema.europa.eu (accessed on 1 January 2019).
136. US Food & Drug Administration. Available online: www.fda.gov (accessed on 1 January 2019).
137. Hyun, I.; Lindvall, O.; Ährlund-Richter, L.; Cattaneo, E.; Cavazzana-Calvo, M.; Cossu, G.; De Luca, M.; Fox, I.J.; Gerstle, C.; Goldstein, R.A.; et al. New ISSCR Guidelines Underscore Major Principles for Responsible Translational Stem Cell Research. *Cell Stem Cell* **2008**, *3*, 607–609. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5.2 Article II. Efficacy Of The Immediate Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Autograft On Functional Sensorimotor Recovery After Spinal Cord Contusion In Rats

Objectifs de l'étude

Dans l'**Article I**, nous avons mis en évidence les effets bénéfiques de la greffe de GA humaine sur la réduction de la neuroinflammation post-lésionnelle, la restauration de l'intégrité fonctionnelle des réseaux neuronaux locaux et de la communication avec les centres supraspinaux, ainsi que sur sa capacité à améliorer les récupérations sensorimotrices chez des rats atteints le contusion médullaire thoracique.

Ainsi, afin d'améliorer notre compréhension sur les mécanismes qui sous-tendent ces récupérations, nous nous somme ensuite intéressés aux effets bénéfiques que pourraient avoir une greffe autologue de la FVS dérivée du TA sur les récupérations fonctionnelles à la suite d'une LME chez le rat. La FVS comprend des CSA, des CPE, des péricytes, des macrophages et des lymphocytes T. Cette FVS, qualifiée de microgaisse car elle ne contient pas les adipocytes, a l'avantage de contenir le reste des éléments présents dans le TA à des concentrations plus élevées. A travers un mode de communication paracrine et grâce aux actions synergiques entre les différentes sous-populations, la FVS possède des capacités régénératives, immunomodulatrices et angiogéniques, et constitue donc une ressource privilégiée en médecine régénérative, à l'instar du TA. L'utilisation de la FVS en recherche préclinique et clinique dans le domaine des pathologies du SNC lui ont relevé des bénéfices thérapeutiques importants dans l'amélioration des pathologies à travers une neuroprotection, une neurorégénérescence et une réduction de la neuroinflammation post-lésionnelle.

Ainsi, notre étude présentée dans l'**Article II** vise à évaluer les effets thérapeutiques de la greffe autologue de la FVS sur les récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire aiguë au niveau T_{10} chez le rat. L'hypothèse est que l'autogreffe de FVS réalisée dans les quatre heures suivant une contusion médullaire thoracique chez le rat réduit la neuroinflammation

post-lésionnelle, permet une épargne fonctionnelle, rétablit l'intégrité fonctionnelle des réseaux neuronaux locaux et restaure la communication avec les centres supraspinaux, conduisant à une amélioration des récupérations sensorimotrices.

Ertlen et al. Stem Cell Research & Therapy (2024) 15:29
https://doi.org/10.1186/s13287-024-03645-z

Stem Cell Research & Therapy

RESEARCH Open Access

Efficacy of the immediate adipose-derived stromal vascular fraction autograft on functional sensorimotor recovery after spinal cord contusion in rats

Céline Ertlen[1], Mostafa Seblani[1], Maxime Bonnet[1], Jean-Michel Brezun[1], Thelma Coyle[1], Florence Sabatier[2], Stéphane Fuentes[3], Patrick Decherchi[1*†], Nicolas Serratrice[1,3] and Tanguy Marqueste[1*†]

Abstract

Background Spinal cord injuries (SCI) lead to functional alteration with important consequences such as motor and sensory disorders. The repair strategies developed to date remain ineffective. The adipose tissue-derived stromal vascular fraction (SVF) is composed of a cocktail of cells with trophic, pro-angiogenic and immunomodulatory effects. Numerous therapeutic benefits were shown for tissue reconstitution, peripheral neuropathy and for the improvement of neurodegenerative diseases. Here, the therapeutic efficacy of SVF on sensorimotor recovery after an acute thoracic spinal cord contusion in adult rats was determined.

Method Male Sprague Dawley rats ($n=45$) were divided into 3 groups: SHAM (without SCI and treatment), NaCl (animals with a spinal lesion and receiving a saline injection through the dura mater) and SVF (animals with a spinal lesion and receiving a fraction of fat removed from adipocytes through the dura mater). Some animals were sacrificed 14 days after the start of the experiment to determine the inflammatory reaction by measuring the interleukin-1β, interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor-α in the lesion area. Other animals were followed once a week for 12 weeks to assess functional recovery (postural and locomotor activities, sensorimotor coordination). At the end of this period, spinal reflexivity (rate-dependent depression of the H-reflex) and physiological adjustments (ventilatory response to metabosensitive muscle activation following muscle fatigue) were measured with electrophysiological tools.

Results Compared to non-treated animals, results indicated that the SVF reduced the endogenous inflammation and increased the behavioral recovery in treated animals. Moreover, H-reflex depression and ventilatory adjustments to muscle fatigue were found to be comparable between SHAM and SVF groups.

Conclusion Our results highlight the effectiveness of SVF and its high therapeutic potential to improve sensorimotor functions and to restore the segmental sensorimotor loop and the communication between supra- and sub-lesional spinal cord regions after traumatic contusion.

†Patrick Decherchi and Tanguy Marqueste equally supervising authors.

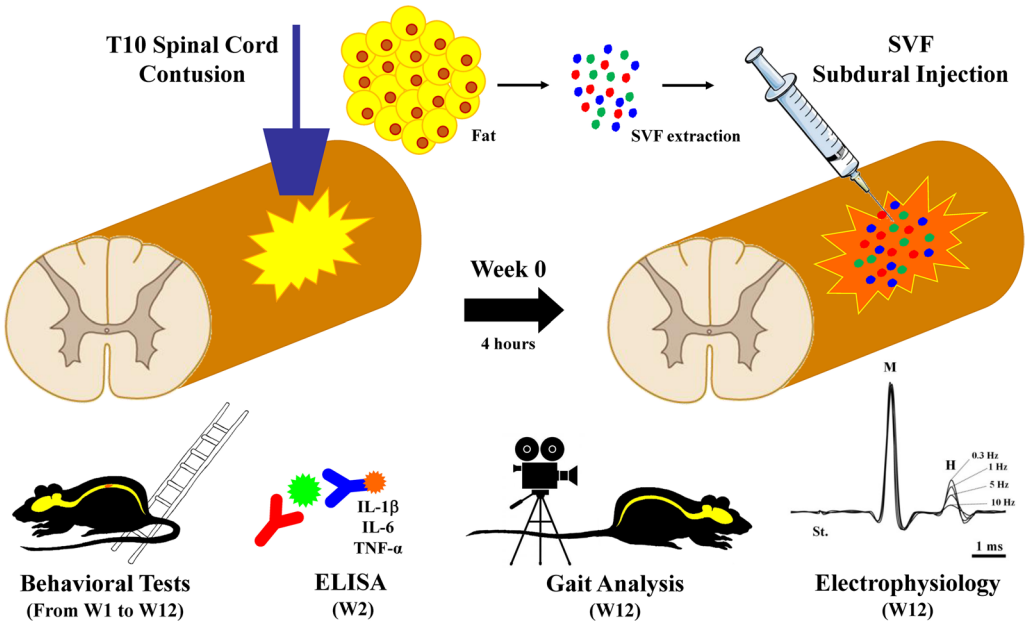
†Nicolas Serratrice and Tanguy Marqueste co-last authors.

*Correspondence:
Patrick Decherchi
patrick.decherchi@univ-amu.fr
Tanguy Marqueste
tanguy.marqueste@univ-amu.fr
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s) 2024. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Keywords Fat, Reflex, Stem cell, Cell therapy, Inflammation, Sensorimotor loop, Paraplegia, Neuroprotection

Graphical Abstract



Introduction

Traumatic spinal cord injury (SCI) is damage to the spinal cord tissue that can lead to lifelong disability. In human, lesion occurs after a violent impact on the spine due to motor vehicle accidents, acts of violence or recreational activities. Whatever the cause, injury leads to motor, sensory and autonomic dysfunctions below the level of traumatism with plegia, paralysis, multiple system dysfunction which can be subsequently associated with psychological alterations (excessive fatigue, feelings of tiredness, depressive states, poor-self efficacy, and anxiety) [1, 2]. Thus, SCI is a real health concern because of the decrease in life expectancy of the people concerned and the very high cost of care [3, 4]. Despite years of experimental research, numerous advances in the understanding of the pathophysiology of the spinal cord and the management of SCI, a plethora of promising experimental strategies and numerous clinical trials, today we are still unable to repair SCI and to propose a simple and effective repair strategy that can be applied to humans [5, 6].

Among non-pharmacological strategies, cellular therapies appear to be the subject of extensive study because of their potential ability to repair SCI through transplantation. Repair strategies have included various cell types such as neural stem and progenitor cells (NSPCs), oligodendrocyte progenitor cells (OPCs), mesenchymal stem cells (MSCs), Schwann cells, and olfactory ensheathing cells (OECs) [6–8]. Animal studies have shown that these cell types are good candidates because they induce functional improvement after SCI through several mechanisms such as neuroprotection, axon sprouting and/or regeneration, immunomodulation, and myelin regeneration [7, 8].

Adipose tissue is an endocrine organ capable of secreting a variety of hormones with numerous effects on overall metabolism. For example, the secreted adipokines have hypoglycemic and anti-inflammatory properties [9]. Through a minimally invasive procedure, the obtained lipoaspirated adipose tissue contains a high number of adipose-derived stem cells (ADSCs) or preadipocytes which can be easily isolated [10]. ADSCs are MSCs which seem to be of interest in tissue engineering and regenerative medicine. They have shown potential effects to treat autoimmune and neurodegenerative diseases, vascular and metabolic diseases, bone and cartilage regeneration, wound defects, and SCI [10–13]. Because ADSCs contain more somatic stem cells than bone marrow stem cells, their transplantation have demonstrated better effects in chronic and acute

SCI than bone marrow stem cells transplantation [14, 15]. Indeed, several preclinical studies have highlighted their neuroprotective and regenerative potentials as well as their ability to improve sensorimotor recovery after SCI when injected or implanted with biomaterials directly into the lesioned cavity formed after injury or when infused intravenously [16–23]. Furthermore, in clinical studies, despite considerable heterogeneity among patients, overall, intrathecal injection was reported to be free of serious adverse effects, and motor and sensory ASIA scores and quality of life improved progressively over time [24, 25]. However, magnetic resonance imaging reveals no difference in the spinal cord damaged areas before and after the procedure [24]. Other human clinical trials are underway [13].

In addition to adult stem cells, fat is also composed of pericytes, fibroblasts, endothelial cells and its progenitors, smooth muscle cells, and a variety of immune cells such as adipose tissue macrophages and T regulatory cells [26]. Fraction of fat removed from adipocytes (adipose cells), connective tissue and blood constitutes the stromal vascular fraction (SVF). The characterization of the human SVF permitted to establish key markers for identifying the main cell populations with reliability. These populations consist of hematopoietic cells (monocytes/macrophages, neutrophils, and lymphocytes), ADSCs, endothelial cells, and preadipocytes [27]. Furthermore, it was reported that gender and anatomical site of sampling have no influence on the composition of the SVF [28]. This data suggests that the human SVF composition is uniform, regardless of these factors. Studies on the SVF composition in rats identified the same cell types [29, 30]. However, the proportion of these cells varies based on the SVF isolation method, whether derived from humans or animals [31]. Thus, it could be an alternative to the use of ADSCs. Indeed, a lot of studies suggest that the regenerative properties of lipoaspirate are found not only in the ADSCs but in the heterogeneous collection of cells contained in the SVF [32]. This mixture extracted from adipose tissue after digestion with collagenase has been successfully used to treat nerve lesion [32], multiple sclerosis [33, 34], diabetic foot ulcer and retinopathy [35–37], burn and radiation skin injuries [38–41], Crohn's disease [42], ischemic heart failure [43, 44], bone regeneration [45, 46] and skin rejuvenation in aging process [47]. The SVF demonstrates significant angiogenic potential due to the existence of endothelial progenitor cells and their capability to secrete Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) [48]. After SCI, restoring the vascular network's integrity is vital for establishing a microenvironment conducive to regeneration at the lesion site. Studies on rats have demonstrated that administering VEGF to the injury site improves neovascularization following SCI. Moreover, this factor exhibits anti-inflammatory properties by triggering autophagic pathways, thereby improving neuronal viability following SCI [49, 50] Additionally, the SVF possesses the capability to mitigate neuroinflammation by activating both endogenous and exogenous leukocytes and macrophages. This leads to an elevation in the secretion of the anti-inflammatory interleukin-10 (IL-10), which in turn decreases the pro-inflammatory TNF-α [51]. The therapeutic potential of IL-10 has been demonstrated through several studies after SCI, as it can boost the numbers of macrophages and oligodendrocytes, promote neuronal survival, axonal regeneration, and myelination. Moreover, these studies revealed a locomotor function enhancement of rodents with SCI [52, 53]. Finally, the potential of SVF for limiting neurodegeneration in an experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model has been highlighted [51] and the capacity of ADSC to differentiate in neurons. Thus, due to its angiogenic, immunomodulatory, differentiating, regenerating, and healing potential and the extracellular matrix components it contains [54], we hypothesized that SVF would provide benefits in an experimental model of acute spinal cord contusion in rats. The specific focus here is to evaluate functional sensorimotor recovery and to investigate the integrity of engaged neural networks.

In the present study, we injected, through the dura mater, within four hours post-injury, 50 µl containing 10^6 cells of autologous adipose-derived SVF, into the 10th thoracic vertebra (T10) contused spinal cord to limit the functional deficits that develop after the initial injury and to elicit post-injury recoveries. Treated rats were compared to control (without SCI) and to lesioned animals that received a saline solution after SCI. BBB locomotor rating scale, gait analysis and ladder rung climbing tests performed once a week before lesion (PRE-) and for three months (from week 1 to 12) provided information on sensorimotor recoveries. The sacrifice of additional animals at two weeks post-injury allowed the evaluation of the inflammatory reaction (i.e., when the peak of the pro-inflammatory mediators has passed) [55]. Finally, electrophysiological recordings of H-reflex and ventilatory adjustments to muscle fatigue were used to assess the functioning of the sensorimotor loops under the lesion and their control by supraspinal levels.

Materials and methods

Animals

Experiments were performed on 45 adult male Sprague Dawley rats, weighing between 250 and 300 g (Élevage

JANVIER®, Centre d'Élevage Roger JANVIER, Le Genest Saint Isle, France), hosted two per cage in smooth-bottomed plastic cages in a laboratory animal house maintained on a 12:12-h light/dark photoperiod and at 22 °C. Drinking water and rat chow (Safe®, Augy, France) were available ad libitum. Animals were housed in the animal facility during 2 weeks before the initiation of the experiment. This habituation period, during which animals regularly practiced the behavioral tasks, allowed to decrease inter-individual differences and to reach optimal performances. At the end of this period, PRE- values for each test (BBB-test, gait analysis and ladder climbing test) were recorded.

Ethical considerations

Experiments were conducted according to the French legislation (Decrees and orders N°2013–118 of February 1st, 2013, JORF n°0032) concerning animal care guidelines on animal experimentation, and after approval by animal Care Committees of *Aix-Marseille Université* (AMU) and *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS). The authorization number granted by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (MESRI) is APAFIS#30,957. All persons are licensed to conduct live animal experiments and all experimental rooms have a national authorization to accommodate animals (License n°B13.013.06). Furthermore, experiments were performed in accordance with the recommendations provided in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health), with the directives 86/609/EEC and 010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 24 November 1986 and of 22 September 2010, respectively, and with the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines.

The health status of the animals was daily controlled and any animals presenting signs of suffering such as screech, prostration, hyperactivity, significant weight loss (15 to 20%) and paw-eating behavior were sacrificed.

After surgery, animals were also kept under a heat lamp until thermoregulation was reestablished. They received subcutaneous injections (2 ml) of saline to replace fluid lost during the surgical procedure two to three times per day until they started to drink alone. Buprenorphine (0.03 $mg.kg^{-1}$, Bruprécare® Multi-dose, Axience Santé Animale SAS, Pantin, France) was subcutaneously given daily for 3 days and a wide spectrum antibiotic (Oxytetracycline, 400 $mg.l^{-1}$, Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) was dissolved in the drinking water during 1 week to prevent any infection. If necessary, manual bladder expression was performed at least twice daily and nutritional supplement (Nutri-Plus Gel®, Virbac®, Carros, France) was given for weight loss. Postoperative nursing care also included visual inspection for skin irritation or decubitus ulcers and cleansing the hindquarters with soap and water followed by rapid drying of the fur with a bath towel.

Protocol design and experimental groups

After two weeks familiarization (1 h per day, 3 days per week) on an open-field (BBB-test), the walking corridor (gait analysis) and the ladder (ladder climbing test), and after measurement of the reference values

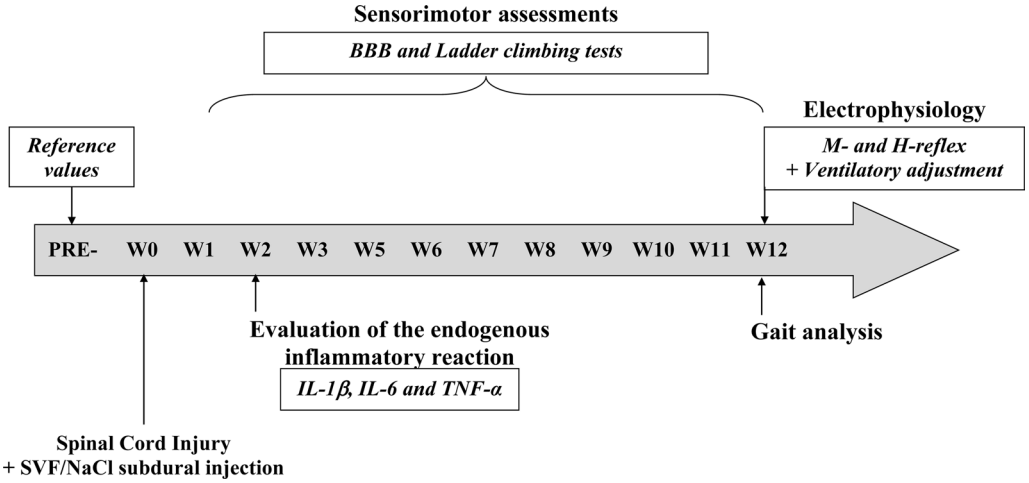


Fig. 1 *Experimental protocol.* One week before the surgery, baseline values (PRE-) for each functional test were recorded. The surgery and injections of NaCl and SVF were performed at W0. Subsequently, sensorimotor recoveries were measured once a week for 12 weeks (from W1 to W12) using behavioral tests (BBB and Ladder climbing tests). The endogenous inflammatory response was analyzed at W2 (2 weeks after the injury). At the end of W2, gait analysis test was performed, and electrophysiological tests recorded the M-wave and the H-reflex

(PRE-) for each behavioral test, animals were randomly assigned into 3 experimental groups: (1) SHAM ($n=15$) in which a surgery without spinal lesion was performed, (2) NaCl ($n=15$) in which a thoracic T10 contusion was performed (W0) followed by an immediate injection of NaCl into the lesion area through the dura, (3) SVF ($n=15$) in which epididymal fat was harvested, treated to extract SVF and autologously injected into the lesion area through the dura. In order to comply with the 3Rs (Replacement, Reduction and Refinement) ethical rule on the number of animals required to show a significant difference, the sample size per group was determined based on the first BBB results obtained at W12 from rats in the NaCl and SVF groups (3 rats in each group) where a common standard deviation (SD) of 2.92 were calculated and with a first-species risk α of 0.05 and a $1-\beta$ power of 0.9 (epiR package 0.9–96 and two tailed test), the sample size is found to be 10 rats in each group.

Fifteen animals of the SHAM ($n=5$), NaCl ($n=5$) and SVF ($n=5$) groups were sacrificed two weeks (W2) post-injury to evaluate the endogenous inflammation at the lesion site. For other animals ($n=30$), sensory and motor recovery in the hindlimbs was measured once a week, one week before the injury (PRE-) then from one week after the injury (W1) throughout the twelve subsequent weeks, by using the behavioral tests (BBB and ladder climbing tests). Then, twelve weeks (W12) post-injury, gait analysis test was performed, and sensorimotor loops were evaluated using electrophysiological recordings of the M-wave and H-reflex below the lesion and after muscle fatigue activating medullary ventilatory center through metabosensitive pathway. The chronological order of our protocol is schematically shown in Fig. 1.

Fat removal, SVF purification and characterization of its components

All surgeries were performed during the light cycle. For initial induction of anesthesia, animals from the group SVF were placed in an anesthetic chamber and isoflurane (Isoflo® 100%, Zoetis SAS, Malakoff, France), was delivered (3-5% in oxygen). Then, they were deeply anesthetized by an intraperitoneal injection of a mixture containing ketamine (100 $mg.kg^{-1}$, 100 $mg.ml^{-1}$, Ketamine 1000®, Virbac®, Carros, France) and xylazine (10 $mg.kg^{-1}$, 20 $mg.ml^{-1}$, Xilasyn®2, Virbac®) and a dose of buprenorphine (0.03 $mg.kg^{-1}$) was subcutaneously administered. Surgical procedures were performed in sterile conditions with the aid of binocular dissecting microscope (PZMIII®, World Precision Instruments Ltd, Hertfordshire, UK). During surgery, body temperature was maintained at 37 °C using a homeothermic feedback-controlled heating pad (Homeothermic Blanket Systems, Harvard apparatus Sarl, Les Ulis, France) and physiological constants (cardiac and ventilatory rhythms, pupil dilatation) were monitored to control the depth of anesthesia. Animals were positioned in dorsal decubitus, belly was shaved, disinfected (Vétédine® solution 10%, Vetoquinol S.A., Magny-Vernois, France) and a 1 cm midline ventral incision was performed through the abdominal wall to gain access to the abdominal cavity and to harvest around 1.3 ± 0.3 cm^3 of epididymal fat. Muscles and skin were closed after laparotomy using polyglactine-910 suture (Vicryl® 3–0, Ethicon, Issy Les Moulineaux, France). The SVF sample was purified using a manual method [56]. The concentration of viable nucleated cells and cell viability percentage was determined using a LUNA-FX7™ (©Aligned Genetics, Logos Biosystem, France) in duplicate. The formula to determine the final concentration of SVF necessary to obtain 1 million cells in 50 µl of cell solution is as follows: Total number of living cells x volume of purified SVF (ml) × 0.05 (ml)/1000 (result in µl). The recovery yield corresponds to the total number of the SVF cells relative to the volume of fat. Finally, the SVF was packaged at room temperature to be injected within 4 h after the SCI.

Spinal cord injury and SVF subdural injection

Only animals from NaCl and SVF groups were concerned. The surgery procedure leading to the exposure of the spinal cord was detailed previously [57]. Briefly, after anesthesia and an injection of buprenorphine (0.03 $mg.kg^{-1}$), animals were positioned in ventral decubitus, back shaved, disinfected (Vétédine® solution 10%, Vetoquinol S.A., Magny-Vernois, France) and a midline dorsal incision was performed over the T6-T13 spinous processes. The superficial muscles were retracted using retractors to expose the thoracic vertebrae and a T10 dorsal laminectomy was performed to expose the spinal cord without affecting its integrity. The dura was left intact. Stabilization clamps were placed at the posterior processes of the vertebra T9 and T11 to support the vertebral column during impact.

The spinal cord was contused at the T10 level using an IH-0400 weight-drop impactor (Infinite Horizon Impactor, Precisions Systems and Instrumentation, LLC., Lexington, KY, USA) equipped with a 10-g rod with a flat circular impact surface of diameter 2.5 mm which detects rod velocity (displacement over time) and any impact-induced movement using digital optical potentiometers to calculate impact velocity and compression rate. The impact rod was centered above T10, slowly lowered until it contacted the dura, which was determined by completion of an electrical circuit that activated an auditory tone. Then, the cord was contused by dropping the rod from a height of 50 mm. The force applied through the impactor was 200 kdyn corresponding to a

severe contusion [58]. The rod was dropped such that the impact velocity was of around 1.3 m/s.

After SCI, animals were maintained under anaesthesia for 4 h, time required to extract the SVF from the fat. Additional doses of anaesthesia were administered if necessary. Then, animals from the NaCl and SVF groups received, into the lesion site, a subdural injection of 50 µl NaCl and SVF, respectively, corresponding to an injection of 1 million of cells. This concentration was selected based on the literature. Indeed, several studies conducted in rats have demonstrated maximum efficacy of the SVF at a concentration of 10^6 cells [38, 59, 60].

After injury, muscles were sutured in anatomical layers and the skin was closed (Vicryl® 3–0, Ethicon, Issy Les Moulineaux, France).

Endogenous inflammation

Two weeks (W2) after the SCI, endogenous inflammatory reaction was evaluated at the lesion site. The detailed procedure had been described previously [57]. Briefly, after an initial sedation (isoflurane 3–5% in oxygen), animals were euthanized with a lethal dose of anesthetic (Pentobarbital sodium, 390 mg/kg, i.p., Euthasol® Vet., Dechra Veterinary Products S.A.S., Montigny-le-Bretonneux, France). A segment of spinal cord extending 5 mm rostral and caudal to the injury site was harvested, immediately immersed in isopentane, and stored at −80 °C until further analysis. When all samples were collected, they were homogenized separately in 1 ml of Phosphate Buffer Sodium (PBS) for 30 s with a handheld homogenizer (Ika Ultra Turrax® disperser, Fisher Scientific SAS, Illkirch, France) equipped with plastic pestle tips which homogenize the tissue through vibrating motions and the obtained mixtures were centrifuged (centrifuge Sigma 2–16 PK Centrifuge Fisher Scientific SAS, Illkirch, France) for 12 min (12,000×*g*, 4 °C). A fraction (50 µl) of the supernatant containing soluble proteins was used to evaluate inflammation. The concentrations of Interleukin-1β (IL-1β), Interleukin- 6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits containing specific antibodies (RAB0272, RAB0311 and RAB0480, Sigma Aldrich®, Saint-Quentin Fallavier, France) according to the instructions provided by the manufacturer, and all samples were run in duplicate. The absorbance was read at a wavelength of 450 nm using a microplate reader (Multiskan® Microplate Photometer, Thermo Fisher Scientific, Life Technologies SAS, Courtaboeuf, France). Concentrations were determined from a standard curve and based on the amount of tissue weighed before homogenization. Thus, the interleukins levels were expressed as pg/g of spinal cord.

Behavioral tests

The day before surgery, reference values (PRE-) of each test were recorded. Then, for 12 weeks (once a week post-injury, from W1 to W12), the BBB and ladder climbing tests were performed once, and gait analysis data were collected at W12, by two experimenters blinded to treatment group.

BBB-test. Locomotor functions were measured using the Basso-Beattie-Bresnahan test [61]. Briefly, animals were placed on a circular Plexiglas® enclosure arena (95 cm diameter, 40 cm wall height) with an anti-slip floor. Once the animal walked continuously in the open-field environment, it was video-recorded using a camcorder (GoPro Hero11®, GoPro, Inc., San Mateo, CA, USA). The duration of the session was 4 min. Analysis, carried out later, was performed using the BBB-scale based on 22 levels of locomotor behavior (0: complete paralysis to 21: normal locomotion). For each rat, the locomotor scores of the two hindlimbs were averaged together to yield one score per test session.

Ladder climbing test. Fine sensorimotor coordination was tested during climbing a 45° inclined ladder (100 mm × 1500 mm). This task is an easily acquired spontaneous response that does not require conditioning (reward or compulsion). As previously described, this test was used to evaluate the capacities to correctly place the paw on round metal rungs (diameter: 4 mm spaced at equal intervals of 20 mm with 150-mm-high side walls) of a ladder during climbing [57, 62, 63]. Animals were placed at the bottom of the ladder and climbing was video recorded with a camcorder (GoPro Hero11®) from a position below the ladder so that the two hindlimbs were filmed with a ventral view. At the top of the ladder, animals had access to a dark box. Contrary to control animals climbing readily, with all four paws locating and grasping the rungs without fault, lesioned animals showed varying degrees of difficulty in locating the ladder rungs with the affected legs. Animals with SCI climbed the ladder using their forelimbs with the body weight support provided by the inclined position of the ladder. The video recordings were analyzed at slow-speed playback and the placing of the hindpaws over the rungs were scored as following: 0: the hindlimb was hanging in front of or behind the rungs and didn't support climbing, 1: the hindlimb was used to support climbing but the hindpaw wasn't placed correctly on the rung, and 2: the hindpaw was correctly placed on the rung and the position was maintained while the trunk and the contralateral limb were moving up. The scores obtained on each side were averaged. Thus, a climbing score ranging from 0 (without success, i.e., 0 grip with the hindpaws) to 2 (animal

climbed 20 rungs of the ladder without faults, i.e., 20 grips with the hindpaws, 10 per leg) was calculated and normalized to the maximal score. The mean ratio obtained at each session was expressed as percentage of the mean ratio obtained at week 0 (PRE-).

Gait analysis. Quantitative assessment of motor function and coordination was performed with a home-made gait analysis system that consists of a long glass walking plate on a corridor (110 cm long, 8 cm wide, opaque walls 15 cm tall), a fluorescent light beamed into the glass plate and a camcorder (GoPro Hero11®) under the glass plate. The recordings were made in a dark environment. The light, reflected downward at each contact point, allowed the recording of the footprints on the walking plate. Gait analysis data were acquired only if the animals reached at least frequent weight supported stepping (BBB score ≥ 9) [64]. Animal performed unforced and uninterrupted crossing on the glass walkway at least three times. For each run, as previously described [65], average values were calculated for analysis for the following parameters:

- *Average speed*: speed of forward locomotion across the runway ($cm.s^{-1}$).
- *Stride length*: distance between two successive placements of the same paw (cm).
- *Stance phase*: time of contact of the paw with the glass plate (s).
- *Swing phase*: time during which the paw is not in contact with the glass plate (s).
- *Step cycle*: time between two successive placements of a single paw: stance added to swing duration (s).
- *Phase dispersion*: evaluation of the synchrony of the initial contact between pairs of limbs. It indicates the timing between the first contacts of paw pairs (e.g., Right Forelimb-Left Hindlimb), expressed as a percentage of the step cycle of the reference paw. When the limbs are in phase, meaning they synchronize perfectly, the phase dispersion is 0%. However, when the limb pairs alternate, there is typically a phase dispersion of 50%, indicating that they are not synchronized.
- *Step sequence patterns*: determined as normal when the animal sequentially placed its four paws in an alternate, cruciate (diagonal sequences) or rotate (lateral sequences) pattern based on the order of limb recruitment [66].
- *Regulatory index (RI)*: degree of coordination among the limbs, expressed as a percentage of the number of normal step sequence patterns (NSSP) relative to the total number of paw placements (PP): $RI = NSSP \times 4 / PP \times 100$ (%).

The gait analysis parameters were collected from five consecutive full steps for each animal and were analyzed using a bespoke function developed in the MATLAB R2022b (The MathWorks, Inc., Natick, MA, USA) environment based on MouseWalker system [67] and any inappropriately labeled prints were manually corrected frame by frame.

Electrophysiological recordings

Twelve weeks post-injury (W12), after an initial sedation (isoflurane 3–5% in oxygen), animals were deeply anesthetized by intraperitoneal injection of a mixture containing ketamine (100 $mg.kg^{-1}$, 100 $mg.ml^{-1}$, Ketamine 1000®, Virbac®) and xylazine (10 $mg.kg^{-1}$, 20 $mg.ml^{-1}$, Xilasyn®2, Virbac®), and prepared for electrophysiological recordings as previously described [68–70]. Briefly, the *peroneal* nerves from both hindlimbs were dissected free from surrounding tissues for stimulation. Then, the *Tibialis anterior* muscles from both hindlimbs were exposed for electromyographic (EMG) recording.

M- and H-waves. The M- and H-waves were recorded after electrical stimulation of the *peroneal* nerve. As previously described, in the first step, the rate-dependent depression (RDD) of the H-reflex also called rate-sensitive depression (RSD), frequency-related depression (FRD), frequency-dependent depression (FDD) and low-frequency depression (LFD) (i.e., the decrease in reflex magnitude relative to repetition rate) was analyzed by expressing the H_{max}/M_{max} ratio obtained at the stimulation frequency of 1, 5 and 10 Hz to the H_{max}/M_{max} ratio obtained at the baseline frequency of 0.3 Hz [57, 68, 69, 71–74]. In the second step, the *M* and *H*-reflex responses to repetitive stimulation at 10 Hz (0.5 ms, 5 × threshold) were elicited. Then, *H*-reflex amplitude of the second, third, fourth and fifth responses were measured from the average of five trials and *H*/*M* ratios (2nd, 3rd, 4th, 5th) were expressed as a percentage of the first *H*/*M* ratio (1st), also averaged over five trials [72].

Physiological reflexes. Ventilatory adjustments, recorded through the canula inserted into the trachea, were measured during and after activation of metabosensitive afferent fibers by *Tibialis anterior* muscle repetitive stimulation and under regional circulatory occlusion which isolated and maintained the neural drive as well as abolishing the hormonal communication [75]. Without SCI, a 3 min 10 Hz muscle stimulation induces a muscle fatigue that activates the metabosensitive afferents and subsequently an increase in the frequency and amplitude of ventilation [75]. After a SCI, such stimulation is not fully effective, i.e., the ventilation response is diminished or abolished, depending on the size of the lesion and the

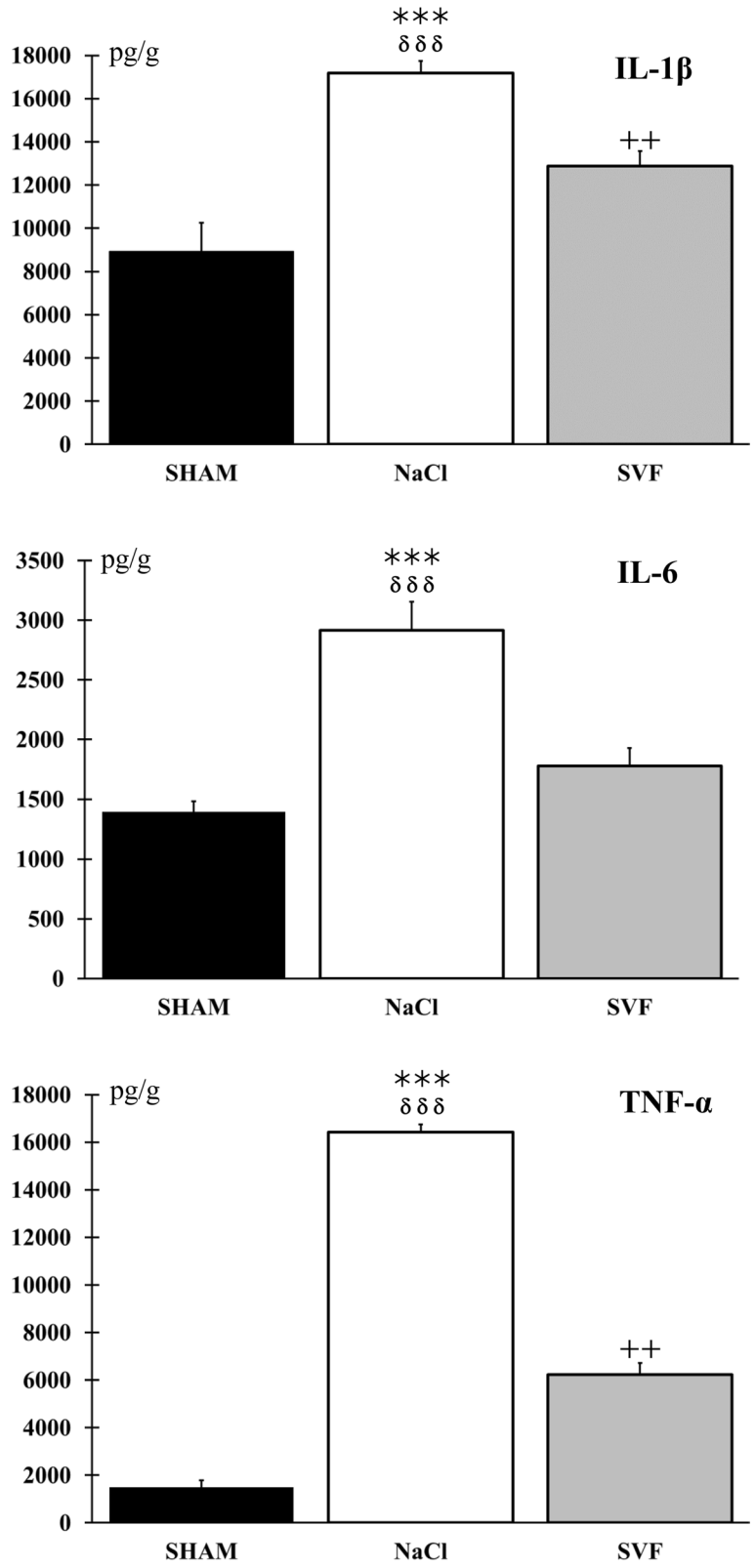


Fig. 2 *Inflammatory reaction at the lesion site*. Comparison of IL-1β, IL-6 and TNF-α levels at the site of injury in the SHAM, NaCl and SVF groups, two weeks post-injury, indicated that the level of inflammation was higher in the NaCl group compared to the two other groups. Data also indicated that the inflammatory reaction was reduced in the SVF group, for the IL-6. Significant difference is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group), + (SVF group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs*. NaCl group). (2 symbols, $p < 0.01$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

ascending pathways spared. As previously described, this test can be used to evaluate the therapeutic effectiveness of a treatment [57, 68, 69, 72, 73].

Thus, changes in ventilatory activity during and after electrically-induced muscle fatigue (EIF) was expressed in percent [Δcycle/min (%)] of the mean cycles recorded two minutes before muscle stimulation.

Euthanasia

According to ethical recommendations, at the end of the electrophysiological recordings, animals were killed with an overdose of pentobarbital sodium (390 $mg.kg^{-1}$, i.p., Euthasol® Vet.) and the spinal cord was removed for further analysis.

Statistical analysis

Analysis of ELISA data was performed with a non-parametric Kruskal–Wallis test and the results were expressed as median ± SEM. After checking their normal distribution, the data of each experimental group were compared using a software program (SigmaStat 14.0®, San Jose, CA, USA). A two-way ANOVA (groups factor x time or stimulation frequency factor) for repeated measures was used to compare behavioral scores from all groups and over time and to compare H_{max}/M_{max} ratios from all groups. Then, statistics were completed with a multiple-comparison *post-hoc* test (Student–Newman–Keuls method). Data were expressed as mean ± SEM and significant difference was considered when $p < 0.05$.

Results

SVF composition

Analysis of the SVF indicated that cell viability was 92.8 ± 3.03% and that recovery yield was $1.67 \pm 0.71 \times 10^6$ cells per ml of fat. Furthermore, in group SVF, 10^6 cells in the 50 µl was injected through the dura.

Animals

After SCI, all animals exhibited dramatic and bilateral hindlimb paralysis with no movement or only slight joint movements. On the 45 operated rats, 15 rats from SHAM ($n=5$), NaCl ($n=5$) and SVF ($n=5$) groups were sacrificed 2 weeks after the SCI for evaluation of the IL-1, IL6 and TNF-α levels. All other animals underwent the weekly behavioral tests to electrophysiological recordings. Their weight did not drop throughout the experiment.

Endogenous inflammation

Measurement of IL-1β, IL-6 and TNF-α levels at the lesion site indicated that the level of inflammation was higher in the NaCl group than in the two other groups

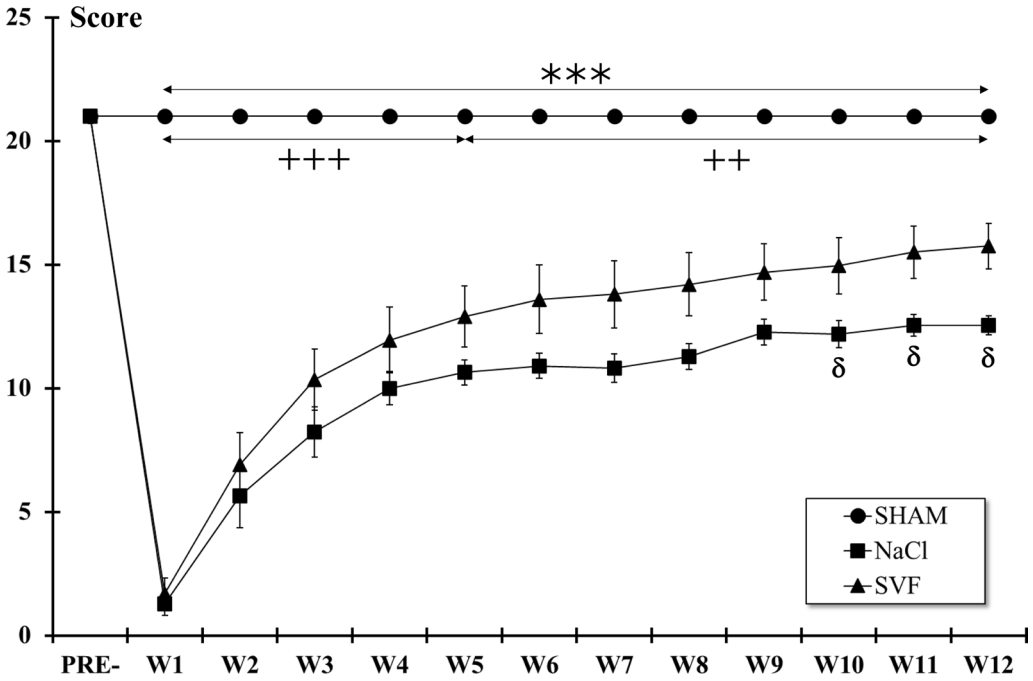


Fig. 3 *BBB locomotor rating scale.* After the SCI, the BBB score in each injured group dropped significantly, and then a slow recovery was observed until W12. From W10, the BBB score in the SVF group became higher than in the NaCl groups. Significant difference in the BBB scores is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group), + (SVF group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs.* NaCl group). (1 symbol, $p < 0.05$, 2 symbols, $p < 0.01$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

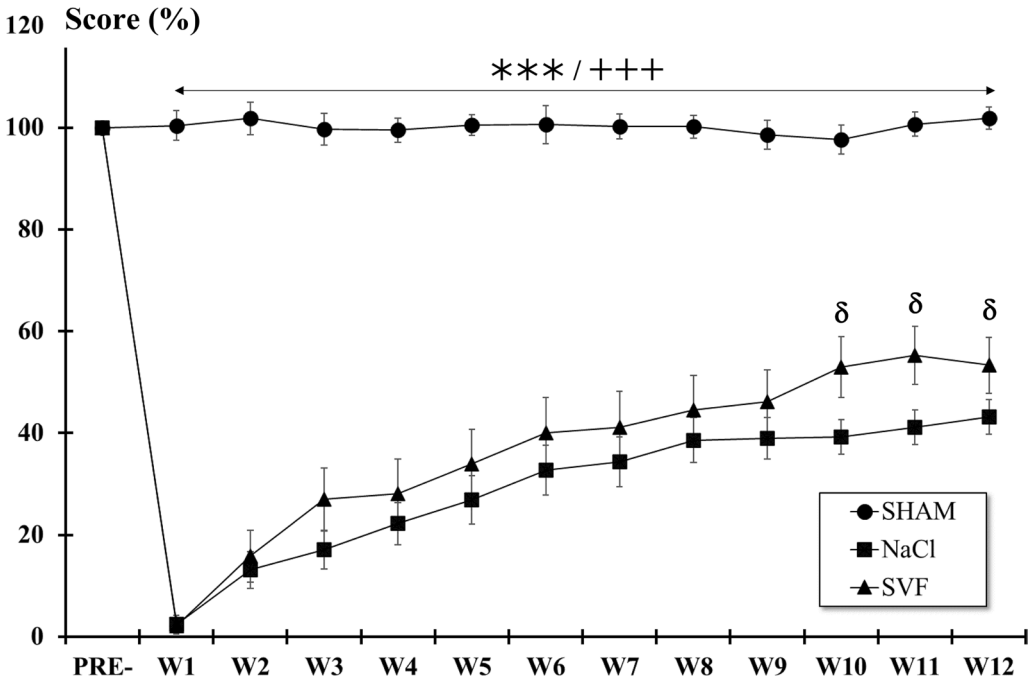


Fig. 4 *Ladder climbing test*. After the SCI, the climbing score in each injured group dropped significantly, and then a slow recovery was observed until W12. From W10, some differences were observed between the NaCl and the SVF groups. Significant difference in the climbing scores is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group), + (SVF group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs*. NaCl group) (1 symbol, $p < 0.05$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

2 weeks after the SCI. Data also showed that in the SVF group, the inflammatory reaction was reduced, notably, for the IL-6 in which no difference was observed between the SHAM and the SVF group (Fig. 2).

Behavioral tests

BBB test. Analysis of the BBB scores showed that scores significantly ($p < 0.001$) dropped one week (W1) post-injury in all lesioned groups (NaCl and SVF) compared to pre-injury values (PRE-). Although scores of these two groups remained statistically lower than the SHAM group over the course of the study, slow recovery was observed during the eleven following weeks reaching at W12 the score of 12.55 ± 0.38 (intermediate stage: intervals of uncoordinated stepping) for the NaCl group and 15.75 ± 0.92 (late stage: consistent forelimb and hindlimb coordination with consistent weight support) for the SVF group. Significant differences between NaCl and SVF groups were detected from W10 following injury (Fig. 3).

Ladder climbing test. Immediately after the SCI, the climbing scores dropped significantly ($p < 0.001$). Then, a slow recovery was observed from W1 to W12 in the two lesioned groups (Fig. 4). However, although scores of these two groups remained statistically ($p < 0.001$) lower than the SHAM group over the course of the study, only significant differences ($p < 0.05$) between the two lesioned

(See figure on next page.)

Fig. 5 *Gait analysis parameters.* **A** Regulatory index. Animals treated with NaCl presented a significant decrease in the index of the degree of interlimb coordination compared to the SHAM and SVF groups. **B** Phase dispersion. Average deviation between hindlimbs from the expected value of 50%: animals treated with NaCl showed a significant increase compared to the SHAM and SVF groups. **C** Average speed. The average crossing speed on the glass plate was significantly reduced in the NaCl group compared to the two other groups. **D** Stride length. Average stride length between hindlimbs was significantly decreased in the NaCl and SVF groups compared to the SHAM group but to a lesser extent in the SVF group. **E** Swing phase. The average time of the swing phase between hindlimbs was significantly reduced in the NaCl and SVF groups compared to the SHAM group. **F** Stance phase. Average stance phase between hindlimbs showed a significant reduction in the NaCl compared to the two other groups. **G** Step cycle. Average step cycle between hindlimbs showed a significant reduction in the NaCl compared to the two other groups. **H** Step sequence patterns seen in normal rats (adapted from Cheng et al. [66]). Significant difference is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group), + (SVF group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs*. NaCl group) (1 symbol, $p < 0.05$, 2 symbols, $p < 0.01$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

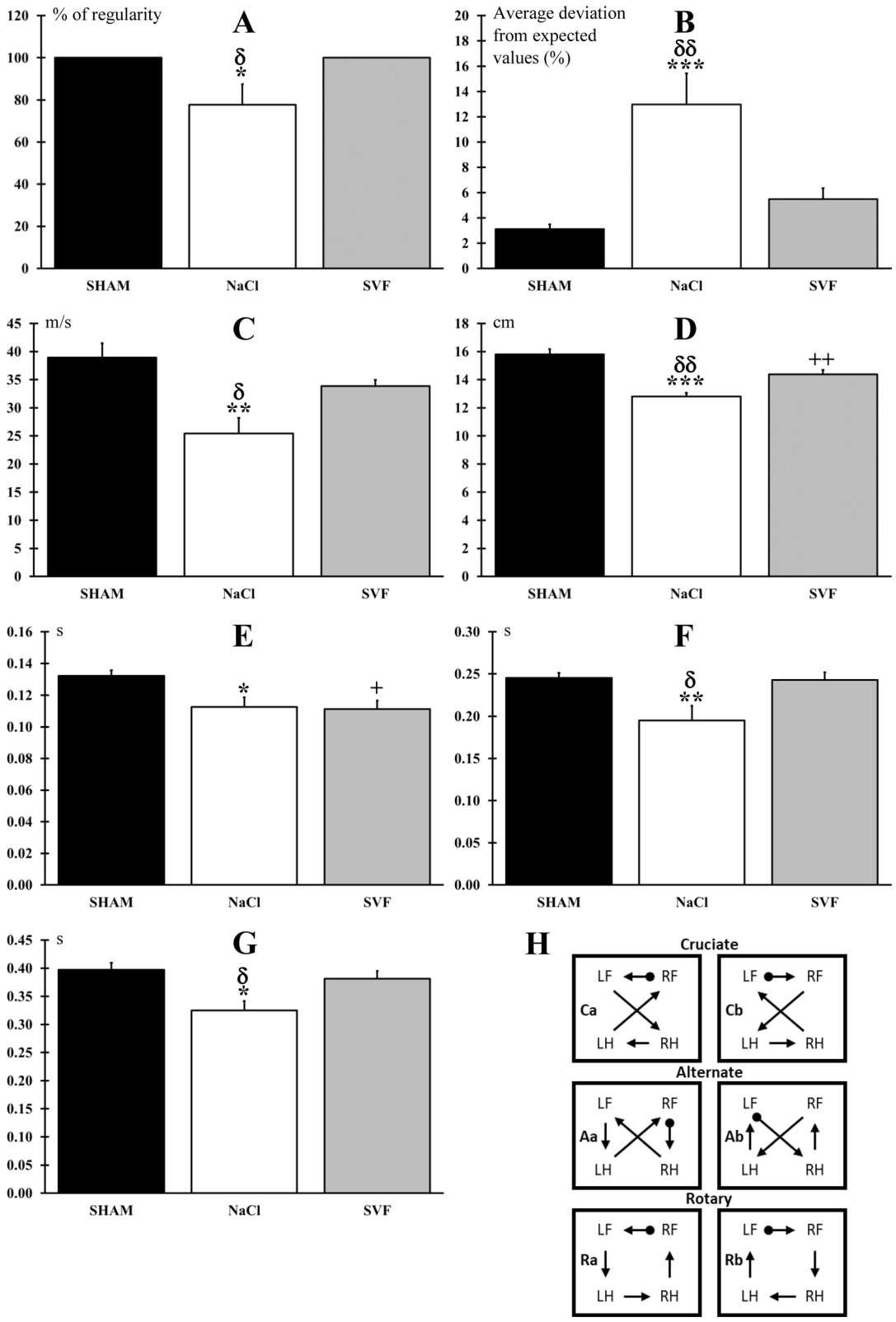


Fig. 5 (See legend on previous page.)

groups were observed for the three last weeks of the study.

Gait analysis. At W12, the regulatory index was 100% in the SHAM and SVF groups, and significantly ($p < 0.05$) reduced in NaCl group (77.78 ± 0.9.68%) (Fig. 5A). Moreover, animals from NaCl (12.97 ± 6.96%) groups showed a significant ($p < 0.001$) increase in phase dispersion compared to the SHAM (3.12 ± 0.38%, $p < 0.001$) and SVF (5.49 ± 0.86%, $p < 0.01$) groups. No difference was found between the SHAM and SVF groups (Fig. 5B). Furthermore, there was no significant difference in the average crossing speed on the glass plate between the SVF (33.85 ± 1.08 $cm.s^{-1}$) and the SHAM groups (38.95 ± 2.51 $cm.s^{-1}$), while it was significantly reduced for the NaCl group (25.41 ± 2.82 $cm.s^{-1}$) compared to the SHAM ($p < 0.01$) and SVF ($p < 0.05$) groups (Fig. 5C). Concerning the stride length, a significant reduction was observed in the NaCl (12.80 ± 0.26 cm) and SVF (14.38 ± 0.31 cm) groups ($p < 0.001$ and $p < 0.01$, respectively) compared to the SHAM group (15.79 ± 0.38 cm). However, this reduction was smaller in the SVF group, and a significant difference ($p < 0.01$) was found between the NaCl and the SVF group (Fig. 5D). For the swing phase time, a significant reduction ($p < 0.05$) was found in the NaCl (0.11 ± 0.01 s) and SVF (0.11 ± 0.01 s) groups compared to the SHAM group (0.13 ± 0.01 s): no difference was observed between the NaCl group and the SVF group (Fig. 5E). For the stance phase time, a significant decrease was found in the NaCl group (0.19 ± 0.02 s) compared to the two other groups (SHAM: 0.24 ± 0.01 s, $p < 0.01$ and SVF: 0.24 ± 0.01 s, $p < 0.05$) (Fig. 5F). Finally, the step cycle time was significantly ($p < 0.01$) reduced in the NaCl group (0.32 ± 0.01 s) compared to the two other groups (SHAM: 0.39 ± 0.01 s and SVF: 0.38 ± 0.01 s) (Fig. 5G). The analysis of the frequency of regular step pattern showed a predominance of the "alternate" step pattern among all groups (97.78% for the SHAM group, 84.44% for the SVF group and 54.55% for the NaCl group). The "cruciate" and "rotate" step patterns, commonly used by normal animals, represented respectively 2.22 and 0% for the SHAM group, 2.22 and 13.33% for the SVF group, and 13.64 and 9.09% for the NaCl group (Fig. 5H).

Electrophysiological recordings.

The values of the H_{max}/M_{max} ratios measured at the baseline stimulation (0.3 Hz) were 0.42 ± 0.03, 0.38 ± 0.03 and 0.40 ± 0.02 for SHAM, NaCl, and SVF groups, respectively. Although the ratio in the NaCl group seemed to be lower, data analysis indicated that these three ratios were not statistically different. However, except for animals from NaCl group, the H_{max}/M_{max} ratio decreased when the frequency of stimulation increased (Fig. 6). Thus, in the SHAM group, the ratio values at 1, 5 and 10 Hz were 88.37 ± 2.71%, 77.08 ± 3.37% and 63.65 ± 4.60% of the ratio measured

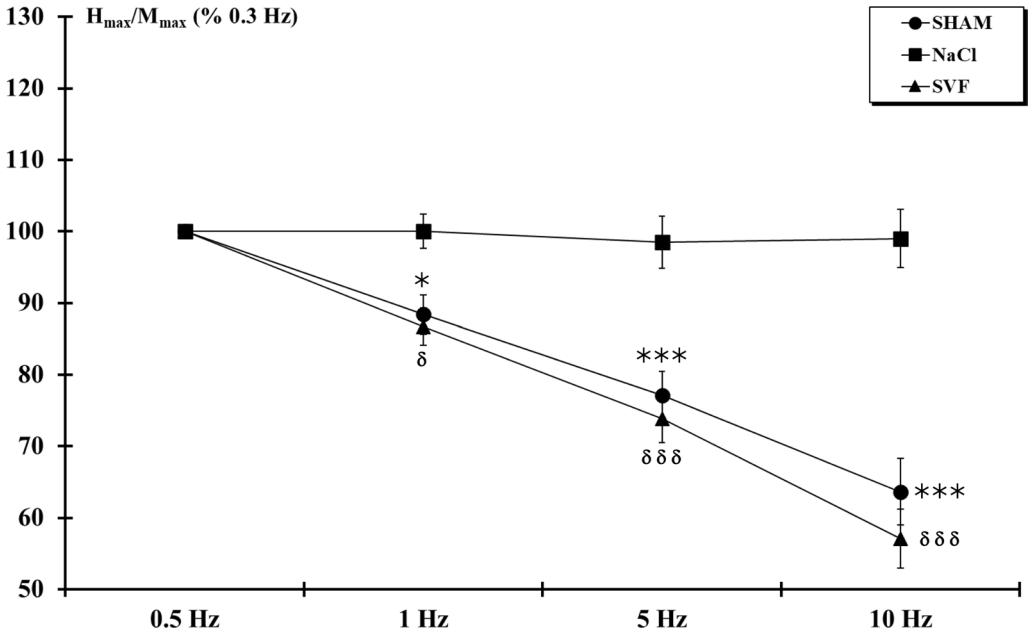


Fig. 6 *H-reflex rate sensitivity.* H_{max}/M_{max} ratio, measured after increasing the frequency of stimulation, showed, from 1 Hz stimulation, a significant depression in the SHAM and SVF groups. For a given frequency, significant difference in the H_{max}/M_{max} ratio is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs.* NaCl group) (1 symbol, $p < 0.05$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

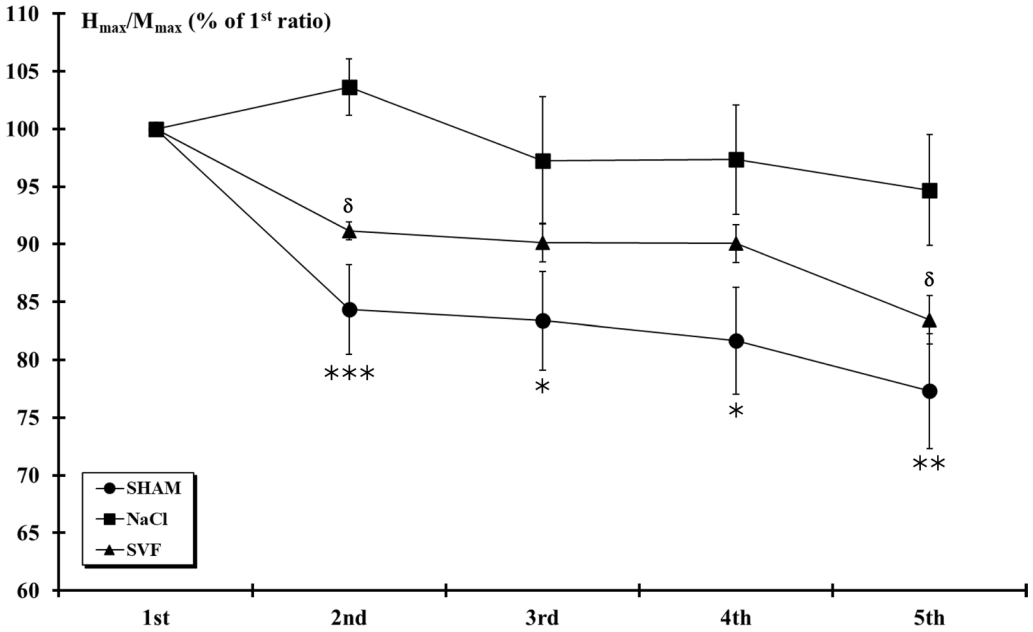


Fig. 7 *H-reflex excitability*. At the 12th week post-injury, H-reflex responses at 10 Hz-train stimulation were markedly reduced by subsequent stimuli (normalized to 1st response) in the SHAM and SVF groups. This depression was absent in rats from NaCl group. For a given response, significant difference in the H_{max}/M_{max} ratio is indicated by a * (NaCl group *vs.* SHAM group) and δ (SVF group *vs*. NaCl group) (1 symbol, $p < 0.05$, 2 symbols, $p < 0.01$ and 3 symbols, $p < 0.001$)

at the baseline stimulation, respectively, while in the SVF group, the values were 88.37 ± 2.60%, 73.86 ± 3.36% and 57.10 ± 4.10%, respectively. Data analysis indicated that, in the SHAM and SVF groups, the depression to stimulation statistically differed from the NaCl group at 1 Hz ($p < 0.05$), 5 Hz ($p < 0.001$) and 10 Hz ($p < 0.001$).

Analysis of M and H-reflex amplitude to repetitive stimulation at 10 Hz indicated that H-reflex responses

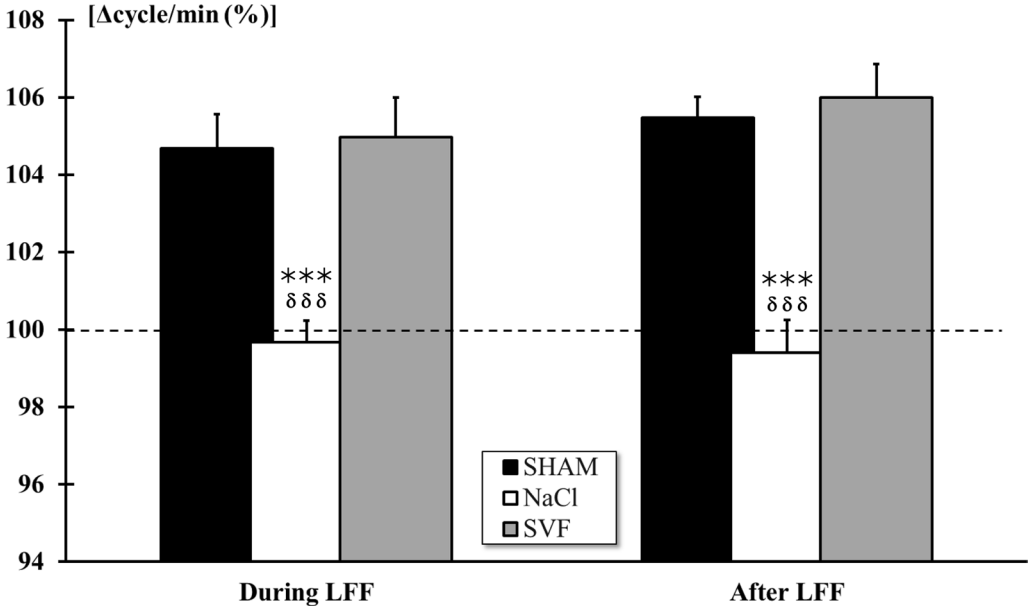


Fig. 8 *Ventilatory adjustment to 3-min EIF*. The ventilatory activity significantly increased in the SHAM and SVF groups during and after 3-min muscle stimulation of the tibialis anterior muscle under local regional circulatory occlusion. Significant difference in the mean ventilatory frequency is indicated by a * (NaCl group *vs*. SHAM group) and δ (SVF group *vs*. NaCl group) (3 symbols, $p < 0.001$)

were markedly reduced ($p < 0.001$) by subsequent stimuli (normalized to the first response) in the SHAM group ($p < 0.001$ for the 2nd, 3rd, 4th and 5th responses compared to the 1st response). Similar rate-sensitive depression was also observed in the SVF group but absent in NaCl group. Furthermore, significant ($p < 0.05$) differences were observed between the NaCl and the two other groups (Fig. 7).

Analysis of ventilatory adjustments during and after activation of metabosensitive afferent fibers by *Tibialis anterior* muscle repetitive stimulation and under regional circulatory occlusion revealed ($p < 0.001$) a significant increase of ventilatory frequency only in SHAM and SVF groups. Furthermore, data analysis indicated a significant difference ($p < 0.001$) between NaCl and the two other groups. No difference was noted between SHAM and SVF groups (Fig. 8).

Discussion

The aim of this study was to assess the effectiveness of early transplanting SVF in enhancing sensorimotor recovery following an acute thoracic spinal cord contusion in rats. Our hypothesis was that SVF, injected within the four hours after the T10 contusion, would modulate the immune response and improve sensorimotor recovery SCI.

Our results indicated that subdural injection of the SVF into the lesioned area reduced the inflammatory response two weeks after the injury and showed sensorimotor recovery over the 3-month analysis period. Furthermore, electrophysiological recordings taken twelve weeks after the injury showed the restoration of sensorimotor loop and modulation of the supraspinal network in the treated rats.

The SVF reduced the SCI-induced inflammation level

Immediately after SCI, an inflammatory response occurs, characterized by a local secretion of pro-inflammatory cytokines [76] and an infiltration of immune cells [77–79]. This reaction may persist for several weeks and presents a peak of reactive astrocytes and macrophages around fourteen days after the injury [80]. This inflammatory response can lead to tissue degeneration and limit spontaneous regeneration.

The first step of our study was to demonstrate that the SVF did not increase endogenous inflammatory reaction more than without treatment, which could lead to further functional loss. To do this, we measured the levels of IL-1β, IL-6, and TNF-α at the site of the lesion. Our findings indicate that the SVF injection at the lesion site limits the inflammation. Indeed, in the SVF group, the pro-inflammatory cytokines level was significantly lower than in NaCl group, and no difference was found between SVF and SHAM group for IL-6.

Previous studies have demonstrated the anti-inflammatory and immunomodulatory properties of SVF, particularly through the attenuation of pro-inflammatory cytokine levels in the injured tissue and through the secretion of anti-inflammatory cytokines [81, 82]. Similarly, in spinal contusion in mice, the grafting of ADSCs at the injured site reduced the expression of inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α. Furthermore, the authors also showed that the ADSCs administration inhibited the activation of the Jagged1/Notch signaling pathway, which is involved in neuroinflammation and normally increased after trauma [23]. ADSCs also promote M2 macrophages activation, which release IL-4, IL-10, and IL-13 anti-inflammatory cytokines, as well as immunomodulatory factors like TGF-β, that inhibit the action of pro-inflammatory immune cells and reduce the secretion of pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6, and TNF-α. TGF-β additionally promotes the development of some subpopulations of regulatory T cells, which play an essential role in suppressing the immune response and preventing excessive inflammation [83, 84]. Additionally, VEGF secreted by endothelial progenitors present in the SVF can activate autophagy through the activation of autophagic proteins Beclin 1 and LC3B [85]. This helps to decrease neuroinflammation by eliminating cell flow. Thus, it can be hypothesized that the ADSCs and endothelial progenitors contained in the SVF exhibit similar action mechanisms that enable the reduction of the inflammatory levels at the site of the injury.

The specific mechanisms by which SVF reduces inflammation in the SCI microenvironment is still undetermined. Although the signaling pathways involved in the interaction between SVF and inflammatory cells remain unknown, it can be hypothesized that the modulation of the immune response and the reduction of pro-inflammatory cytokines could be attributed to the various cellular components contained in SVF, such as ADSCs and endothelial progenitor cells [86–88], and the mechanic support exerted by the extracellular matrix [54].

In our study, SVF demonstrated its ability to reduce inflammation in cases of acute SCI. However, further mechanistic investigations should be conducted to identify the involved metabolic pathways.

The SVF improves sensorimotor recovery

The drop in sensorimotor scores in the contused rats was in accordance with previous studies demonstrating dramatic and significant deficits immediately after the SCI followed by a spontaneous recovery [57, 58, 89]. However, the BBB and the ladder climbing scores became significantly higher from the tenth week in rats treated

with SVF compared to rats from NaCl group. Indeed, for the BBB test which evaluates the interlimb coordination, contrary to untreated rats that exhibited uncoordinated stepping, animals receiving SVF showed consistent forelimb and hindlimb coordination with consistent weight support. These results were confirmed with the ladder climbing test that evaluates the integration of fine sensory and motor inputs and provides an assessment of tactile sense, proprioception, and motor function.

Additionally, gait analysis revealed that rats treated with SVF had a faster locomotion, a higher stride length, stance phase and step cycle than NaCl group. One can notice that previous studies have described a correlation between gait speed and a shorter paw contact time with the ground [67, 90]. However, in our results, the shorter locomotion speed in the NaCl group can be explained by the increase in the number and decrease in the size of the steps. The absence of difference in the swing phase between the SVF and NaCl groups can be explained by the fact that during the gait cycle, the stance phase is longer than the swing phase and that its duration exhibits a lower level of variation in relation to speed [67]. The reduction in phase dispersion and the achievement of a maximum score on the regulation index indicate that SVF improves coordination during walking that is essential for ensuring smooth and efficient movement. It requires precise synchronization of limb movements and different body parts involved in walking. Altered coordination can result in an unstable gait, disordered movements, and increased energy expenditure. Thus, improvements observed in treated animals may allow higher stability, balance, and movement efficiency during walking. These results are consistent with the BBB scores obtained at 12 weeks after the SCI showing that treated animals displayed consistent coordination, highlighting a more precise motor control compared to non-treated animals that mostly exhibited uncoordinated steps.

Previous studies have shown that functional recovery after SCI following the use of ADSCs is correlated with reduced lesion volume, decreased glial scar, neural differentiation, and enhanced axonal outgrowth [15, 16, 91]. Given the shared components of the ADSC cocktail with that of the SVF, our observations may be associated with tissue preservation due to both neuroprotective and regenerative effects as shown by those studies. However, histological protocols are necessary to confirm this possible analysis. In a comparable experimental settings, the neuroprotection has been primarily attributed to the activation of the transforming growth factor-beta1 (TGF-β1)/ SMAD family member 3 protein (P-SMAD3)/procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2 (PLOD2) pathway in spinal cord neurons [15, 21]. This pathway regulates the synthesis and maturation of collagen, which is crucial for the structure and function of the extracellular matrix. In addition, the literature also reported that ADSCs implanted at the site of spinal injury in mice can differentiate into neurons and create functional neural circuits leading to the improvement in sensorimotor recovery [83]. ADSCs also secrete neurotrophic factors such as Nerve Growth Factor (NGF), Glial-Derived Neurotrophic Factor (GDNF), Hepatocyte Growth Factor (HGF), and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) [92] that modulate the molecular pathways of PI3K/AKT and MAP kinase, and promote neuronal survival, growth, and differentiation [93]. In addition, endothelial progenitor cells contained in the SVF release VEGF which supports the survival of neurons, growth of neurites, and local network restructuring below the injury site leading to improvement of functional recovery after SCI in rats by activating the MAPK/Erk1/2 pathway [50]. Furthermore, the pericytes found in SVF possess significant regenerative abilities due to their abundance and function as a reservoir of stem cells that can be mobilized in case of injury. TGF-β controls their activation, differentiation, and recruitment to injured sites [94]. As a result, these various metabolic pathways can contribute to the regeneration of damaged nervous tissue and to the improvement of functional recovery, it is possible that the therapeutic effects observed in this study could be the result of the synergistic action of all these cells.

In our study, we observed the capacity of SVF to improve sensorimotor recovery after acute SCI. To understand the mechanisms underlying these improvements, histological analyses will be necessary.

The SVF restores spinal and supraspinal sensorimotor loop

SCI affects neural networks both above and below the lesion. Indeed, depending on the severity of the injury, the sensorimotor loop can be directly interrupted, and/or ascending and descending pathways transmitting information from or toward these loops disrupted. This can lead to various sensorimotor impairments such as muscle paralysis, hypotonia, loss of reflexes below the level of injury, and spasticity [95]. It has been described that SCI results in an increase in H-reflex amplitude (and H_{max}/M_{max} ratio) due to downward supraspinal inhibition release and a decrease in ventilatory adjustment to muscle fatigue due to upward excitatory interruption [57, 68, 69, 72, 73, 75, 96, 97].

Twelve weeks post-injury, our results showed a significant post-activation depression of the H-reflex in the SVF group, similarly to the non-lesioned group; in the non-treated group, the amplitude of the H-reflex remaining constant whatever the stimulation frequency. This result indicates that immediate administration of SVF after the injury was beneficial for the local neural network.

Improvements also observed in the SVF group with 10 Hz stimulation trains could indicate a beneficial effect of the SVF on the supralesional ascending and descending pathways.

These findings are further supported by measuring the response of the ventilatory adjustments during the electrically-activation of metabosensitive fibers (groups III and IV afferents) originating from the *Tibialis anterior* muscle. Indeed, we observed that animals from the SVF group exhibited a similar ventilatory adjustment to that of the non-injured animals, whereas the NaCl group animals were unable to adjust their ventilatory frequency. This result could indicate that SVF has restored the transmission of neural impulses from the ascending pathway to the pontobulbar respiratory centers.

Understanding the mechanisms that underlie these functional recoveries is essential. Several studies have shown that ADSCs transplantation can lead to electrophysiological improvements after SCI. One study reported that the administration of ADSCs combined with a fibrin matrix after SCI in rats resulted in the restoration of post-activation depression of the H-reflex 60 days after the injury [98]. Additionally, a study demonstrated that ADSCs transplantation in rats with SCI resulted in significant recovery of motor-evoked potentials recorded at the spinal cord level [99]. This suggests that treatment with ADSCs contained in the SVF could restore the sensorimotor loop and spinal pathways after SCI suggesting neuroprotective or neuroregenerative properties of ADSCs.

Thus, it can be assumed that SVF, like ADSCs, restores the function of segmental neural networks and the transmission of information from these networks to supraspinal centers and vice versa. However, further additional research is needed to determine the potential of the SVF compared to ADSCs.

The SVF is a good candidate for clinical trial

The accessibility, the minimally invasive liposuction procedure to extract SVF and its therapeutic potential make it a promising candidate for clinical trials in SCI treatment. Unlike ADSCs, the isolation of SVF does not require cell culture, eliminating the need for lengthy in vitro expansion. This direct isolation approach enables a faster and more convenient procedure, particularly in clinical settings. Moreover, the use of autologous SVF significantly reduces the risk of cell rejection, further enhancing its potential as a therapeutic option.

This study represents an initial exploration of the immediate administration of SVF and its effects on inflammatory response and functional recovery after SCI. Further investigations are needed to uncover the underlying mechanisms responsible of the observed improvements. In-depth histological analyses and investigations into the secretory molecules of different cell types within the SVF could provide additional insights into these mechanisms and the role of each of these elements.

Furthermore, our study does not provide insight into the fate of the cells from the SVF injected within the lesion. Pre-labelling the cells prior to injection could allow for the assessment of their viability and integration into the neural tissue. Furthermore, proper cell labelling would facilitate easier tracking of the cells and their interactions within the injured spinal cord.

Conclusion

The accessibility, minimal invasiveness, autologous nature, and potential for functional improvement make SVF a promising candidate for clinical trials in SCI. However, although functional improvements were observed in animals treated with SVF, many questions remain as to the underlying mechanisms responsible for the reduced inflammatory response and functional recoveries. Understanding these mechanisms will help determine the full therapeutic potential of SVF and should enable us to propose a management and repair strategy adapted to patients with SCI.

Abbreviations

ADSCs	Adipose-derived stem cells
EIF	Electrically-induced muscle fatigue
EMG	Electromyographic
FDD	Frequency-dependent depression
FRD	Frequency-related depression
IL-1β	Interleukin-1beta
IL-6	Interleukin-6
LFD	Low-frequency depression
MSCs	Mesenchymal stem cells
NSPCs	Neural stem and progenitor cells
OECs	Olfactory ensheathing cells
OPCs	Oligodendrocyte progenitor cells
P-SMAD3	SMAD family member 3 protein
PLOD2	Procollagen-lysine, 2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2
RDD	Rate-dependent depression
RSD	Rate-sensitive depression
SCI	Spinal cord injury
SVF	Stromal vascular fraction
TGF-β1	Transforming growth factor-beta1
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha
T10	10Th thoracic vertebra

Acknowledgements

This work was supported by public [*Aix-Marseille Université* (AMU) and *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS)] and private [Combattre la Paralysie Association] grants. The authors also thank Marie VOGTENSPERGER, Laurent GIRAUDO, Pauline FRANÇOIS, Laurent ARNAUD, Jérémie MAGALON for the technical and scientific advice.

Author contributions

CE, MS, MB, JMB, TC, FS, SF, PD, NS, TM equally conceived and designed the study. CE, MS, MB, TC, PD and TM performed the experiment, analyzed the data, performed the statistical analysis, and wrote the paper. All authors read and approved the final manuscript.

Funding
The funding body played no role in the design of the study and collection, analysis, and interpretation of data and in writing the manuscript.

Availability of data and materials
All data analyzed during this study are included in this publication. The datasets during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate
The "Efficacy of the immediate adipose-derived stromal vascular fraction autograft on sensorimotor recovery after spinal contusion in rats" was established according to the French legislation (Decrees and orders N°2013–118 of February 1st, 2013, JORF n°0032) concerning animal care guidelines on animal experimentation, and after approval by animal Care Committees of *Aix-Marseille Université* (AMU) and *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS). The authorization number granted by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (MESRI) is APAFIS#30957, established on June 14th, 2021. All persons are licensed to conduct live animal experiments and all experimental rooms have a national authorization to accommodate animals (License n°B13.013.06). Furthermore, experiments were performed in accordance with the recommendations provided in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health), with the directives 86/609/EEC and 010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 24 November 1986 and of 22 September 2010, respectively, and with the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines.

Consent for publication
Not Applicable.

Competing interests
The authors declare that there is no competing interests.

Author details
[1]Aix-Marseille Univ, CNRS, ISM UMR 7287, Institut des Sciences du Mouvement: Etienne-Jules MAREY, Equipe Plasticité Des Systèmes Nerveux Et Musculaire (PSNM), Parc Scientifique Et Technologique de Luminy, Aix Marseille Univ, CC910 - 163, Avenue de Luminy, 13288 Marseille Cedex 09, France. [2]Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM), INSERM 1409 Centre d'Investigation Clinique en Biothérapies, Unité de Culture Et Thérapie Cellulaire, Hôpital de La Conception, 147, Boulevard Baille, 13385 Marseille Cedex 05, France. [3]Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Service de Neurochirurgie, Hôpital de La Timone, 264, Rue Saint-Pierre, 13005 Marseille, France.

Received: 13 September 2023 Accepted: 23 January 2024
Published online: 02 February 2024

References

1. Craig A, Tran Y, Wijesuriya N, Middleton J. Fatigue and tiredness in people with spinal cord injury. J Psychosom Res. 2012;73:205–10.
2. Craig A, Nicholson Perry K, Guest R, Tran Y, Dezarnaulds A, Hales A, et al. Prospective study of the occurrence of psychological disorders and comorbidities after spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil. 2015;96:1426–34.
3. Middleton JW, Dayton A, Walsh J, Rutkowski SB, Leong G, Duong S. Life expectancy after spinal cord injury: a 50-year study. Spinal Cord. 2012;50:803–11.
4. Xiao W-P, Ding L-L-Q, Min Y-J, Yang H-Y, Yao H-H, Sun J, et al. Electroacupuncture promoting axonal regeneration in spinal cord injury rats via suppression of Nogo/NgR and Rho/ROCK signaling pathway. NDT. 2019;15:3429–42.
5. Alcántar-Garibay O, Incontri-Abraham D, Ibarra A. Spinal cord injury-induced cognitive impairment: a narrative review. Neural Regen Res. 2022;17:2649.
6. Flack J, Sharma K, Xie J. Delving into the recent advancements of spinal cord injury treatment: a review of recent progress. Neural Regen Res. 2022;17:283.
7. Assinck P, Duncan GJ, Hilton BJ, Plemel JR, Tetzlaff W. Cell transplantation therapy for spinal cord injury. Nat Neurosci. 2017;20:637–47.
8. Zipser CM, Cragg JJ, Guest JD, Fehlings MG, Jutzeler CR, Anderson AJ, et al. Cell-based and stem-cell-based treatments for spinal cord injury: evidence from clinical trials. Lancet Neurol. 2022;21:659–70.
9. Gunawardana SC. Benefits of healthy adipose tissue in the treatment of diabetes. WJD. 2014;5:420.
10. Tsuji W, Rubin JP, Marra KG. Adipose-derived stem cells: Implications in tissue regeneration. WJSC. 2014;6:312.
11. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. Tissue Eng. 2001;7:211–28.
12. Miana VV, Prieto González EA. Adipose tissue stem cells in regenerative medicine. ecancer [Internet]. 2018 [cited 2023 Aug 1];12. Available from: https://www.ecancer.org/journal/12/full/822-adipose-tissue-stem-cells-in-regenerative-medicine.php
13. Al-Ghadban S, Artiles M, Bunnell BA. Adipose stem cells in regenerative medicine: looking forward. Front Bioeng Biotechnol. 2022;9:837464.
14. Huang L, Fu C, Xiong F, He C, Wei Q. Stem cell therapy for spinal cord injury. Cell Transpl. 2021;30:096368972198926.
15. Rafiei Alavi SN, Madani Neishaboori A, Hossein H, Sarveazad A, Yousefifard M. Efficacy of adipose tissue-derived stem cells in locomotion recovery after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis on animal studies. Syst Rev. 2021;10:213.
16. Ohta Y, Hamaguchi A, Ootaki M, Watanabe M, Takeba Y, Iiri T, et al. Intravenous infusion of adipose-derived stem/stromal cells improves functional recovery of rats with spinal cord injury. Cytotherapy. 2017;19:839–48.
17. Takahashi A, Nakajima H, Uchida K, Takeura N, Honjoh K, Watanabe S, et al. Comparison of mesenchymal stromal cells isolated from murine adipose tissue and bone marrow in the treatment of spinal cord injury. Cell Transpl. 2018;27:1126–39.
18. Liau LL, Looi QH, Chia WC, Subramaniam T, Ng MH, Law JX. Treatment of spinal cord injury with mesenchymal stem cells. Cell Biosci. 2020;10:112.
19. Chen C-C, Yang S-F, Wang I-K, Hsieh S-Y, Yu J-X, Wu T-L, et al. The long-term efficacy study of multiple allogeneic canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells transplantations combined with surgery in four dogs with lumbosacral spinal cord injury. Cell Transpl. 2022;31:096368972210814.
20. Chen J, Wang L, Liu M, Gao G, Zhao W, Fu Q, et al. Implantation of adipose-derived mesenchymal stem cell sheets promotes axonal regeneration and restores bladder function after spinal cord injury. Stem Cell Res Ther. 2022;13:503.
21. Li F, Liu H, Zhang K, Xiao D-J, Wang C, Wang Y-S. Adipose-derived stromal cells improve functional recovery after spinal cord injury through TGF-β1/Smad3/PLOD2 pathway activation. Aging. 2021;13:4370–87.
22. Li J, Ji Z, Wang Y, Li T, Luo J, Li J, et al. Human adipose-derived stem cells combined with nano-hydrogel promote functional recovery after spinal cord injury in rats. Biology. 2022;11:781.
23. Zhou Z, Tian X, Mo B, Xu H, Zhang L, Huang L, et al. Adipose mesenchymal stem cell transplantation alleviates spinal cord injury-induced neuroinflammation partly by suppressing the Jagged1/Notch pathway. Stem Cell Res Ther. 2020;11:212.
24. Hur JW, Cho T-H, Park D-H, Lee J-B, Park J-Y, Chung Y-G. Intrathecal transplantation of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells for treating spinal cord injury: a human trial. J Spinal Cord Med. 2016;39:655–64.
25. Bydon M, Dietz AB, Goncalves S, Moinuddin FM, Alvi MA, Goyal A, et al. CELLTOP clinical trial: first report from a phase 1 trial of autologous adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in the treatment of paralysis due to traumatic spinal cord injury. Mayo Clin Proc. 2020;95:406–14.
26. Nguyen A, Guo J, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: current concepts and review of the literature. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2016;69:170–9.
27. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, Dominici M, Katz AJ, March KL, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and

Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). Cytotherapy. 2013;15:641–8.
28. Tauer JT, Al-Jallad H, Umebayashi M, Bakhsh D, Rauch D, Tran SD, et al. Characterization and functional analysis of the adipose tissue-derived stromal vascular fraction of pediatric patients with osteogenesis imperfecta. Sci Rep. 2022;12:2414.
29. You D, Jang MJ, Kim BH, Song G, Lee C, Suh N, et al. Comparative study of autologous stromal vascular fraction and adipose-derived stem cells for erectile function recovery in a rat model of cavernous nerve injury. Stem Cells Transl Med. 2015;4:351–8.
30. Ramakrishnan VM, Boyd NL. The adipose stromal vascular fraction as a complex cellular source for tissue engineering applications. Tissue Eng Part B Rev. 2018;24:289–99.
31. Aronowitz JA, Lockhart RA, Hakakian CS. Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue. Springerplus. 2015;4:713.
32. Mohammadi R, Sanaei N, Ahsan S, Masoumi-Verki M, Khadir F, Mokarizadeh A. Stromal vascular fraction combined with silicone rubber chamber improves sciatic nerve regeneration in diabetes. Chin J Traumatol. 2015;18:212–8.
33. Riordan NH, Ichim TE, Min W-P, Wang H, Solano F, Lara F, et al. Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. J Transl Med. 2009;7:29.
34. Semon JA, Zhang X, Pandey AC, Alandete SM, Maness C, Zhang S, et al. Administration of murine stromal vascular fraction ameliorates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. Stem Cells Transl Med. 2013;2:789–96.
35. Han S-K, Kim H-R, Kim W-K. The treatment of diabetic foot ulcers with uncultured, processed lipoaspirate cells: a pilot study: diabetic foot and cell therapy. Wound Repair Regen. 2010;18:342–8.
36. Jarajapu YPR, Grant MB. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions. Circ Res. 2010;106:854–69.
37. Rajashekhar G, Ramadan A, Abburi C, Callaghan B, Traktuev DO, Evans-Molina C, et al. Regenerative therapeutic potential of adipose stromal cells in early stage diabetic retinopathy. Chen J PLoS ONE. 2014;9:e84671.
38. You H-J, Han S-K. Cell therapy for wound healing. J Korean Med Sci. 2014;29:311.
39. Atalay S, Coruh A, Deniz K. Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. Burns. 2014;40:1375–83.
40. Rigotti G, Marchi A, Gali M, Baroni G, Benati D, Krampera M, et al. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem cells. Plast Reconstr Surg. 2007;119:1409–22.
41. Van Dijk A, Naaijkens BA, Jurgens WJFM, Nalliah K, Sairras S, Van Der Pijl RJ, et al. Reduction of infarct size by intravenous injection of uncultured adipose derived stromal cells in a rat model is dependent on the time point of application. Stem Cell Res. 2011;7:219–29.
42. Gimble JM, Bunnell BA, Chiu ES, Guilak F. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. Stem Cells. 2011;29:749–54.
43. Khalpey Z, Janardhanan R, Konhilas J, Hemphill C. First in man: adipose-derived stromal vascular fraction cells may promote restorative cardiac function. Am J Med. 2014;127:e11–2.
44. Premaratne GU, Ma L-P, Fujita M, Lin X, Bollano E, Fu M. Stromal vascular fraction transplantation as an alternative therapy for ischemic heart failure: anti-inflammatory role. J Cardiothorac Surg. 2011;6:43.
45. Jurgens WJFM, Kroeze RJ, Zandieh-Doulabi B, Van Dijk A, Renders GAP, Smit TH, et al. One-step surgical procedure for the treatment of osteochondral defects with adipose-derived stem cells in a caprine knee defect: a pilot study. BioResearch Open Access. 2013;2:315–25.
46. Mehrkens A, Saxer F, Güven S, Hoffmann W, Müller A, Jakob M, et al. Intraoperative engineering of osteogenic grafts combining freshly harvested, human adipose-derived cells and physiological doses of bone morphogenetic protein-2. eCM. 2012;24:308–19.
47. Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim NF, Maeda Takiya C, Borojevic R, Benati D, Bernardi P, et al. Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. Plast Reconstr Surg. 2015;135:999–1009.
48. Bora P, Majumdar AS. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation. Stem Cell Res Ther. 2017;8:145.
49. Wang Q, Li Y-H, Jiang W-J, Zhao J-G, Xiao B-G, Zhang G-X, et al. Graphene-based nanomaterials: potential tools for neurorepair. Curr Pharm Des. 2018;24:56–61.
50. Li J, Chen S, Zhao Z, Luo Y, Hou Y, Li H, et al. Effect of VEGF on inflammatory regulation, neural survival, and functional improvement in rats following a complete spinal cord transection. Front Cell Neurosci. 2017;11:381.
51. Bowles AC, Wise RM, Gerstein BY, Thomas RC, Ogelman R, Febbo I, et al. Immunomodulatory effects of adipose stromal vascular fraction cells promote alternative activation macrophages to repair tissue damage. Stem Cells. 2017;35:2198–207.
52. Pak J, Lee J, Pak N, Pak Y, Park K, Jeon J, et al. Cartilage regeneration in humans with adipose tissue-derived stem cells and adipose stromal vascular fraction cells: updated status. IJMS. 2018;19:2146.
53. Smith DR, Dumont CM, Park J, Ciciriello AJ, Guo A, Tatineni R, et al. Polycistronic delivery of IL-10 and NT-3 promotes oligodendrocyte myelination and functional recovery in a mouse spinal cord injury model. Tissue Eng Part A. 2020;26:672–82.
54. Guo J, Nguyen A, Banyard DA, Fadavi D, Toranto JD, Wirth GA, et al. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 2: mechanisms of regenerative action. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2016;69:180–8.
55. Donnelly DJ, Popovich PG. Inflammation and its role in neuroprotection, axonal regeneration and functional recovery after spinal cord injury. Exp Neurol. 2008;209:378–88.
56. François P, Giraudo L, Veran J, Bertrand B, Dumoulin C, Aboudou H, et al. Development and validation of a fully GMP-compliant process for manufacturing stromal vascular fraction: a cost-effective alternative to automated methods. Cells. 2020;9:2158.
57. Bonnet M, Alluin O, Trimaille T, Gigmes D, Marqueste T, Decherchi P. Delayed injection of a physically cross-linked PNIPAAm- *g* -PEG hydrogel in rat contused spinal cord improves functional recovery. ACS Omega. 2020;5:10247–59.
58. Scheff SW, Rabchevsky AG, Fugaccia I, Main JA, Lumpp JE. Experimental modeling of spinal cord injury: characterization of a force-defined injury device. J Neurotrauma. 2003;20:179–93.
59. Maijub JG, Boyd NL, Dale JR, Hoying JB, Morris ME, Williams SK. Concentration-dependent vascularization of adipose stromal vascular fraction cells. Cell Transplant. 2015;24:2029–39.
60. El-Habta R, Andersson G, Kingham PJ, Backman LJ. Anti-apoptotic effect of adipose tissue-derived stromal vascular fraction in denervated rat muscle. Stem Cell Res Ther. 2021;12:162.
61. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. J Neurotrauma. 1995;12:1–21.
62. Li Y, Decherchi P, Raisman G. Transplantation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing. J Neurosci. 2003;23:727–31.
63. Semler J, Wellmann K, Wirth F, Stein G, Angelova S, Ashrafi M, et al. Objective measures of motor dysfunction after compression spinal cord injury in adult rats: correlations with locomotor rating scores. J Neurotrauma. 2011;28:1247–58.
64. Hamers FPT, Lankhorst AJ, Van Laar TJ, Veldhuis WB, Gispen WH. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: its application to spinal cord contusion and transection injuries. J Neurotrauma. 2001;18:187–201.
65. Khalki L, Sadlaoud K, Lerond J, Coq J-O, Brezun J-M, Vinay L, et al. Changes in innervation of lumbar motoneurons and organization of premotor network following training of transected adult rats. Exp Neurol. 2018;299:1–14.
66. Cheng H, Almström S, Giménez-Llort L, Chang R, Ove Ögren S, Hoffer B, et al. Gait analysis of adult paraplegic rats after spinal cord repair. Exp Neurol. 1997;148:544–57.
67. Mendes CS, Bartos I, Márka Z, Akay T, Márka S, Mann RS. Quantification of gait parameters in freely walking rodents. BMC Biol. 2015;13:50.
68. Gueye Y, Marqueste T, Maurel F, Khrestchatisky M, Decherchi P, Feron F. Cholecalciferol (vitamin D_3) improves functional recovery when delivered during the acute phase after a spinal cord trauma. J Steroid Biochem Mol Biol. 2015;154:23–31.
69. Nawrotek K, Marqueste T, Modrzejewska Z, Zarzycki R, Rusak A, Decherchi P. Thermogelling chitosan lactate hydrogel improves functional recovery after a C2 spinal cord hemisection in rat. J Biomed Mater Res A. 2017;105:2004–19.

70. Bonnet M, Trimaille T, Brezun J-M, Feron F, Gigmes D, Marqueste T, et al. Motor and sensitive recovery after injection of a physically cross-linked PNIPAAm-g-PEG hydrogel in rat hemisectioned spinal cord. Mater Sci Eng, C. 2020;107:110354.
71. Skinner RD, Houle JD, Reese NB, Berry CL, Garcia-Rill E. Effects of exercise and fetal spinal cord implants on the H-reflex in chronically spinalized adult rats. Brain Res. 1996;729:127–31.
72. Bianco J, Gueye Y, Marqueste T, Alluin O, Risso J-J, Garcia S, et al. Vitamin D_3 improves respiratory adjustment to fatigue and H-reflex responses in paraplegic adult rats. Neuroscience. 2011;188:182–92.
73. Pertici V, Amendola J, Laurin J, Gigmes D, Madaschi L, Carelli S, et al. The use of poly(N-[2-hydroxypropyl]-methacrylamide) hydrogel to repair a T10 spinal cord hemisection in rat: a behavioural, electrophysiological and anatomical examination. ASN Neuro. 2013;5:149–66.
74. Caron G, Marqueste T, Decherchi P. Restoration of post-activation depression of the H-reflex by treadmill exercise in aged rats. Neurobiol Aging. 2016;42:61–8.
75. Decherchi P, Dousset E, Jammes Y. Respiratory and cardiovascular responses evoked by tibialis anterior muscle afferent fibers in rats. Exp Brain Res. 2007;183:299–312.
76. Hellenbrand DJ, Quinn CM, Piper ZJ, Morehouse CN, Fixel JA, Hanna AS. Inflammation after spinal cord injury: a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration. J Neuroinflammation. 2021;18:284.
77. Skaper SD, Giusti P, Facci L. Microglia and mast cells: two tracks on the road to neuroinflammation. FASEB j. 2012;26:3103–17.
78. Gao T-Y, Huang F-F, Xie Y-Y, Wang W-Q, Wang L-D, Mu D, et al. Dynamic changes in the systemic immune responses of spinal cord injury model mice. Neural Regen Res. 2021;16:382.
79. Seblani M, Ertlen C, Coyle T, Decherchi P, Brezun J-M. Combined effect of trifluoperazine and sodium cromoglycate on reducing acute edema and limiting lasting functional impairments after spinal cord injury in rats. Exp Neurol. 2024;372:114612.
80. Dumont CM, Margul DJ, Shea LD. Tissue engineering approaches to modulate the inflammatory milieu following spinal cord injury. Cells Tissues Organs. 2016;202:52–66.
81. Zhu M, Xue J, Lu S, Yuan Y, Liao Y, Qiu J, et al. Anti-inflammatory effect of stromal vascular fraction cells in fat transplantation. Exp Ther Med [Internet]. 2018 [cited 2023 Aug 3]; Available from: http://www.spandidos-publications.com/https://doi.org/10.3892/etm.2018.7082
82. Bowles AC, Wise RM, Gerstein BY, Thomas RC, Ogelman R, Manayan RC, et al. Adipose stromal vascular fraction attenuates TH1 cell-mediated pathology in a model of multiple sclerosis. J Neuroinflammation. 2018;15:77.
83. Gao S, Guo X, Zhao S, Jin Y, Zhou F, Yuan P, et al. Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron/motoneuron-like cells for cell replacement therapy of spinal cord injury. Cell Death Dis. 2019;10:597.
84. Pang Q-M, Chen S-Y, Xu Q-J, Fu S-P, Yang Y-C, Zou W-H, et al. Neuroinflammation and scarring after spinal cord injury: therapeutic roles of MSCs on inflammation and glial scar. Front Immunol. 2021;12:751021.
85. Wang H, Wang Y, Li D, Liu Z, Zhao Z, Han D, et al. VEGF inhibits the inflammation in spinal cord injury through activation of autophagy. Biochem Biophys Res Commun. 2015;464:453–8.
86. Ceccarelli S, Pontecorvi P, Anastasiadou E, Napoli C, Marchese C. Immunomodulatory effect of adipose-derived stem cells: the cutting edge of clinical application. Front Cell Dev Biol. 2020;8:236.
87. Al-Ghadban S, Bunnell BA. Adipose tissue-derived stem cells: immunomodulatory effects and therapeutic potential. Physiology. 2020;35:125–33.
88. Heo JS, Kim S. Human adipose mesenchymal stem cells modulate inflammation and angiogenesis through exosomes. Sci Rep. 2022;12:2776.
89. Krishna V, Andrews H, Jin X, Yu J, Varma A, Wen X, et al. A contusion model of severe spinal cord injury in rats. J Vis Exp. 2013;78:e50111.
90. Bellardita C, Kiehn O. Phenotypic characterization of speed-associated gait changes in mice reveals modular organization of locomotor networks. Curr Biol. 2015;25:1426–36.
91. Takahashi A, Nakajima H, Kubota A, Watanabe S, Matsumine A. Adipose-derived mesenchymal stromal cell transplantation for severe spinal cord injury: functional improvement supported by angiogenesis and neuroprotection. Cells. 2023;12:1470.
92. Tomita K, Madura T, Sakai Y, Yano K, Terenghi G, Hosokawa K. Glial differentiation of human adipose-derived stem cells: Implications for cell-based transplantation therapy. Neuroscience. 2013;236:55–65.
93. Atkinson E, Dickman R. Growth factors and their peptide mimetics for treatment of traumatic brain injury. Bioorg Med Chem. 2023;90:117368.
94. Alexander RW. Understanding adipose-derived stromal vascular fraction (AD-SVF) cell biology and use on the basis of cellular, chemical, structural and paracrine components: a concise review. J Prolother. 2012;4:e855–69.
95. Hiersemenzel L-P, Curt A, Dietz V. From spinal shock to spasticity: Neuronal adaptations to a spinal cord injury. Neurology. 2000;54:1574–82.
96. Thompson FJ, Reier PJ, Lucas CC, Parmer R. Altered patterns of reflex excitability subsequent to contusion injury of the rat spinal cord. J Neurophysiol. 1992;68:1473–86.
97. Lee JK, Emch GS, Johnson CS, Wrathall JR. Effect of spinal cord injury severity on alterations of the H-reflex. Exp Neurol. 2005;196:430–40.
98. Mukhamedshina YO, Akhmetzyanova ER, Kostennikov AA, Zakirova EY, Galieva LR, Garanina EE, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell application combined with fibrin matrix promotes structural and functional recovery following spinal cord injury in rats. Front Pharmacol. 2018;9:343.
99. Yuan X, Yuan W, Ding L, Shi M, Luo L, Wan Y, et al. Cell-adaptable dynamic hydrogel reinforced with stem cells improves the functional repair of spinal cord injury by alleviating neuroinflammation. Biomaterials. 2021;279:121190.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

5.3 Article III. Training Potentiates The Efficacy Of The Adipose-Stromal Vascular Fraction Autograft On Functional Recovery After An Acute Spinal Cord Contusion In Rats

Objectifs de l'étude

L'entrainement physique est une stratégie thérapeutique qui s'est avérée avoir des effets bénéfiques majeurs après une LME. Des études antérieures ont montré que la combinaison de l'entrainement physique sur tapis roulant et de la greffe de CSA renforce leurs effets bénéfiques après une contusion thoracique sévère de la moelle épinière chez le rat (Keikhaei et al., 2023 ; Takahashi et al., 2023). Cette thérapie combinée favorise la neurorégénérescence et la synaptogenèse par la sécrétion des neurotrophines NT-3 et BDNF, tout en réduisant la réponse inflammatoire à travers la modulation de l'expression des cytokines inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α. L'entrainement physique contribue également à restaurer l'intégrité fonctionnelle de la moelle épinière en renforçant les connexions synaptiques épargnées et néoformées dans les tissus lésés, entrainant ainsi des récupérations sensorimotrices significatives.

Dans l'**Article II** nous avons mis en évidence que l'injection sous-durale de FVS autologue restaure la boucle sensorimotrice segmentaire et la communication entre les régions supra- et sous-lésionnelles de la moelle épinière après une contusion thoracique, conduisant à des améliorations des fonctions sensorimotrices des rats lésés.

Ainsi, notre étude présentée dans l'**Article III** vise à évaluer les effets thérapeutiques de la combinaison d'une autogreffe de FVS et d'un entrainement sur tapis roulant sur les récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire aiguë au niveau T_{10} chez le rat.

Les étapes de rééducation et réhabilitation fonctionnelle étant classiquement mises en œuvre lors de la prise en charge des blessés médullaires, nous supposons que la thérapie combinée potentialise les effets bénéfiques de l'autogreffe de FVS démontrés dans l'**Article II**, conduisant à des récupérations sensorimotrices accrues chez les rats lésés.

Training potentiates the efficacy of the adipose-stromal vascular fraction on sensory-motor recovery after an acute spinal cord contusion in rats.

Céline ERTLEN[1], Maxime BONNET[1], Mostafa SEBLANI[1], Thelma COYLE[1], Jean-Michel BREZUN[1], Nicolas SERRATRICE[1,2], Patrick DECHERCHI[1]✉ and Tanguy MARQUESTE[1]✉

[1] Aix Marseille Univ, CNRS, ISM,
UMR 7287 « Institut des Sciences du Mouvement : Etienne-Jules MAREY »,
Equipe « Plasticité des Systèmes Nerveux et Musculaire » (PSNM),
Parc Scientifique et Technologique de Luminy,
CC910 - 163, avenue de Luminy,
F-13288 Marseille Cedex 09, France
[2] Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM),
Service de Neurochirurgie,
Hôpital de la Timone,
264, rue Saint-Pierre,
F-13005 Marseille, France

Short title: *Training potentiates SVF in acute SCI*

✉Corresponding author:
E-mail: tanguy.marqueste@univ-amu.fr and patrick.decherchi@univ-amu.fr

Aix Marseille Univ, CNRS, ISM, Marseille, France
CC910 - 163, avenue de Luminy
F-13288, Marseille cedex 09
Tel. Fax: +33 (0)4-13-94-59-78 / +33 (0)4-13-94-59-85
Web site: http://ism.univ-amu.fr

Abstract

Spinal cord injuries (SCI) are a major health concern, resulting in substantial functional deficits, including motor and sensory impairments around and below the affected area. Despite continuous efforts, current spinal cord repair strategies have proven ineffective. The adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) contains cells with trophic, pro-angiogenic, and immunomodulatory effects. Our previous study demonstrated that autologous SVF transplantation did not induce endogenous inflammation in SCI rats 14 days after injury. Additionally, we showed the benefits of autologous SVF transplantation on sensorimotor recovery after SCI. The aim of this work was to study the effect of a strategy combining SVF autograft to treadmill training after SCI in rats.

Male Sprague Dawley rats were categorized into four groups: NaCl (spinal cord contusion with NaCl application) and SVF (spinal cord contusion with SVF autograft), NaCl-T (spinal cord contusion with NaCl application followed by treadmill training) and SVF-T (spinal cord contusion with SVF autograft followed by treadmill training). Sensorimotor analysis was performed weekly for 12 weeks, while gait and electrophysiological recordings were performed at the endpoint.

Results indicate that the combined SVF autograft and treadmill training strategies improve sensorimotor recovery by restoring the segmental sensorimotor loop and communication between supraspinal and sublesional spinal regions.

This study highlights the effectiveness of autologous SVF grafting combined with treadmill training in acute SCI, indicating its potential as a promising therapeutic approach for spinal cord repair following traumatic contusions.

Key Words: Spinal cord injury; Fat; Stem cells; Training; Sensorimotor; Neuroprotection

1. Introduction

A spinal cord injury (SCI) can have severe consequences on bodily functions as the spinal cord plays a crucial role in transmitting nervous signals between the brain and the rest of the body. SCI can be caused by various factors, including physical trauma such as road accidents, falls, sports injuries, acts of violence, or medical conditions such as tumours or infections (New & Sundararajan, 2008; Algahtany et al., 2021). The sensorimotor deficits that occur following SCI depend on the severity and location of the lesion. Indeed, a SCI may induce partial or total paralysis, loss of bladder and bowel control, respiratory problems, chronic pain, or other medical complications (Sezer, 2015; Hachmann et al., 2017; Sweis & Biller, 2017; Biering-Sørensen et al., 2018; Qi et al., 2018; Chamberlain et al., 2019). Furthermore SCI may reduce longevity and induce psychological disorders or the substantial financial burden of medical care (Craig et al., 2012, 2015; Middleton et al., 2012; Lo et al., 2021; Alcántar-Garibay et al., 2022). Despite decades of experimental research aimed at reducing post-traumatic functional deficits and repairing the spinal cord in order to preserve and restore sensorimotor functions, we are still unable to propose a simple and effective repair strategy that can be successfully applied to humans (Anderson et al., 2018; Flack et al., 2021). Developing an effective therapeutic strategy remains a crucial challenge in the fields of medical research and public health.

One of the main strategy that has proven effective and beneficial for patients over the past decades is training-based rehabilitation (Fu et al., 2016). This strategy is built on activity-dependent neuroplasticity (Hebb, 1949; Schmidt, 1985). Its primary objective is to assist patients in regaining their independence and improving their quality of life (Duan et al., 2021), particularly by restoring their hand and even walking abilities, aiming for complete autonomy. Today, treadmill training is the most used method in clinical practice. Studies have shown, through this training method, that patients with incomplete SCI have regained locomotor abilities as well as bladder and bowel control (Wernig et al., 1998, 2000; Protas et al., 2001; Morrison et al., 2018). Furthermore, greater functional recovery has been observed in individuals with acute SCI (less than 12 months) compared to patients with chronic SCI (more than 12 months), although benefits have been observed in both groups (Zieriacks et al., 2021). In both animals and humans, the effects of treadmill training was enhanced when coupled with spinal cord repair strategies, such as the use of umbilical cord mesenchymal stem cells or adipose tissue-derived stem cells (ADSC) (Zhu et al., 2016; Takahashi et al., 2023).

The adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) is a specific component of adipose tissue that contains, exclusion of fat cells, various cell types such as mesenchymal and hematopoietic stem cells, endothelial progenitors, and immune cells (Nguyen et al., 2016). This cellular cocktail is already commonly used in clinical research contexts for skin and soft tissue regeneration following burns and/or amputations (Rigotti et al., 2007; You & Han, 2014; Atalay et al., 2014) and for neovascularization and restoration of functions in cardiomyopathies (Comella et al., 2016). Furthermore, SVF has demonstrated an immunomodulatory and neuroprotective effect in the context of neurodegenerative diseases such as multiple sclerosis, Parkinson's disease, or Crohn's disease, and has enabled axonal regeneration after peripheral nerve injury (Riordan et al., 2009; Semon et al., 2013; Mohammadi et al., 2015; Bora & Majumdar, 2017; Carstens et al., 2020; Al-Kharboosh et al., 2022). Finally, more recently, it was shown that autologous SVF had high potential to preserve the spinal cord, to limit functional deficits and to enhance sensorimotor recovery after a traumatic thoracic contusion in rat (Ertlen et al., 2024).

In the present study, we assessed the effects on sensorimotor recovery of the combination of immediate intra-spinal autologous SVF injection and a treadmill training in rats with a thoracic spinal cord contusion. Here, we present a comparison of results obtained in SVF grafted animals following or not a treadmill training, using behavioral tests and electrophysiological recordings.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Experiments were conducted in 36 adult male Sprague Dawley rats, with weights ranging from 250 to 300g (Élevage JANVIER®, Centre d'Élevage Roger JANVIER, Le Genest Saint Isle, France). Rats were paired and housed in plastic cages with smooth bottoms, within a laboratory animal facility that maintained a 12:12-hour light/dark photoperiod and a temperature of 22°C. They had access to drinking water and rat chow (Safe®, Augy, France) *ad libitum*. Animals were acclimated to the animal facility and behavioral devices for a period of 2 weeks prior to the start of the experiment. This acclimation period was designed to reduce inter-individual differences and optimize their performance. Then, PRE- values were recorded for both BBB and ladder climbing tests.

2.2. Ethical considerations

The experiments were conducted in compliance with French legislation (Decrees and orders N°2013-118 of February 1st, 2013, JORF n°0032) pertaining to animal care guidelines for animal experimentation, and they were conducted after receiving approval from the Animal Care Committees of *Aix-Marseille Université* (AMU) and *the Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS). The authorization number granted by the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (MESRI) is APAFIS#30957. The experiments were carried out in accordance with the recommendations outlined in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals (U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health), as well as in compliance with directives 86/609/EEC and 2010/63/EU of the European Parliament and the Council, dated 24 November 1986 and 22 September 2010, respectively. Additionally, the experiments adhered to the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines. All individuals involved in the experiments held the necessary licenses to conduct live animal experiments, and all experimental facilities held national authorization for animal housing (License n°B13.013.06).

The health condition of the animals was daily monitored and any animals exhibiting signs of suffering such as stress, hyperactivity, prostration, and significant weight loss (15 to 20%) were sacrificed.

In order to reduce pain, buprenorphine (0.03 mg/kg, Bruprécare® Multi-dose, Axience Santé Animale SAS, Pantin, France) was subcutaneously administered during anesthesia and after surgery daily for three days, and a broad-spectrum antibiotic (Oxytetracycline, 400 mg/l, Sigma Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, France) was dissolved in their drinking water for one week as a preventive measure against infections. Subcutaneous injections of saline (2 ml) were given twice a day for three days to replace fluids lost during the surgical procedure. To maintain their body temperature, animals were placed in individual cage under a heat lamp for three days. If necessary, manual bladder expression was performed twice daily. Then, animals were replaced in collective cage.

2.3. Protocol design and experimental groups

After a 2-week familiarization program (1 hour per day, 3 days per week) involving various behavioral tests (BBB test, walking corridor, ladder climbing test) as well as treadmill running (15 minutes per day, 5 days per week at different speeds ranging from 15 to 30 meters per minute), reference values (PRE-) for each test were measured. Then, the animals were divided into four experimental groups: 1) NaCl (n=9), where a thoracic T10 contusion was induced (Week 0, W0), followed by an immediate injection of NaCl at the injury site; 2) NaCl-

T (n=9), where a thoracic T10 contusion was induced (W0), followed by an immediate injection of NaCl at the injury site. Then, animals were enrolled in a daily treadmill training (T) protocol for 10 weeks, from the second (W2) to the twelfth (W12) week; 3) SVF (n=9), where epididymal fat was harvested, processed to extract the SVF, and autologously injected at the T10 contusion injury site (W0); 4) SVF-T (n=9), where epididymal fat was harvested, processed to extract the SVF, and autologously injected at the T10 contusion injury site (W0). Animals from this last group were also included in a daily treadmill training protocol for 10 weeks, from the second (W2) to the twelfth (W12) week.

Sensory and motor recovery of the hindlimbs was assessed for each animal weekly, starting from one week after the injury (W1), throughout the following twelve weeks using behavioral tests (BBB and ladder climbing tests). At the end of the twelfth week (W12), a gait analysis test was conducted, and the functionality of the sensorimotor circuits were evaluated by electrophysiological recordings of M-waves and H-reflexes both below the injury site and after inducing muscle fatigue to activate the ponto-bulbar ventilatory center through the metabosensitive pathway. The chronological order of our protocol is schematically shown in **Figure 1**.

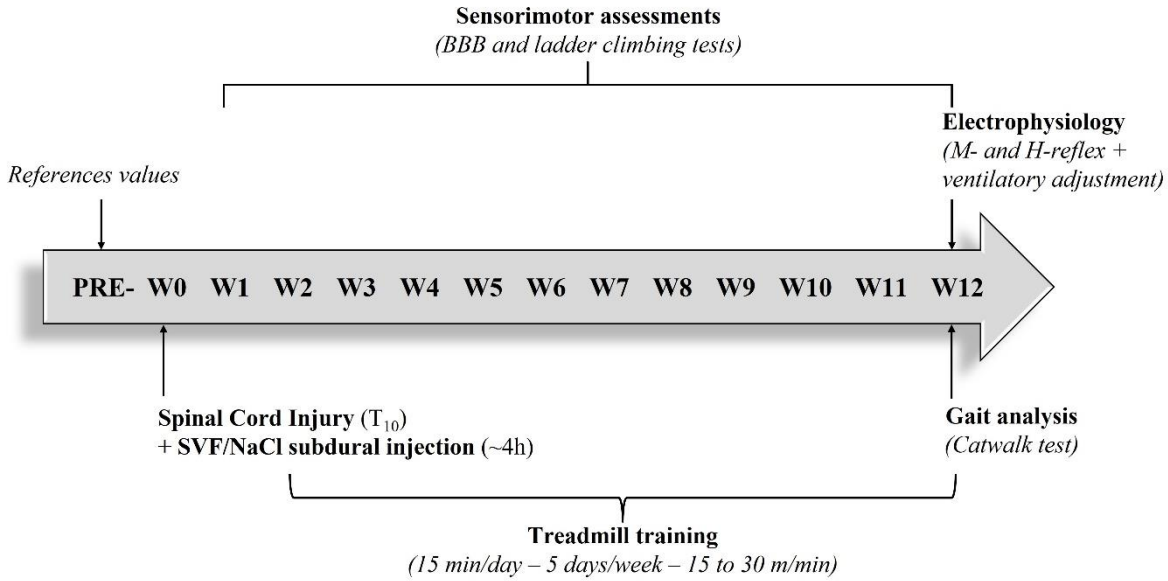


Figure 1. Experimental protocol. One week before surgery, baseline values (PRE-) for each functional test were recorded. Contusions and NaCl and SVF injections were performed at W0. Thereafter, sensorimotor recoveries were assessed weekly for 12 weeks (W1 to W12) using behavioral tests (BBB and ladder-climbing test). Some animals were subjected to treadmill training from W2 to W12, with sessions of 15 minutes per day, 5 days per week, at a speed varying from 15 to 30 meters per minute. At the end of W12, a walking test was performed, and electrophysiological tests were recorded in all animals.

2.4. Fat removal and SVF purification

The techniques for fat removal and SVF purification were previously described (Ertlen et al., 2024). Briefly, all surgeries were performed on the animals in the SVF group during the light cycle. Animals were initially anesthetized with isoflurane (3-5% in oxygen) in an anesthetic chamber (Isoflo® 100%, Zoetis SAS, Malakoff, France), followed by deep anesthesia through an intraperitoneal injection of (100 mg/kg, 100 mg/ml, Ketamine 1000®, Virbac®, Carros, France), Medetomidine (0.5 mg/kg, 0.85 mg/ml i.p.; Domitor®, Orion Pharma, Issy-les-Moulineaux, France) and buprenorphine (0.03 mg/kg). Body temperature was maintained at 37°C by a heating pad, and physiological parameters were monitored to ensure adequate anesthesia depth. A midline ventral incision was made to access the abdominal cavity and harvest around 1.3±0.3 cm^3 of epididymal fat, which was subsequently manually purified (François et al., 2020) to obtain the SVF. The viability and the concentration of viable nucleated cells were measured in duplicate with the LUNA-FX7™ (Aligned Genetics©, Logos Biosystem, France). Then, the purified SVF was kept at room temperature for injection within four hours following the SCI.

2.5. SCI and SVF subdural injection

The surgery procedure leading to the exposure and lesion of the spinal cord, and the technics of SVF subdural injection were detailed previously (Bonnet et al., 2020; Ertlen et al., 2024). Briefly, the animals were deeply anesthetized with an intraperitoneal injection of Ketamine (75 mg/kg, 100 mg/ml, i.p.; Ketamidor®, Axience S.A.S., Pantin, France) and Medetomidine (0.5 mg/kg, 0.85 mg/ml, i.p.; Domitor®, Orion Pharma, Issy-les-Moulineaux, France), and received an injection of buprenorphine (0.03 mg/kg). A midline dorsal incision was then made over the T8-T12 spinous processes, and the superficial muscles were retracted using retractors to expose the thoracic vertebrae. Subsequently, a dorsal laminectomy at the T10 level was performed to expose the spinal cord without compromising the dura mater integrity.

The thoracic T10 contusion was made using an IH-0400 impactor (Infinite Horizon Impactor, Precisions Systems and Instrumentation, LLC., Lexington, KY, USA) equipped with a 10 g rod featuring a flat circular impact surface with a diameter of 2.5 mm. The force applied through the impactor was 200 kdyn, corresponding to a severe contusion (Scheff et al., 2003). The rod was dropped in such a way as to achieve an impact velocity of approximately 1.3 m/s.

After SCI, the NaCl and NaCl-T groups received an immediate subdural injection of 50 µl of NaCl at the lesion site, and the SVF and SVF-T groups received an immediate subdural

injection of 50 µl of autologous SVF, at the lesion site. After the procedure, the muscles and skin were sutured.

2.6. Behavioral tests

Before surgery, baseline reference values (PRE-) were recorded for each test. Then, over a 12-week period, starting one weeks after the injury (W1), the BBB and ladder climbing tests were conducted once a week. At week 12 (W12), gait analysis data were collected. These assessments were conducted by two experimenters in a blinded manner, ensuring unbiased evaluations.

BBB-test. The locomotor functions were assessed using the Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) test (Basso et al., 1995). The rats were allowed to freely walk in a circular Plexiglas® enclosure arena with an anti-slip floor, measuring 95 cm in diameter and 40 cm in height. The locomotor activity was recorded for 4 minutes using a camcorder (GoPro Hero11®, GoPro, Inc., San Mateo, CA, USA) and was scored later using the BBB-scale, based on 22 levels representing different stages of locomotion: complete paralysis (level 0) to normal locomotion (level 21). The locomotor scores of the two hindlimbs were averaged for each rat and for each test session.

Ladder climbing test. Fine sensorimotor coordination was tested during climbing a 45° inclined ladder (100 mm x 1500 mm), with metal rungs (4 mm in diameter) spaced at equal intervals of 20 mm, with 150-mm-high side walls (Li et al., 2003; Semler et al., 2011; Bonnet et al., 2020). The rats were placed at the bottom of the ladder, and their climbing actions were captured using a camcorder (GoPro Hero11®) positioned under the ladder to provide a ventral view of their hindlimbs. At the top of the ladder, animals were access to a dark box. The position of the hind limbs on the ladder rungs was assessed frame by frame using the following scoring system: 0 - the hind limb completely misses the rung, 1 - the hind limb is poorly positioned on the rung but contributes to the upward movement of the body, and 2 - the hind limb is correctly positioned on the rung and contributes to the upward movement of the body. The scores from both sides were average resulting in a climbing score ranging from 0 (no successful hindpaw grip) to 20 (perfect climbing with both hindpaws on every rung). The calculated score was then expressed as a percentage of the baseline score measurement at week 0 (PRE-).

Gait analysis. As previously described, motor function and coordination were quantitatively assessed using a customized gait analysis system (Ertlen et al., 2024). This system involved a glass walking plate placed in a corridor (110 cm long, 8 cm wide, with opaque walls 15 cm tall) illuminated by fluorescent light, with a GoPro Hero11® camera positioned in

front of the setup to record the animals' reflected footprints on the glass surface. Data collection occurred once the animals had regained a sufficient level of weight-supported stepping (BBB score of 9 or higher) (Hamers et al., 2001). The gait analysis parameters were derived from the animals' five consecutive full steps and were analyzed using a customized MATLAB R2022b function, based on the MouseWalker system (Mendes et al., 2015).

As previously outlined (Khalki et al., 2018), the following parameters were computed for each run by averaging the values:

- *Average speed:* The rate of forward movement along the runway (cm/s).
- *Stride length:* The distance between two consecutive placements of the same paw (cm).
- *Stance phase*: The duration of paw contact with the glass plate (s).
- *Swing phase:* The duration during which the paw is in the air (s).
- *Step cycle* = Stance phase + Swing phase (s).
- *Phase dispersion (PD):* The timing between the first contacts of pairs of paws, expressed as a percentage of the step cycle of the reference paw. A PD of 0% indicates a perfect alternance between the pair of limbs. However, a PD of 50% reflates an asynchrony between the pair of limbs.
- *Step sequence patterns:* Considered as normal when the animal sequentially placed its four paws in an alternate, cruciate (diagonal sequences), or rotate (lateral sequences) pattern based on the order of limb recruitment (Cheng et al., 1997).
- *Regulatory index (RI):* A measure of limb coordination, expressed as a percentage of the number of normal step sequence patterns (NSSP) relative to the total number of paw placements (PP): RI = NSSP x 4 / PP x 100 (%)

2.7. Treadmill training

Two weeks after contusion and injection of either NaCl or SVF, animals in NaCl-T and SVF-T groups followed a treadmill training program based on a protocol previously described (Rossignol et al., 2015; Bonnet et al., 2020). Briefly, animals were trained 15 minutes a day on a motorized treadmill (Médical Développement, Saint-Etienne, France), 5 days/week for 10 weeks (from W2 to W12) and at variable speed, depending on the level of their locomotor recovery (from 15 to 30 m/min). Indeed, two weeks after injury, rats were unable to support their body weight and to generate autonomous rhythmic locomotion in the hind limbs. Therefore, the animal's trunk was held manually to limit lateral imbalances and stimulation by pinching the perineum was performed. This perineal stimulation activates the sublesional central pattern generator (CPG) and induces, in most cases, reflex rhythmic locomotion of the

hind limbs (i.e. flexion/extension). When the animal regained its ability to maintain its body weight and generate locomotion on its own, the speed of the treadmill was increased in steps of 2 m/min every 2 min, as long as the animal supported the imposed speed.

2.8. Electrophysiological recordings

Twelve weeks after the SCI (W12), animals were prepared for electrophysiological recordings. This involved initial sedation (isoflurane 3-5% in oxygen), followed by deep anesthesia through intraperitoneal injection of ketamine (100 mg/kg, 100 mg/ml, Ketamine 1000®, Virbac®) and Medetomidine (0.5 mg/kg, 0.85 mg/ml i.p.; Domitor®, Orion Pharma, Issy-les-Moulineaux, France). The *peroneal* nerves of the hindlimbs were isolated for stimulation, and the *Tibialis anterior* muscles were exposed for electromyographic (EMG) recording.

M- and H-waves. The M- and H-waves were recorded by stimulating the *peroneal* nerve and the decrease in reflex magnitude relative to repetition rate, also called rate-dependent depression (RDD) of the H-reflex, was analyzed by expressing the H_{max}/M_{max} ratio obtained at stimulation frequencies of 1, 5, and 10 Hz relative to the H_{max}/M_{max} ratio obtained at the baseline frequency of 0.3 Hz (Gueye et al., 2015; Caron et al., 2016; Nawrotek et al., 2017; Bonnet et al., 2020; Ertlen et al., 2024).

Physiological reflexes. Repetitive stimulation of *Tibialis anterior* muscles allowed to measure the ventilatory adjustments via the activation of muscle metabosensitive afferent fibers, and under regional circulatory occlusion which isolated the neural drive and abolished the hormonal communication (Decherchi et al., 2007). Thus, changes in ventilatory frequency after electrically-induced muscle fatigue (EIF) was expressed in percent [Δcycle/min (%)] of the mean cycles recorded 2 minutes before muscle stimulation. (Decherchi et al., 2007; Bianco et al., 2011; Gueye et al., 2015; Caron et al., 2016; Nawrotek et al., 2017; Bonnet et al., 2020; Seblani et al., 2024; Ertlen et al., 2024).

2.9. Euthanasia

Following the electrophysiological recordings, animals were euthanized with an overdose of pentobarbital sodium (390 mg/kg, i.p., Euthasol® Vet., Dechra Montigny-Le-Bretonneux, France) according to ethical recommendations.

2.10. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism® software (version 8.0.2) environment for statistical computing and graphics (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA, USA).

For the analysis of behavioral scores and H_{max}/M_{max} *ratios*, a two-way ANOVA for repeated measures was employed. This type of analysis allows for the comparison of data between groups and over time or stimulation frequency. Subsequently, a Tukey's multiple comparisons post-hoc test was conducted to determine specific differences between the groups. The results of the statistical analysis were expressed as mean ± SEM (standard error of the mean). Statistical significance was considered when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. SVF characteristics

The mean volume harvested from epididymal fat for 250-300 g animals was around 1.7±0.4 cm^3. Analysis of the SVF indicated that cell viability was 93.6±2.94% and that recovery yield was 1.77±0.86x10^6 cells per ml of fat. Furthermore, in groups treated with SVF, 10^6 cells in the 50 µl were injected under dura matter, at the lesion site.

3.2. Animals

After SCI, all animals exhibited severe bilateral hindlimb paralysis with limited or no joint mobility. The animals maintained a consistent body weight throughout the experimental period, indicating good overall health and nutritional status.

3.3. Behavioral tests

BBB-test. All animals exhibited a significant drop in BBB scores the first week (W1) post-injury compared to the reference values obtained before the injury (PRE-) ($p<0.001$), indicating a loss of locomotor function. Then, the BBB score gradually increased over the following 11 weeks, except for the NaCl-T group in which BBB score reached a plateau from the W4. At the 12th week, the scores were 12.50±0.37 and 10.61±1.36 (intermediate stage: intervals of uncoordinated stepping) for the NaCl and NaCl-T groups, respectively, and 15.17±0.83 and 18.22±0.27 (late stage: forelimb and hindlimb coordination with weight support) for the SVF and SVF-T groups, respectively. Locomotor recoveries were significantly higher for the SVF-T group from W4 to W12 than the NaCl group (W4: $p<0.05$; W5 to W12: $p<0.001$), and from W5 to W12 than the NaCl-T group ($p<0.01$). Moreover, the SVF-T group

showed significantly higher locomotor recoveries than the SVF group from week 9 to W12 ($p<0.05$). No difference was found in BBB scores between the SVF, NaCl, and NaCl-T groups during the 12 weeks of follow-up. Finally, despite recovery, scores of all groups remained lower than the PRE- values **(Figure 2)**.

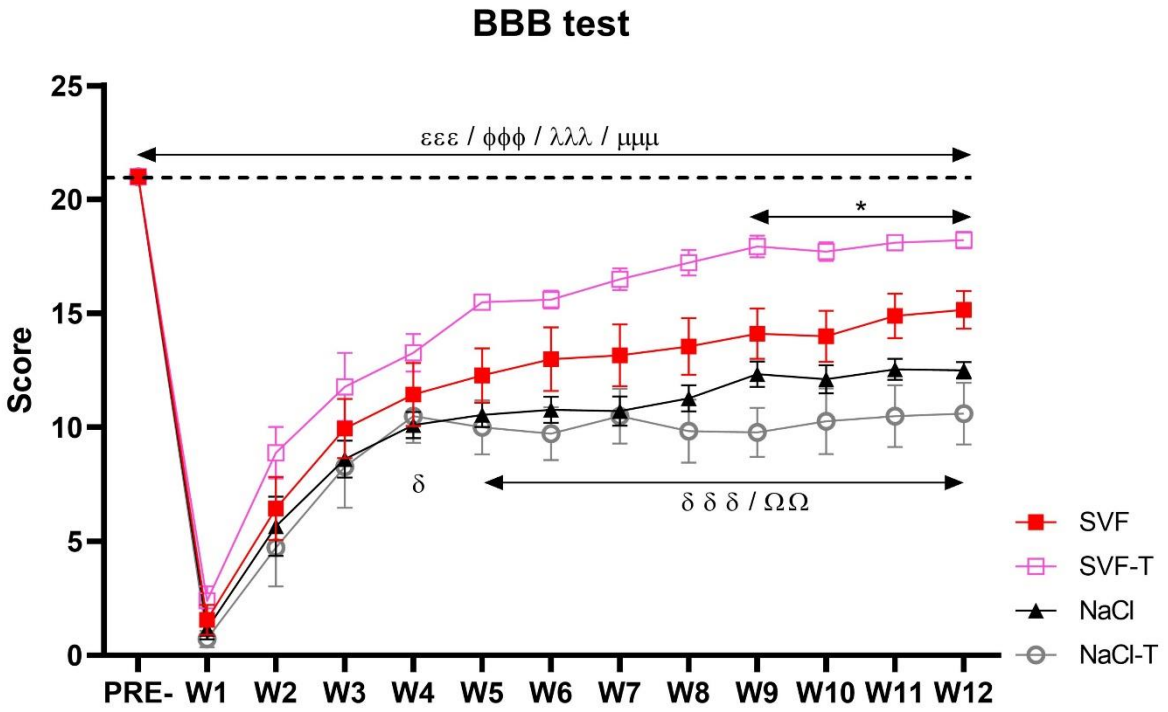


Figure 2: BBB locomotor rating scale. Following spinal cord contusion, the locomotor score of each group demonstrated a significant decline, followed by a gradual recovery until W12. From W9, the SVF-T group exhibited a significantly higher locomotor score than the SVF group. Additionally, the locomotor score of the SVF-T group was also significantly higher than the NaCl group from W4 to W12 and the NaCl-T group from W5 to W12. No significant differences in locomotor score were observed between the SVF, NaCl, and NaCl-T groups during the 12-week follow-up period. The locomotor scores of each group remained significantly below their respective-PRE values. *Significant difference in the BBB scores is indicated by a* ***** *(SVF vs. SVF-T);* δ *(NaCl vs. SVF-T);* Ω *(NaCl-T vs. SVF-T);* ε *(SVF, PRE- vs. post-injury);* Φ *(SVF-T, PRE- vs. post-injury);* λ *(NaCl, PRE- vs. post-injury);* μ *(NaCl-T, PRE- vs. post-injury); 1 symbol, $p<0.05$, 2 symbols, $p<0.01$ and 3 symbols, $p<0.001$; n = 9 per group.*

Ladder climbing test. The analysis of the ladder climbing test over the 12 weeks after surgery showed a significant ($p<0.001$) drop in score in all groups one week (W1) after surgery compared to the PRE values, indicating a loss of sensory and motor function. Data analysis indicated that the ladder climbing scores slowly increased over the following 11 weeks, and reached 59.45±5.32%, 39.99±3.10% and 25.00±6.85 % at W12 for SVF, NaCl and NaCl-T groups, respectively. Intergroup comparison showed that the scores in the SVF-T group increased rapidly from W1 to W5 and then stabilized until W12 (W12: 73.16±4.10%). Scores

in the SVF-T group were significantly higher ($p<0.001$) than those in the NaCl group from W3 to W12, than those in the NaCl-T group from W4 ($p<0.01$) to W12 ($p<0.001$), and then those in the SVF group at W4 ($p<0.05$), W5 ($p<0.01$), and W6 ($p<0.05$), and from W6 to W9 ($p<0.05$). In addition, there was a significant difference ($p<0.05$) between the NaCl-T group and the SVF group at W6 and from W10 to W12. However, no difference was reported between the SVF and NaCl groups and between NaCl and NaCl-T groups during the 12 weeks of follow-up. Finally, throughout the study period, scores of all groups remained lower than the PRE- values **(Figure 3)**.

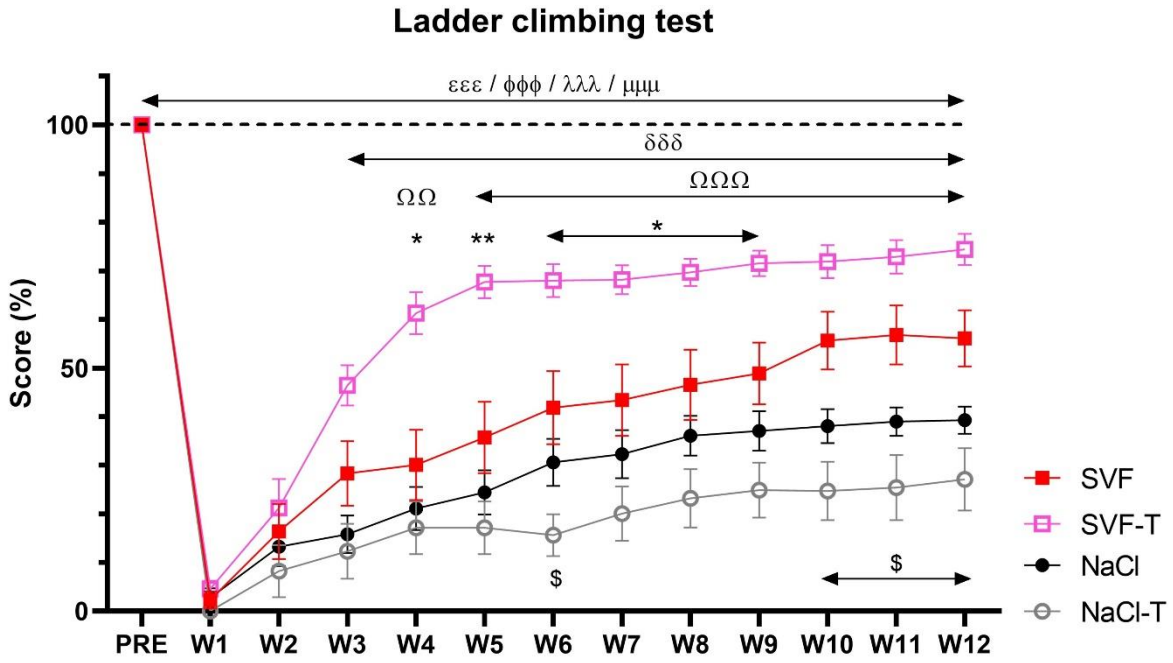


Figure 3: Ladder climbing test. Following spinal cord contusion, the climbing score in each injured group dropped significantly, and then a slow recovery was observed until W12 in SVF, NaCl and NaCl-T groups. The SVF-T group exhibited a rapid increase in climbing score, which became significantly higher than the NaCl group from W3 and the NaCl-T group from W4. The climbing score of the SVF-T group was also significantly higher than the SVF group from W4 to W9. The climbing score of the SVF group was significantly higher than the NaCl-T group at W6 and from W10 to W12. The climbing scores of each group remained significantly below their respective-PRE values. *Significant difference in the BBB scores is indicated by a * (SVF vs. SVF-T); δ (NaCl vs. SVF-T); Ω (NaCl-T vs. SVF-T); $ (NaCl-T vs. SVF); ε (SVF, PRE- vs. post-injury); Φ (SVF-T, PRE- vs. post-injury); λ (NaCl, PRE- vs. post-injury); μ (NaCl-T, PRE- vs. post-injury); 1 symbol, p<0.05, 2 symbols, p<0.01 and 3 symbols, p<0.001; n = 9 per group.*

Gait analysis. The regulatory index observed at the end of the W12 post-surgery was 100% in the SVF and SVF-T groups and lower in the NaCl (77.78±9.68%) and NaCl-T (82.22±9.09%) groups.

The results also indicated that animals from the SVF-T group (46.29±4.34 m/sec) showed a significant higher mean crossing speed on the glass plate than the SVF (33.85±0.96

m/s; p<0.05), NaCl (25.16±2.30 m/s; p<0.001) and NaCl-T (29.94 ± 2.39 m/s; p<0.01) groups. There was no difference between the SVF, NaCl and NaCl-T groups **(Figure 4A).** Data also showed that the stride length was significantly increased in SVF-T group (16.35±0.36 cm; p<0.001) compared to the SVF (14.35±0.33 cm), NaCl (12.68±0.26 cm) and NaCl-T (14.50±0.33 cm) groups. Moreover, the stride length was significantly reduced in the NaCl group compared to the SVF (p<0.01) group, while no difference was found between the SVF and NaCl-T groups, and between NaCl and NaCl-T groups (**Figure 4B)**. The results also showed that animals in the NaCl-T groups (13.59±1.61%) exhibited a significant increase (p<0.01) in phase dispersion compared to the SVF (5.49±0.87%) and SVF-T (6.22±0.97%) groups. The phase dispersion was also higher in NaCl group (12.67±2.19%) than in SVF (p<0.01) and SVF-T (p<0.05) groups. No difference was found between NaCl and NaCl-T groups, and between SVF and SVF-T groups **(Figure 4C)**. Moreover, the swing phase duration was significantly (p<0.05) reduced in the SVF-T group (0.10±0.01 s) compared to the NaCl-T group (0.13±0.01 s) but did not showed difference between the other groups **(Figure 4D)**. The stance phase duration between the hindlimbs showed a significant reduction in the SVF-T (0.19±0.01 s; p<0.01) and NaCl (0.18±0.01 s; p<0.05) groups compared to the SVF group (0.24±0.01 s). The stance phase duration of the SVF-T group was also significantly lower than that of the NaCl-T group (0.27±0.02 s; p<0.05). No difference was observed between the SVF-T and NaCl groups, between the SVF and NaCl-T groups, and between the NaCl and NaCl-T groups. **(Figure 4E)**. Finally, the SVF group (0.38±0.01 s) exhibited a significantly increase in the step cycle time compared to the SVF-T (0.30±0.01 s, p<0.001) and the NaCl (0.32±0.02 s; p<0.01) groups. Moreover, the step cycle time was significantly higher in the NaCl-T group (0.36±0.01 s; p<0.05) compared to the SVF-T group. No difference was observed between the SVF-T and NaCl groups, between the SVF and NaCl-T groups, and between the NaCl and NaCl-T groups **(Figure 4F)**.

The results of the analysis of the frequency of the regular step pattern revealed a majority of the "alternate" step pattern among all groups (SVF: 84.44%; SVF-T: 97.78%; NaCl: 71.43; NaCl-T: 68.89%). Physiologically, healthy rats generally exhibit step patterns called “cruciate” and “rotate”, which are considered as normal step patterns. Here, these two step patterns represented 15.55% for the SVF group, 2,22% for the SVF-T group and 22.22% and 13.33% for the NaCl and NaCl-T groups respectively. Moreover, the animals in the NaCl and NaCl-T groups exhibited 22.22% and 17,78% of step patterns considered as abnormal, and 0% for the other two groups.

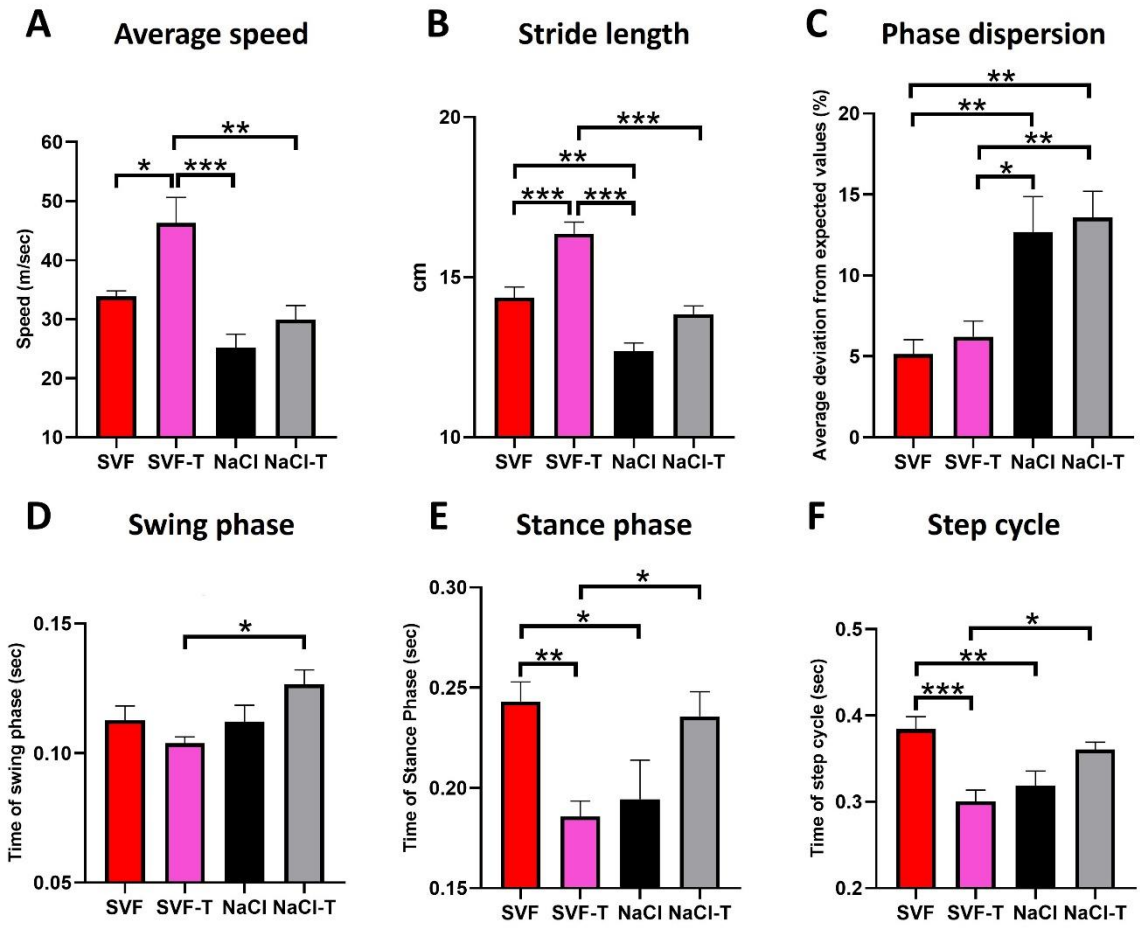


Figure 5. Gait analysis parameters. A Average speed. The average speed of passage over the glass plate was significantly higher in the SVF-T group than in the other three groups. No difference was observed between the SVF, NaCl and NaCl-T groups. B Stride length. The average stride length between hindlimbs was significantly increased in the SVF-T group compared with the other three groups. The SVF group had a significantly longer stride length than the NaCl group. C Phase dispersion. The average deviation of the hindlimbs from the expected value of 50% was significantly reduced in animals in the SVF and SVF-T groups compared with the NaCl and NaCl-T groups. D Swing phase. The average time of the swing phase between hindlimbs was significantly reduced in the SVF-T group compared with the NaCl-T group. E Stance phase. The average stance phase between hindlimbs showed a significant reduction in the SVF-T and NaCl groups compared to the SVF group. The stance phase of the SVF-T group was also found to be lower than the NaCl-T group. F Step cycle. The average step cycle between hindlimbs showed a significant reduction in the SVF-T and NaCl groups compared to the SVF group. The time of step cycle of the SVF-T group was also found to be lower than the NaCl-T group. *Significant differences are represented by* ***** *($p < 0.05$),* ****** *($p < 0.01$),* ******* *($p < 0.001$); n = 9 per group.*

3.4. Electrophysiological recordings.

The baseline H_{max}/M_{max} *ratios* measured at a stimulation frequency of 0.3 Hz were 0.40±0.03, 0.37±0.03, 0.38±0.04 and 0.38±0.04 for the SVF, SVF-T, NaCl and NaCl-T groups, respectively. At this frequency, no difference was found between the groups. The H_{max}/M_{max} *ratio* decreased with increasing stimulation frequency in the SVF, SVF-T and NaCl-T groups.

Indeed, the H_{max}/M_{max} *ratio* values at 1, 5, and 10 Hz were, respectively, **1)** 86.70±2.75% ($p<0.001$), 72.33±3.17% ($p<0.001$) and 55.46±3.97% ($p<0.001$) of the *ratio* measured at the baseline stimulation in the SVF group, **2)** 87.49±2.27% ($p<0.001$), 71.26±3.42% ($p<0.001$) and 51.76±5.33% ($p<0.001$) in the SVF-T group and **3)** 91.61±2.58% ($p<0.05$), 85.72±4.16% ($p<0.05$) and 74.14±5.96% ($p<0.01$) in the NaCl-T group. In the NaCl group, the H_{max}/M_{max} *ratios* remained unchanged with increasing frequency (1 Hz: 98.86±2.24%, 5 Hz: 94.35±3.62% and 10 Hz: 93.42±3.71%). Intergroup comparison revealed that in the SVF and SVF-T groups, the *ratios* were statistically lower than the NaCl group at all three frequencies: 1 Hz ($p<0.01$), 5 Hz ($p<0.001$), and 10 Hz ($p<0.001$). Moreover, analysis of the H_{max}/M_{max} ratio at 10 Hz indicated a significant difference between the SVF-T and the NaCl-T groups ($p<0.05$), and between the NaCl-T and the NaCl groups ($p<0.05$). No significant difference was found between the SVF and SVF-T groups regarding the depression of the H-reflex response at any of the tested frequencies. All ratio values and comparisons are presented in **figure 5**.

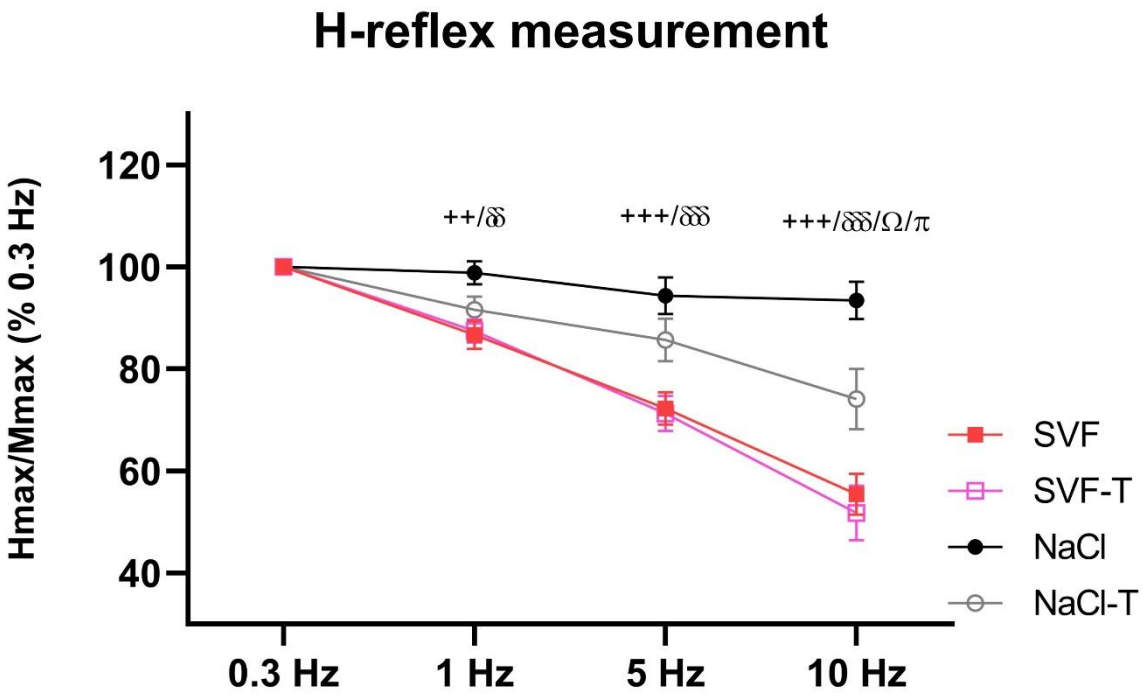


Figure 5. H-refex rate sensitivity. The Hmax/Mmax ratio, measured after increasing the stimulation frequency, demonstrated a significant depression in the SVF and SVF-T groups compared with the NaCl group at a stimulation frequency of 1 Hz. At 10 Hz, the Hmax/Mmax ratio of the SVF-T and NaCl-T groups was significantly lower than that of the NaCl group. The Hmax/Mmax ratio remained stable at all stimulation frequencies. *For a given frequency, the significant difference in the Hmax/Mmax ratio is indicated by a + (SVF vs. NaCl); δ (NaCl vs. SVF-T); Ω (NaCl-T vs. SVF-T); π (NaCl vs. NaCl-T);); 1 symbol, p<0.05, 2 symbols, p<0.01 and 3 symbols, p<0.001; n = 9 per group.*

The ventilatory frequency after activation of metabosensitive afferent fibers by *Tibialis anterior* muscle repetitive stimulation under regional circulatory occlusion was significantly increased in SVF (106.26±0.87%; p<0.001) group. No increase in ventilatory frequence was noted in SVF-T (101.46±0.85%), NaCl (98.94±0.75%) and NaCl-T (99.25±0.52%) groups. Intergroup comparison indicated a significant difference between the SVF (p<0.001) and the three other groups. No difference was found between SVF-T, NaCl-T and NaCl groups **(Figure 6)**.

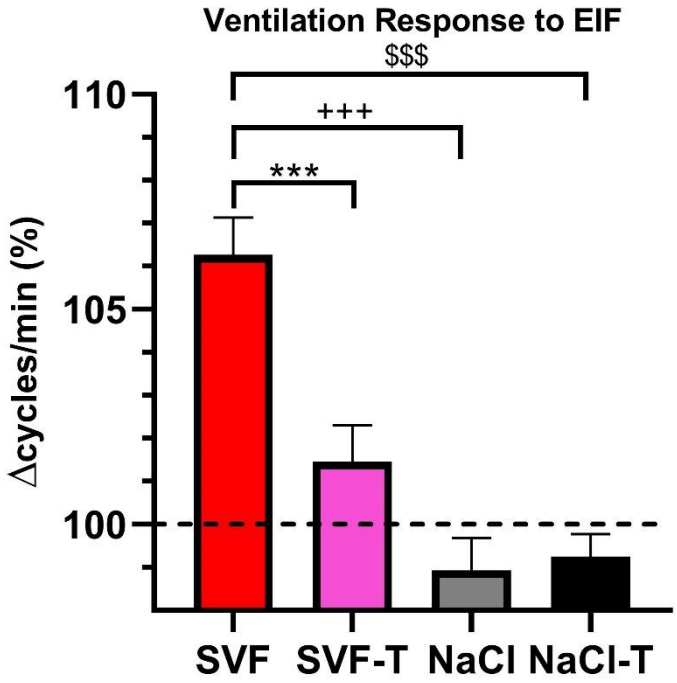


Figure 6: Ventilatory adjustment to 3-min EIF. Ventilatory activity showed a significant increase in the SVF group compared with the SVF-T, NaCl and NaCl-T groups during a 3-minute muscle stimulation of the tibialis anterior muscle under local regional circulatory occlusion. No significant difference was observed between the SVF-T, NaCl and NaCl-T groups. *Significant difference in the mean ventilatory frequency is indicated by a* ***** *(SVF vs. SVF-T);* **+** *(SVF vs. NaCl);* **$** *(NaCl-T vs SVF); 3 symbols, p<0.001; n = 9 per group.*

4. Discussion

In a previous study, we demonstrated the therapeutic potential of autologous SVF to reduce endogenous inflammation and to improve sensorimotor recovery in animals immediately treated after a thoracic spinal cord contusion. Complementary electrophysiological analyses showed that subdural injection of autologous SVF at the injury site restored functionality of the segmental sensorimotor loop and communication between the sub-lesion site and supraspinal centers (Ertlen et al., 2024). The aim of the present work was to evaluate the effectiveness of a strategy combining a subdural injection of autologous SVF at the lesion

site and a 10 weeks of weekly treadmill training on sensorimotor recovery in rats with a severe T_{10} spinal cord contusion. Our hypothesis was that adding a physical training to an effective therapy could further enhance post-traumatic recovery. The gait analysis results obtained 12 weeks post-injury indicate that the combined therapy leads to increase recovery of certain locomotor parameters, such as step length and walking speed, compared to the group that only received SVF. Furthermore, the BBB and ladder climbing tests showed that training potentiated the effects of SVF by further improving sensorimotor recoveries in SVF-T group compared to SVF group. Finally, the electrophysiological recordings performed 12 weeks after injury revealed a significant depression of the H-reflex when increasing stimulation frequency in both groups. However, unlike the graft-only group, the SVF-T group did not show any ventilatory adjustment in response to electrically induced muscle fatigue.

The combined therapy increases sensorimotor functions.

The BBB and ladder climbing tests revealed a significant decrease in sensorimotor function in all animal groups one week after injury, indicating complete hind limb paralysis with our contusion model (Scheff et al., 2003; Krishna et al., 2013). As previously described, we also observed a spontaneous recovery of sensorimotor functions linked to limited spontaneous regeneration and remodeling after SCI (Raineteau & Schwab, 2001). Analysis of behavioral tests results showed no significant difference in sensorimotor recoveries in animals of the NaCl and NaCl-T groups during the twelve weeks following injury, indicating that training did not enhanced spontaneous post-injury sensorimotor recoveries. These results were surprising because numerous previous studies demonstrated increase of spontaneous recovery after a training protocol even without pharmacological or cellular treatment (Heng & de Leon, 2009; Martinez et al., 2012, 2013; Rossignol et al., 2015; Fu et al., 2016; Bonnet et al., 2020). Indeed, treadmill training has been shown to enhance functional recovery in both animals and humans undergoing neurorehabilitation therapy after SCI (Heng & de Leon, 2009; Sun et al., 2013; Anwer et al., 2014; Rossignol et al., 2015). Preclinical studies have demonstrated that treadmill training has a beneficial effect on neuronal and synaptic plasticity, as well as reducing post-injury apoptosis (Martinez et al., 2013; Sun et al., 2013; Jung et al., 2014; Wang et al., 2015; Jung et al., 2016; Bilchak et al., 2021). Additionally, training can modify the plasticity of sensory afferents, notably through increased secretion of BDNF involved in neuronal survival and growth (Tashiro et al., 2015; Jung et al., 2016; Lewis et al., 2022). However, a previous study had observed the lack of beneficial effect of training on sensorimotor recoveries after SCI (Alluin et al., 2011). The authors concluded that if the number of spared fibers was sufficient

to induce locomotion, then self-training occurring spontaneously in the cage could be responsible for the locomotor improvement beyond which further external training would not be effective (Alluin et al., 2011). Thus, we can assume that intensity and duration of our training protocol was insufficient to result in functional recoveries superior to those obtained with self-training performed in the cage.

Furthermore, according to the BBB test, animals in the NaCl and NaCl-T groups exhibited minimal or no coordination between their front and hind legs during locomotion. In contrast, animals in the SVF and SVF-T groups regained regular coordination between their legs while maintaining weight support. In addition, the combination of training and SVF grafting resulted in a significant improvement in locomotor score from week 9 onwards compared to the SVF group. This improvement was mainly due to better coordination and step progress, without any friction between the toes of the paw.

The ladder climbing test confirmed these results. This test evaluates the integration of fine sensory and motor inputs and provides an assessment of tactile sense, proprioception, and motor function. The SVF-T group showed a rapid increase in scale score in the first weeks after injury compared to the other groups, which could be explained by early regeneration of the spinocerebellar ascending pathways and the rubrospinal descending pathway. The pathways mentioned are involved in the body's unconscious proprioceptive sensitivity from the muscles, tendons, and ligaments of the lower limbs and lower trunk, which are essential for maintaining balance and coordination. Additionally, they are involved in fine and precise motor skills (Sengul & Watson, 2015). In rats, the rubrospinal tract is located ventrally at the limits of the dorsal horn in the spinal cord and plays a role in the initiation and execution of voluntary movements (Whishaw et al., 1998; Küchler et al., 2002; Sengul & Watson, 2015).

Besides, the results indicating improvements in sensorimotor scores were consistent with the gait analysis, which showed an increase in locomotor speed and stride length in SVF-T animals. Additionally, results revealed a shorter step cycle and stance phase time, indicating that treated and trained animals were able to do larger and faster steps than rats in the SVF group. The absence of variation in swing phase time among the SVF, SVF-T, and NaCl groups can be attributed to the longer stance phase during the gait cycle. This phase has less variability in duration compared to speed (Mendes et al., 2015). The phase dispersion corresponds to synchrony between the legs and therefore illustrates coordination during walking. At 12 weeks, there was no significant difference between the SVF and SVF-T groups in the phase dispersion and in the locomotor score, indicating similar locomotor coordination in both groups. It could be explained by a similar number of regenerated fibers in the spinothalamic ascending and

rubrospinal descending pathways at 12 weeks between the two groups (Ma et al., 1986; Whishaw et al., 1998; Küchler et al., 2002; Sengul & Watson, 2015). Additionally, the SVF-T animals showed a reduction in locomotor cycle time and an increase in locomotor speed. The gain in time was mainly achieved during the stance phase, as the transfer phase remained stable.

Several studies reported that ADSCs contained in the SVF had therapeutic efficacy when transplanted after SCI. Indeed, grafted ADSCs differentiate into neurons and create new functional networks promoting sensorimotor recovery (Gao et al., 2019; Pang et al., 2021). Moreover, ADSCs reduce lesion volume, decrease neuroinflammation, and promote tissue sparing and axonal regeneration (Liang et al., 2014; Ohta et al., 2018; Pang et al., 2021; Rafiei Alavi et al., 2021).

Recent experiments combining ADSCs transplantation and treadmill training following severe thoracic spinal cord contusion in rats demonstrated that this combined therapy significantly improved sensorimotor recovery (Keikhaei et al., 2023; Takahashi et al., 2023). Additionally, the authors highlighted the neuroprotective, immunomodulatory, and angiogenic effects of this combined therapy. Treated and grafted rats exhibited enhanced vascularization and reduced macrophage levels at the lesion site. Furthermore, the combined therapy inhibited cavity and scar formation while promoting tissue sparing.

Since SVF contains, among other things, ADSCs, we can hypothesize that recovery observed in our present experiments may result of the synergic action of training with all the cellular components of SVF. As previously described, SVF exhibits neuroprotective, neuroregenerative, angiogenic and immunomodulatory properties (Ertlen et al., 2024). We can assume that the sensorimotor improvements observed in the present study result of the increase of the therapeutic efficacy of the SVF by treadmill training. A study of the complex interactions between the various elements of the SVF, whether or not they are associated with training, will provide a better understanding of the cellular and molecular mechanisms that underlie these recoveries.

The combined therapy restores the sensorimotor loop and the ascending and descending pathways.

Reflexes are automatic responses of the nervous system to a specific stimulus. Spinal cord lesions can alter reflexes by disrupting both sensorimotor loop and ascending and descending pathways. The disruption of pathway alters the functioning of sub-lesional sensorimotor loops, disturbing movement coordination and motor responses associated with reflexes (Hubli et al., 2012). The H-reflex is an intrasegmental reflex. Its evocation allows us

to provide information on the functionality of the sensorimotor spinal loops and to verify the integrity of the neuronal network within the same myelomere. It reflects the fraction of motoneurons recruited in response to stimulation compared to the activation of the entire motor pool. This reflex is triggered by stimulation of Ia afferents, causing excitation of α-motoneurons and subsequent muscle contraction without involvement of supraspinal centers when evoked at low frequency stimulation. Without SCI, high-frequency peripheral nerve stimulation causes RDD of the H-reflex, resulting in a decrease of the H-wave amplitude by activating supraspinal centers and descending inhibitory pathways. Thus, SCI, that interrupt ascending and descending spinal pathways above the sensorimotor loop, reduces or eliminates RDD of the H-reflex (Schindler-Ivens & Shields, 2000).

Results of the present study indicate that 12 weeks after contusion, the H_{max}/M_{max} ratio significantly decreased similarly in the SVF and SVF-T groups. This RDD was not observed in the two other groups, except for the NaCl-T group that only present a significant reduction of the H_{max}/M_{max} ratio at 10 Hz. This improvement observed in the NaCl-T group can be attributed to the treadmill training combined with perineal stimulation before the rats regain autonomy. Indeed, as previously described, training associated with perineal stimulation induces plasticity and reactivation of local spinal networks necessary for functional recovery (Côté et al., 2011; Jung et al., 2016; Bonnet et al., 2020).

Additionally, our results indicated a significant decrease in the H_{max}/M_{max} ratio in the SVF group confirming that autologous SVF grafting restores sensorimotor loop functioning after spinal cord contusion, similar to uninjured animals (Ertlen et al., 2024). However, the inclusion of training cannot lead to further functional recovery in sensorimotor loops in animals that received a graft of SVF. Similarly, a recent study evaluating the therapeutic effects of ADSC grafting and treadmill training found no difference in RDD of the H-reflex between the grafted group and the grafted and trained group, which was similar to the uninjured control group (Keikhaei et al., 2023).

Measurement of ventilatory adjustments following EIF in rats with SCI allows verification of the functional integrity of transmission between ascending and descending pathways linking pontobulbar respiratory centers and sub-lesional spinal regions. However, to perform this EIF, it must be done a regional circulatory occlusion to eliminate humoral communication from the stimulated muscle while maintaining its neural drive (Decherchi et al., 2007). Without SCI, 3-minute muscle stimulation at 10 Hz generally induces muscle fatigue that release compounds activating metabosensitive muscle afferent fibers, specifically group III and IV afferents, which leads to an increase in frequency and ventilatory volume (McCloskey

& Mitchell, 1972; Darques & Jammes, 1997; Decherchi et al., 2007). After SCI, communication between supraspinal centers and sublesional spinal regions is impaired, leading to a decrease or even suppression of ventilatory adjustments (Bianco et al., 2011; Gueye et al., 2015; Nawrotek et al., 2017; Seblani et al., 2024; Bonnet et al., 2024).

In the present study, no ventilatory adjustments were found following EIF in the NaCl group contrary to SVF group where an increase in ventilation was observed after repetitive muscle stimulation. This result is consistent with our previous study (Ertlen et al., 2024) and confirm that autologous SVF grafting in injured rats leads to a significant increase in ventilatory adjustments, reflecting functional restoration of both ascending and descending pathways. Surprisingly, exercise training had no effect on ventilatory adjustments following EIF in either the NaCl-T or SVF-T groups. Training can often improve SCI-related ventilatory disorders, particularly through ventilation-related nervous remodeling, which enhances respiratory muscle endurance and strength (Lemos et al., 2020). As a result, training increases respiratory muscle sensitivity, leading to smaller ventilatory variations that require less adjustment (Tang et al., 2022).

Thus, our results suggest that therapy combining SVF grafting with treadmill training is a promising method for improving functional sensorimotor recovery after SCI. However, more analyses are needed to confirm and extend these observations.

Conclusion

Our study demonstrated the beneficial effects of combining autologous SVF grafting with treadmill training on functional sensorimotor recovery after SCI in rats. This combined therapy significantly improved sensorimotor recovery in both treated and trained rats. It also restored the functional integrity of local neural networks and re-established communication between sub-lesional spinal regions and supraspinal centers. These results suggest potential benefits of this combined therapy for improving functional sensorimotor recovery in individuals with SCI. Further analysis is required to consolidate these findings, explore the underlying mechanisms, and determine the long-term viability of this approach. Future investigations will provide more information on the efficacy and clinical significance of this innovative method with a view to implement it in treatment protocols for people with SCI.

Acknowledgments

This work was supported by public [*Aix-Marseille Université* (AMU) and *Centre National de la Recherche Scientifique* (CNRS)] and private [*Combattre la Paralysie*

Association] grants (N°2022-2). We would like to express our gratitude to the *Unité de Culture et Thérapie cellulaire - Hôpital de la Conception* in Marseille for providing us with the necessary facilities to extract SVF.

References

Alcántar-Garibay, O. V., Incontri-Abraham, D., & Ibarra, A. (2022). Spinal cord injury-induced cognitive impairment : A narrative review. *Neural Regeneration Research*, *17*(12), 2649-2654. https://doi.org/10.4103/1673-5374.339475

Algahtany, M., McFaull, S., Chen, L., Zhang, S., Saarela, O., Alqahtani, F., & Cusimano, M. D. (2021). The Changing Etiology and Epidemiology of Traumatic Spinal Injury : A Population-Based Study. *World Neurosurgery*, *149*, e116-e127. https://doi.org/10.1016/j.wneu.2021.02.066

Al-Kharboosh, R., Perera, J. J., Bechtle, A., Bu, G., & Quinones-Hinojosa, A. (2022). Emerging point-of-care autologous cellular therapy using adipose-derived stromal vascular fraction for neurodegenerative diseases. *Clinical and Translational Medicine*, *12*(12), e1093. https://doi.org/10.1002/ctm2.1093

Alluin, O., Karimi-Abdolrezaee, S., Delivet-Mongrain, H., Leblond, H., Fehlings, M., & Rossignol, S. (2011). Kinematic Study of Locomotor Recovery after Spinal Cord Clip Compression Injury in Rats. *Journal of neurotrauma*, *28*, 1963-1981. https://doi.org/10.1089/neu.2011.1840

Anderson, M. A., O'Shea, T. M., Burda, J. E., Ao, Y., Barlatey, S. L., Bernstein, A. M., Kim, J. H., James, N. D., Rogers, A., Kato, B., Wollenberg, A. L., Kawaguchi, R., Coppola, G., Wang, C., Deming, T. J., He, Z., Courtine, G., & Sofroniew, M. V. (2018). Required growth facilitators propel axon regeneration across complete spinal cord injury. *Nature*, *561*(7723), 396-400. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0467-6

Anwer, S., Equebal, A., Palekar, T. J., Nezamuddin, M., Neyaz, O., & Alghadir, A. (2014). Effect of Locomotor Training on Motor Recovery and Walking Ability in Patients with Incomplete Spinal Cord Injury : A Case Series. *Journal of Physical Therapy Science*, *26*(6), 951-953. https://doi.org/10.1589/jpts.26.951

Atalay, S., Coruh, A., & Deniz, K. (2014). Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. *Burns*, *40*(7), 1375-1383. https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.01.023

Basso, D. M., Beattie, M. S., & Bresnahan, J. C. (1995). A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats. *Journal of Neurotrauma*, *12*(1), 1-21. https://doi.org/10.1089/neu.1995.12.1

Bianco, J., Gueye, Y., Marqueste, T., Alluin, O., Risso, J.-J., Garcia, S., Lavault, M.-N., Khrestchatisky, M., Feron, F., & Decherchi, P. (2011). Vitamin D_3 improves respiratory adjustment to fatigue and H-reflex responses in paraplegic adult rats. *Neuroscience*, *188*, 182-192. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.04.066

Biering-Sørensen, F., Biering-Sørensen, T., Liu, N., Malmqvist, L., Wecht, J. M., & Krassioukov, A. (2018). Alterations in cardiac autonomic control in spinal cord injury. *Autonomic Neuroscience*, *209*, 4-18. https://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.02.004

Bilchak, J. N., Caron, G., & Côté, M.-P. (2021). Exercise-Induced Plasticity in Signaling Pathways Involved in Motor Recovery after Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4858. https://doi.org/10.3390/ijms22094858

Bonnet, M., Alluin, O., Trimaille, T., Gigmes, D., Marqueste, T., & Decherchi, P. (2020). Delayed Injection of a Physically Cross-Linked PNIPAAm- *g* -PEG Hydrogel in Rat Contused Spinal Cord Improves Functional Recovery. *ACS Omega*, *5*(18), 10247-10259. https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03611

Bonnet, M., Ertlen, C., Seblani, M., Brezun, J.-M., Coyle, T., Cereda, C., Zuccotti, G., Colli, M., Desouches, C., Decherchi, P., Carelli, S., & Marqueste, T. (2024). Activated Human Adipose Tissue Transplantation Promotes Sensorimotor Recovery after Acute Spinal Cord Contusion in Rats. *Cells*, *13*(2), 182. https://doi.org/10.3390/cells13020182

Bora, P., & Majumdar, A. S. (2017). Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine : A brief review on biology and translation. *Stem Cell Research & Therapy*, *8*(1), 145. https://doi.org/10.1186/s13287-017-0598-y

Caron, G., Marqueste, T., & Decherchi, P. (2016). Restoration of post-activation depression of the H-reflex by treadmill exercise in aged rats. *Neurobiology of Aging*, *42*, 61-68. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.02.022

Carstens, M., Haq, I., Martinez-Cerrato, J., Dos-Anjos, S., Bertram, K., & Correa, D. (2020). Sustained clinical improvement of Parkinson's disease in two patients with facially-transplanted adipose-derived stromal vascular fraction cells. *Journal of Clinical Neuroscience*, *81*, 47-51. https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.09.001

Chamberlain, J. D., Buzzell, A., Gmünder, H. P., Hug, K., Jordan, X., Moser, A., Schubert, M., Zwahlen, M., Brinkhof, M. W. G., & the SwiSCI Study Group and the Swiss National Cohort. (2019). Comparison of All-Cause and Cause-Specific Mortality of Persons with Traumatic Spinal Cord Injuries to the General Swiss Population : Results from a National Cohort Study. *Neuroepidemiology*, *52*(3-4), 205-213. https://doi.org/10.1159/000496976

Cheng, H., Almström, S., Giménez-Llort, L., Chang, R., Ove Ögren, S., Hoffer, B., & Olson, L. (1997). Gait Analysis of Adult Paraplegic Rats after Spinal Cord Repair. *Experimental Neurology*, *148*(2), 544-557. https://doi.org/10.1006/exnr.1997.6708

Comella, K., Parcero, J., Bansal, H., Perez, J., Lopez, J., Agrawal, A., & Ichim, T. (2016). Effects of the intramyocardial implantation of stromal vascular fraction in patients with chronic ischemic cardiomyopathy. *Journal of Translational Medicine*, *14*(1), 158. https://doi.org/10.1186/s12967-016-0918-5

Côté, M.-P., Azzam, G. A., Lemay, M. A., Zhukareva, V., & Houlé, J. D. (2011). Activity-Dependent Increase in Neurotrophic Factors Is Associated with an Enhanced Modulation of Spinal Reflexes after Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *28*(2), 299-309. https://doi.org/10.1089/neu.2010.1594

Craig, A., Nicholson Perry, K., Guest, R., Tran, Y., Dezarnaulds, A., Hales, A., Ephraums, C., & Middleton, J. (2015). Prospective Study of the Occurrence of Psychological Disorders and Comorbidities After Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *96*(8), 1426-1434. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2015.02.027

Craig, A., Tran, Y., Wijesuriya, N., & Middleton, J. (2012). Fatigue and tiredness in people with spinal cord injury. *Journal of Psychosomatic Research*, *73*(3), 205-210. https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2012.07.005

Darques, J. L., & Jammes, Y. (1997). Fatigue-induced changes in group IV muscle afferent activity : Differences between high- and low-frequency electrically induced fatigues. *Brain Research*, *750*(1), 147-154. https://doi.org/10.1016/S0006-8993(96)01341-8

Decherchi, P., Dousset, E., & Jammes, Y. (2007). Respiratory and cardiovascular responses evoked by tibialis anterior muscle afferent fibers in rats. *Experimental Brain Research*, *183*(3), 299-312. https://doi.org/10.1007/s00221-007-1044-7

Duan, R., Qu, M., Yuan, Y., Lin, M., Liu, T., Huang, W., Gao, J., Zhang, M., & Yu, X. (2021). Clinical Benefit of Rehabilitation Training in Spinal Cord Injury : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Spine*, *46*(6), E398. https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000003789

Ertlen, C., Seblani, M., Bonnet, M., Brezun, J.-M., Coyle, T., Sabatier, F., Fuentes, S., Decherchi, P., Serratrice, N., & Marqueste, T. (2024). Efficacy of the immediate adipose-derived stromal vascular fraction autograft on functional sensorimotor recovery after spinal cord contusion in rats. *Stem Cell Research & Therapy*, *15*, 29. https://doi.org/10.1186/s13287-024-03645-z

Flack, J. A., Sharma, K. D., & Xie, J. Y. (2021). Delving into the recent advancements of spinal cord injury treatment : A review of recent progress. *Neural Regeneration Research*, *17*(2), 283-291. https://doi.org/10.4103/1673-5374.317961

François, P., Giraudo, L., Veran, J., Bertrand, B., Dumoulin, C., Aboudou, H., Grimaud, F., Vogtensperger, M., Velier, M., Arnaud, L., Lyonnet, L., Simoncini, S., Guillet, B., Dignat-George, F., Magalon, J., & Sabatier, F. (2020). Development and Validation of a Fully GMP-Compliant Process for Manufacturing Stromal Vascular

Fraction : A Cost-Effective Alternative to Automated Methods. *Cells*, *9*(10), 2158. https://doi.org/10.3390/cells9102158

Fu, J., Wang, H., Deng, L., & Li, J. (2016). Exercise Training Promotes Functional Recovery after Spinal Cord Injury. *Neural Plasticity*, *2016*, 1-7. https://doi.org/10.1155/2016/4039580

Gao, S., Guo, X., Zhao, S., Jin, Y., Zhou, F., Yuan, P., Cao, L., Wang, J., Qiu, Y., Sun, C., Kang, Z., Gao, F., Xu, W., Hu, X., Yang, D., Qin, Y., Ning, K., Shaw, P. J., Zhong, G., … Xu, J. (2019). Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron/motoneuron-like cells for cell replacement therapy of spinal cord injury. *Cell Death & Disease*, *10*(8), 597. https://doi.org/10.1038/s41419-019-1772-1

Gueye, Y., Marqueste, T., Maurel, F., Khrestchatisky, M., Decherchi, P., & Feron, F. (2015). Cholecalciferol (vitamin D_3) improves functional recovery when delivered during the acute phase after a spinal cord trauma. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *154*, 23-31. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.06.007

Hachmann, J. T., Grahn, P. J., Calvert, J. S., Drubach, D. I., Lee, K. H., & Lavrov, I. A. (2017). Electrical Neuromodulation of the Respiratory System After Spinal Cord Injury. *Mayo Clinic Proceedings*, *92*(9), 1401-1414. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.04.011

Hamers, F. P. T., Lankhorst, A. J., Van Laar, T. J., Veldhuis, W. B., & Gispen, W. H. (2001). Automated Quantitative Gait Analysis During Overground Locomotion in the Rat : Its Application to Spinal Cord Contusion and Transection Injuries. *Journal of Neurotrauma*, *18*(2), 187-201. https://doi.org/10.1089/08977150150502613

Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior : A neuropsychological theory* (1. issued in paperback). Routledge.

Heng, C., & de Leon, R. D. (2009). Treadmill training enhances the recovery of normal stepping patterns in spinal cord contused rats. *Experimental Neurology*, *216*(1), 139-147. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.023

Hubli, M., Dietz, V., & Bolliger, M. (2012). Spinal Reflex Activity : A Marker for Neuronal Functionality After Spinal Cord Injury. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, *26*(2), 188-196. https://doi.org/10.1177/1545968311420844

Jung, S.-Y., Kim, D.-Y., Yune, T. Y., Shin, D.-H., Baek, S.-B., & Kim, C.-J. (2014). Treadmill exercise reduces spinal cord injury-induced apoptosis by activating the PI3K/Akt pathway in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *7*(3), 587-593. https://doi.org/10.3892/etm.2013.1451

Jung, S.-Y., Seo, T.-B., & Kim, D.-Y. (2016). Treadmill exercise facilitates recovery of locomotor function through axonal regeneration following spinal cord injury in rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, *12*(4), 284-292. https://doi.org/10.12965/jer.1632698.349

Keikhaei, R., Abdi, E., Darvishi, M., Ghotbeddin, Z., & Hamidabadi, H. G. (2023). Combined treatment of high-intensity interval training with neural stem cell generation on contusive model of spinal cord injury in rats. *Brain and Behavior*, *13*(7), e3043. https://doi.org/10.1002/brb3.3043

Khalki, L., Sadlaoud, K., Lerond, J., Coq, J.-O., Brezun, J.-M., Vinay, L., Coulon, P., & Bras, H. (2018). Changes in innervation of lumbar motoneurons and organization of premotor network following training of transected adult rats. *Experimental Neurology*, *299*, 1-14. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.09.002

Krishna, V., Andrews, H., Jin, X., Yu, J., Varma, A., Wen, X., & Kindy, M. (2013). A Contusion Model of Severe Spinal Cord Injury in Rats. *Journal of Visualized Experiments*, *78*, 50111. https://doi.org/10.3791/50111

Küchler, M., Fouad, K., Weinmann, O., Schwab, M. E., & Raineteau, O. (2002). Red nucleus projections to distinct motor neuron pools in the rat spinal cord. *Journal of Comparative Neurology*, *448*(4), 349-359. https://doi.org/10.1002/cne.10259

Lemos, J. R., da Cunha, F. A., Lopes, A. J., Guimarães, F. S., do Amaral Vasconcellos, F. V., & dos Santos Vigário, P. (2020). Respiratory muscle training in non-athletes and athletes with spinal cord injury : A systematic review of the effects on pulmonary function, respiratory muscle strength and endurance, and cardiorespiratory fitness based on the FITT principle of exercise prescription. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, *33*(4), 655-667. https://doi.org/10.3233/BMR-181452

Lewis, N. E., Tabarestani, T. Q., Cellini, B. R., Zhang, N., Marrotte, E. J., Wang, H., Laskowitz, D. T., Abd-El-Barr, M. M., & Faw, T. D. (2022). Effect of Acute Physical Interventions on Pathophysiology and Recovery After Spinal Cord Injury : A Comprehensive Review of the Literature. *Neurospine*, *19*(3), 671-686. https://doi.org/10.14245/ns.2244476.238

Li, Y., Decherchi, P., & Raisman, G. (2003). Transplantation of Olfactory Ensheathing Cells into Spinal Cord Lesions Restores Breathing and Climbing. *The Journal of Neuroscience*, *23*(3), 727-731. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-03-00727.2003

Liang, X., Ding, Y., Zhang, Y., Tse, H.-F., & Lian, Q. (2014). Paracrine Mechanisms of Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy : Current Status and Perspectives. *Cell Transplantation*, *23*(9), 1045-1059. https://doi.org/10.3727/096368913X667709

Lo, J., Chan, L., & Flynn, S. (2021). A Systematic Review of the Incidence, Prevalence, Costs, and Activity and Work Limitations of Amputation, Osteoarthritis, Rheumatoid Arthritis, Back Pain, Multiple Sclerosis, Spinal Cord Injury, Stroke, and Traumatic Brain Injury in the United States : A 2019 Update. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *102*(1), 115-131. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2020.04.001

Ma, W., Peschanski, M., & Besson, J.-M. (1986). The overlap of spinothalamic and dorsal column nuclei projections in the ventrobasal complex of the rat thalamus : A double anterograde labeling study using light microscopy analysis. *Journal of Comparative Neurology*, *245*(4), 531-540. https://doi.org/10.1002/cne.902450408

Martinez, M., Delivet-Mongrain, H., Leblond, H., & Rossignol, S. (2012). Effect of Locomotor Training in Completely Spinalized Cats Previously Submitted to a Spinal Hemisection. *The Journal of Neuroscience*, *32*(32), 10961-10970. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1578-12.2012

Martinez, M., Delivet-Mongrain, H., & Rossignol, S. (2013). Treadmill training promotes spinal changes leading to locomotor recovery after partial spinal cord injury in cats. *Journal of Neurophysiology*, *109*(12), 2909-2922. https://doi.org/10.1152/jn.01044.2012

McCloskey, D. I., & Mitchell, J. H. (1972). Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *The Journal of Physiology*, *224*(1), 173-186. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1972.sp009887

Mendes, C. S., Bartos, I., Márka, Z., Akay, T., Márka, S., & Mann, R. S. (2015). Quantification of gait parameters in freely walking rodents. *BMC Biology*, *13*(1), 50. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0154-0

Middleton, J. W., Dayton, A., Walsh, J., Rutkowski, S. B., Leong, G., & Duong, S. (2012). Life expectancy after spinal cord injury : A 50-year study. *Spinal Cord*, *50*(11), 803-811. https://doi.org/10.1038/sc.2012.55

Mohammadi, R., Sanaei, N., Ahsan, S., Masoumi-Verki, M., Khadir, F., & Mokarizadeh, A. (2015). Stromal vascular fraction combined with silicone rubber chamber improves sciatic nerve regeneration in diabetes. *Chinese Journal of Traumatology*, *18*(4), 212-218. https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2014.10.005

Morrison, S. A., Lorenz, D., Eskay, C. P., Forrest, G. F., & Basso, D. M. (2018). Longitudinal Recovery and Reduced Costs After 120 Sessions of Locomotor Training for Motor Incomplete Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *99*(3), 555-562. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2017.10.003

Nawrotek, K., Marqueste, T., Modrzejewska, Z., Zarzycki, R., Rusak, A., & Decherchi, P. (2017). Thermogelling chitosan lactate hydrogel improves functional recovery after a C2 spinal cord hemisection in rat. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, *105*(7), 2004-2019. https://doi.org/10.1002/jbm.a.36067

New, P. W., & Sundararajan, V. (2008). Incidence of non-traumatic spinal cord injury in Victoria, Australia : A population-based study and literature review. *Spinal Cord*, *46*(6), 406-411. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3102152

Nguyen, A., Guo, J., Banyard, D. A., Fadavi, D., Toranto, J. D., Wirth, G. A., Paydar, K. Z., Evans, G. R. D., & Widgerow, A. D. (2016). Stromal vascular fraction : A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, *69*(2), 170-179. https://doi.org/10.1016/j.bjps.2015.10.015

Ohta, Y., Takenaga, M., Hamaguchi, A., Ootaki, M., Takeba, Y., Kobayashi, T., Watanabe, M., Iiri, T., & Matsumoto, N. (2018). Isolation of Adipose-Derived Stem/Stromal Cells from Cryopreserved Fat Tissue and Transplantation into Rats with Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(7), 1963. https://doi.org/10.3390/ijms19071963

Pang, Q.-M., Chen, S.-Y., Xu, Q.-J., Fu, S.-P., Yang, Y.-C., Zou, W.-H., Zhang, M., Liu, J., Wan, W.-H., Peng, J.-C., & Zhang, T. (2021). Neuroinflammation and Scarring After Spinal Cord Injury : Therapeutic Roles of MSCs on Inflammation and Glial Scar. *Frontiers in Immunology*, *12*, 751021. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.751021

Protas, E. J., Holmes, S. A., Qureshy, H., Johnson, A., Lee, D., & Sherwood, A. M. (2001). Supported treadmill ambulation training after spinal cord injury : A pilot study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *82*(6), 825-831. https://doi.org/10.1053/apmr.2001.23198

Qi, Z., Middleton, J. W., & Malcolm, A. (2018). Bowel Dysfunction in Spinal Cord Injury. *Current Gastroenterology Reports*, *20*(10), 47. https://doi.org/10.1007/s11894-018-0655-4

Rafiei Alavi, S. N., Madani Neishaboori, A., Hossein, H., Sarveazad, A., & Yousefifard, M. (2021). Efficacy of adipose tissue-derived stem cells in locomotion recovery after spinal cord injury : A systematic review and meta-analysis on animal studies. *Systematic Reviews*, *10*(1), 213. https://doi.org/10.1186/s13643-021-01771-w

Raineteau, O., & Schwab, M. E. (2001). Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nature Reviews Neuroscience*, *2*(4), 263-273. https://doi.org/10.1038/35067570

Rigotti, G., Marchi, A., Galiè, M., Baroni, G., Benati, D., Krampera, M., Pasini, A., & Sbarbati, A. (2007). Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant : A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *119*(5), 1409. https://doi.org/10.1097/01.prs.0000256047.47909.71

Riordan, N. H., Ichim, T. E., Min, W.-P., Wang, H., Solano, F., Lara, F., Alfaro, M., Rodriguez, J. P., Harman, R. J., Patel, A. N., Murphy, M. P., Lee, R. R., & Minev, B. (2009). Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *Journal of Translational Medicine*, *7*(1), 29. https://doi.org/10.1186/1479-5876-7-29

Rossignol, S., Martinez, M., Escalona, M., Kundu, A., Delivet-Mongrain, H., Alluin, O., & Gossard, J.-P. (2015). The "beneficial" effects of locomotor training after various types of spinal lesions in cats and rats. In *Progress in Brain Research* (Vol. 218, p. 173-198). Elsevier. https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2014.12.009

Scheff, S. W., Rabchevsky, A. G., Fugaccia, I., Main, J. A., & Lumpp, J. E. (2003). Experimental Modeling of Spinal Cord Injury : Characterization of a Force-Defined Injury Device. *Journal of Neurotrauma*, *20*(2), 179-193. https://doi.org/10.1089/08977150360547099

Schindler-Ivens, S., & Shields, R. K. (2000). Low frequency depression of H-reflexes in humans with acute and chronic spinal-cord injury. *Experimental Brain Research*, *133*(2), 233-241. https://doi.org/10.1007/s002210000377

Schmidt, J. T. (1985). Activity-dependent synaptic stabilization in development and learning : How similar the mechanisms? *Cellular and Molecular Neurobiology*, *5*(1-2), 1-3. https://doi.org/10.1007/BF00711082

Seblani, M., Ertlen, C., Coyle, T., Decherchi, P., & Brezun, J.-M. (2024). Combined effect of trifluoperazine and sodium cromoglycate on reducing acute edema and limiting lasting functional impairments after spinal cord injury in rats. *Experimental Neurology*, *372*, 114612. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114612

Semler, J., Wellmann, K., Wirth, F., Stein, G., Angelova, S., Ashrafi, M., Schempf, G., Ankerne, J., Ozsoy, O., Ozsoy, U., Schönau, E., Angelov, D. N., & Irintchev, A. (2011). Objective Measures of Motor Dysfunction after Compression Spinal Cord Injury in Adult Rats : Correlations with Locomotor Rating Scores. *Journal of Neurotrauma*, *28*(7), 1247-1258. https://doi.org/10.1089/neu.2010.1737

Semon, J. A., Zhang, X., Pandey, A. C., Alandete, S. M., Maness, C., Zhang, S., Scruggs, B. A., Strong, A. L., Sharkey, S. A., Beuttler, M. M., Gimble, J. M., & Bunnell, B. A. (2013). Administration of Murine Stromal Vascular Fraction Ameliorates Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Stem Cells Translational Medicine*, *2*(10), 789-796. https://doi.org/10.5966/sctm.2013-0032

Sengul, G., & Watson, C. (2015). Ascending and Descending Pathways in the Spinal Cord. In *The Rat Nervous System* (p. 115-130). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00008-5

Sezer, N. (2015). Chronic complications of spinal cord injury. *World Journal of Orthopedics*, *6*(1), 24. https://doi.org/10.5312/wjo.v6.i1.24

Sun, T., Ye, C., Wu, J., Zhang, Z., Cai, Y., & Yue, F. (2013). Treadmill step training promotes spinal cord neural plasticity after incomplete spinal cord injury. *Neural Regeneration Research*, *8*(27), 2540-2547. https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.27.005

Sweis, R., & Biller, J. (2017). Systemic Complications of Spinal Cord Injury. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *17*(1), 8. https://doi.org/10.1007/s11910-017-0715-4

Takahashi, A., Nakajima, H., Kubota, A., Watanabe, S., & Matsumine, A. (2023). Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cell Transplantation for Severe Spinal Cord Injury : Functional Improvement Supported by Angiogenesis and Neuroprotection. *Cells*, *12*(11), 1470. https://doi.org/10.3390/cells12111470

Tang, D., Wang, X., Chen, Y., Yang, X., Hu, S., Song, N., Wang, J., Cheng, J., & Wu, S. (2022). Treadmill training improves respiratory function in rats after spinal cord injury by inhibiting the HMGB1/TLR-4/NF-κB signaling pathway. *Neuroscience Letters*, *782*, 136686. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136686

Tashiro, S., Shinozaki, M., Mukaino, M., Renault-Mihara, F., Toyama, Y., Liu, M., Nakamura, M., & Okano, H. (2015). BDNF Induced by Treadmill Training Contributes to the Suppression of Spasticity and Allodynia After Spinal Cord Injury via Upregulation of KCC2. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, *29*(7), 677-689. https://doi.org/10.1177/1545968314562110

Wang, H., Liu, N.-K., Zhang, Y. P., Deng, L., Lu, Q.-B., Shields, C. B., Walker, M. J., Li, J., & Xu, X.-M. (2015). Treadmill training induced lumbar motoneuron dendritic plasticity and behavior recovery in adult rats after a thoracic contusive spinal cord injury. *Experimental Neurology*, *271*, 368-378. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.07.004

Wernig, A., Nanassy, A., & Müller, S. (1998). Maintenance of locomotor abilities following Laufband (treadmill) therapy in para- and tetraplegic persons : Follow-up studies. *Spinal Cord*, *36*(11), 744-749. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3100670

Wernig, A., Nanassy, A., & Müller, S. (2000). Laufband (LB) therapy in spinal cord lesioned persons. In *Progress in Brain Research* (Vol. 128, p. 89-97). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)28009-6

Whishaw, I. Q., Gorny, B., & Sarna, J. (1998). Paw and limb use in skilled and spontaneous reaching after pyramidal tract, red nucleus and combined lesions in the rat : Behavioral and anatomical dissociations. *Behavioural Brain Research*, *93*(1), 167-183. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00152-6

You, H.-J., & Han, S.-K. (2014). Cell Therapy for Wound Healing. *Journal of Korean Medical Science*, *29*(3), 311-319. https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.3.311

Zhu, H., Poon, W., Liu, Y., Leung, G. K.-K., Wong, Y., Feng, Y., Ng, S. C. P., Tsang, K. S., Sun, D. T. F., Yeung, D. K., Shen, C., Niu, F., Xu, Z., Tan, P., Tang, S., Gao, H., Cha, Y., So, K.-F., Fleischaker, R., … Young, W. (2016). Phase I–II Clinical Trial Assessing Safety and Efficacy of Umbilical Cord Blood Mononuclear Cell Transplant Therapy of Chronic Complete Spinal Cord Injury. *Cell Transplantation*, *25*(11), 1925-1943. https://doi.org/10.3727/096368916X691411

Zieriacks, A., Aach, M., Brinkemper, A., Koller, D., Schildhauer, T. A., & Grasmücke, D. (2021). Rehabilitation of Acute Vs. Chronic Patients With Spinal Cord Injury With a Neurologically Controlled Hybrid Assistive Limb Exoskeleton : Is There a Difference in Outcome? *Frontiers in Neurorobotics*, *15*, 728327. https://doi.org/10.3389/fnbot.2021.728327

6 Discussion

6.1 Synthèse des résultats

Les lésions de la moelle épinière (LME) représentent un problème de santé majeur altérant les fonctions sensorimotrices des individus affectés par de tels traumatismes. Ces pertes fonctionnelles varient en fonction du niveau et de la sévérité de la lésion. Avec une estimation de la prévalence allant de 250 000 à 500 000 cas dans le monde, les LME entrainent des conséquences réelles sur la qualité de vie et la longévité des personnes concernées. Malgré les progrès dans le domaine médical, aucun traitement n'a encore été identifié comme efficace pour remédier aux nombreux troubles dévastateurs liés à cette pathologie.

Les thérapies cellulaires continuent de susciter l'intérêt des chercheurs et des médecins car elles offrent une approche à la fois neuroprotectrice et neurorégénérative. Grâce à ses fonctions endocrines et à sa diversité cellulaire, le TA a montré des capacités trophiques, angiogéniques et immunomodulatrices lorsqu'il est utilisé comme traitement pour les pathologies du SNC. Ainsi, il représente une ressource thérapeutique prometteuse pour traiter les LME.

Les deux premières études portaient sur l'évaluation des effets thérapeutiques de deux thérapies cellulaires utilisant le TA appliquées dans les quatre heures suivant la lésion, sur la modulation de la réponse inflammatoire, le maintien de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales, ainsi que sur la promotion des récupérations sensorimotrices après une contusion médullaire thoracique chez le rat. Nos hypothèses étaient que ces deux stratégies atténueraient la réponse inflammatoire post-lésionnelle, entraineraient une épargne fonctionnelle et restaureraient les voies spinales altérées, conduisant à une amélioration des fonctions sensorimotrices des animaux lésés.

Dans l'étude présentée dans l'**Article I**, nous avons d'abord caractérisé *in vitro* les cultures de cellules dérivées de la GA. Les cellules extraites puis mises en culture exprimaient des marqueurs endothéliaux, hématopoïétiques et mésenchymateux. Nous avons ensuite réalisé des

dépôts de la GA humaine sur la dure-mère au niveau du site lésé chez des rats présentant une contusion médullaire thoracique sévère. Dans l'étude de l'**Article II**, l'analyse de la composition cellulaire de la FVS de rat révèle une viabilité et un rendement cellulaire importants à la suite de la purification. Ainsi, nous avons pu injecter volume de 50 µL contenant 10^6 cellules de FVS autologue dans l'espace sous-dural au niveau du site lésionnel des rats ayant subi une contusion médullaire thoracique sévère. Les deux traitements, par la GA ou la FVS, ont significativement réduit l'inflammation endogène 14 jours après la lésion par rapport aux animaux lésés et non traités, à travers la réduction de l'expression des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-6. En revanche l'expression d'Il-1β était significativement réduite après le traitement à la FVS, alors qu'elle était similaire entre le groupe de rats lésés et greffés à la GA et le groupe de rats lésés et non traités. Ainsi, les deux traitements n'induisent pas d'inflammation endogène supplémentaire et contribuent à limiter l'activation d'une réponse inflammatoire chronique. De plus, l'analyse des enregistrements électrophysiologiques réalisés 12 semaines après la lésion montre que les greffes de GA et de FVS ont rétabli l'intégrité fonctionnelle de la boucle sensorimotrice intrasegmentaire et ont restauré la communication entre les voies sous-lésionnelles et les centres supraspinaux. Enfin, les deux traitements ont entrainé une amélioration significative des récupérations sensorimotrices par rapport aux animaux lésés et non traités. La comparaison de ces résultats sera abordée dans une prochaine section (voir section 6.2).

Dans l'**Article III**, nous avons combiné la greffe de la FVS autologue avec un programme d'entrainement sur tapis roulant chez des rats présentant une contusion médullaire thoracique sévère. Notre objectif était de déterminer si cette combinaison pouvait renforcer les effets positifs observés dans les résultats présentés dans l'**Article II**. Nos résultats suggèrent que la thérapie combinée permet des récupérations sensorimotrices significativement supérieures par rapport aux animaux greffés et non entrainés. De plus, les analyses des enregistrements électrophysiologiques indiquent que cette thérapie combinée rétablit l'intégrité fonctionnelle de la boucle sensorimotrice intrasegmentaire. En revanche, les rats greffés et non entrainés ont montré une augmentation significative des ajustements ventilatoires en réponse à une fatigue

musculaire électriquement induite, par rapport aux animaux traités et entrainés, alors que ces derniers n'ont pas montré d'ajustement ventilatoire en réponse à ce stimulus.

Nous réalisons actuellement une étude qui vise à coupler la greffe de GA avec un programme d'entrainement sur tapis roulant, afin de déterminer si cette approche peut potentialiser les effets bénéfiques présentés dans l'**Article I** (voir **Annexe 1**). Nos résultats préliminaires suggèrent que l'entrainement physique ne conduit à aucune amélioration supplémentaire des récupérations sensorimotrices chez les rats soumis à une contusion médullaire thoracique et greffés à la GA, par rapport aux rats greffés et non entraînés. De plus, aucune différence significative n'a été observée lors de l'analyse des mesures électrophysiologiques entre les rats ayant reçu la thérapie combinée et ceux ayant uniquement reçu la greffe de GA. Nous discuterons de la comparaison de ces résultats préliminaires avec ceux de l'**Article III** dans une section ultérieure (voir section 6.3).

6.2 Comparaison de l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux sur les lésions de la moelle épinière

6.2.1 Réduction de l'inflammation endogène

Qu'il s'agisse de la greffe de la GA humaine ou de la FVS autologue de rat, les deux thérapies cellulaires utilisées dans nos études ont réduit l'inflammation endogène post-lésionnelle, à travers la diminution de l'expression des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-6.

D'une part, nous pouvons supposer que les deux traitements utilisent des mécanismes analogues pour réduire les concentrations des cytokines TNF-α et IL-6. Ces mécanismes seraient médiés par les actions synergiques entre les sous-populations cellulaires et les molécules sécrétées communes aux deux traitements, c'est-à-dire les cellules constituant la FVS. Comme mentionné précédemment dans ce manuscrit de thèse, la FVS possède des propriétés immunomodulatrices, principalement médiées par l'interaction de trois populations cellulaires : les CSA, les macrophages M2 et les lymphocytes Treg (voir section 2.3.2.2). Nous pouvons donc supposer que l'interaction entre ces trois populations a pu contribuer à la réduction de la

neuroinflammation post-lésionnelle, en réduisant l'expression des cytokines pro-inflammatoires. En effet, les CSA présents dans les deux traitements ont pu favoriser le changement des macrophages M1 vers un phénotype M2 à travers la sécrétion du facteur TSG-6, comme cela a déjà été proposé dans de précédentes études (Aubertin et al., 2021 ; Carelli et al., 2018, 2019). Les macrophages M2 sécrètent les cytokines anti-inflammatoires IL-10, IL-4, IL-13 et le TGF-β. Ces facteurs pourraient avoir limité le recrutement et l'activation des cellules immunitaires pro-inflammatoires, et avoir participé à la réduction de l'expression locale des cytokines IL-6 et TNF-α. De plus, la capacité des CSA à moduler l'activation de la voie de signalisation Jagged1/ Notch (Z. Zhou et al., 2020) pourrait également être impliquée dans l'atténuation de la réponse inflammatoire engendrée par la lésion. Par ailleurs, il est envisageable que la sécrétion du TGF-β par les macrophages M2, ainsi que la libération de l'enzyme IDO par les CSA, aient stimulé la prolifération des lymphocytes Treg, inhibant la prolifération des lymphocytes T pro-inflammatoires et, par conséquent, la sécrétion des cytokines IL-6 et TNF-α (Gandolfi et al., 2023).

D'autre part, il est également envisageable de considérer que la diminution de la concentration locale de TNF-α et d'IL-6 après le traitement à la GA puisse être influencée à la fois par l'ensemble de ces mécanismes médiés par les cellules de la FVS, mais aussi par l'expression des adipokines anti-inflammatoires sécrétées par les adipocytes présents dans la GA. En effet, dans leur étude, Carelli et al. ont constaté une expression accrue d'adiponectine dans la lésion après une contusion médullaire chez la souris (Carelli et al., 2019). Or, comme mentionné dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, cette hormone possède des propriétés anti-inflammatoires en modulant l'activation microgliale et donc l'expression des cytokines pro-inflammatoires (Ng et al., 2021) (voir section 2.4.1.2). Le TA sécrète également d'autres adipokines, telles que l'Ang-(1-7) et la résistine, qui ont toutes deux montré des effets anti-inflammatoires à la suite d'une lésion du SNC (Regenhardt et al., 2013 ; J. Zhu et al., 2017). Ainsi, les synergies d'actions médiées par les cellules de la FVS et par les adipokines ont pu jouer un rôle dans la réduction de la neuroinflammation post-lésionnelle chez les animaux lésés et greffés avec de la GA.

Nous avons également pu constater que le traitement avec de la FVS a réduit l'expression de la cytokine pro-inflammatoire IL-1β, alors que la greffe de GA n'a pas montré d'effet significatif sur la variation de concentration de cette cytokine. Les interactions cellulaires et les mécanismes mis en jeu par les cellules de la FVS, que nous avons présentés précédemment, ont probablement contribué à la diminution significative des taux d'IL-1β chez les rats greffés à la FVS. Cependant, l'absence de variation significative de cette cytokine chez les rats ayant reçu de la GA suggère que les deux traitements mobilisent des mécanismes différents pour moduler son expression. Contrairement à la FVS, la GA contient des adipocytes capables de sécréter des adipokines possédant des capacités pro- et anti-inflammatoires. Pinteaux et al. ont mis en évidence que la leptine favorise la libération de l'IL-1β par les cellules microgliales dans les processus inflammatoires chez le rat (Pinteaux et al., 2007). De plus, des études ont montré que l'IL-1β ainsi libérée est à son tour capable de stimuler la production de leptine par les adipocytes immatures (Faggioni et al., 1998 ; Simons et al., 2005). Par ailleurs, Carelli et al. ont montré que le traitement avec de la GA après une contusion médullaire chez la souris a augmenté les taux de leptine au niveau du site lésionnel, suggérant que les cellules activées, notamment les CSA, seraient capables de migrer du greffon de GA vers le site lésionnel (Carelli et al., 2019). Ainsi, il est possible que la greffe de GA dans notre étude ait induit l'augmentation de l'expression de la leptine, ce qui aurait favorisé la sécrétion d'IL-1β par les cellules immunitaires environnantes, expliquant ainsi l'absence de variation des taux d'IL-1β chez les rats traités à la GA.

Il semblerait donc que les deux thérapies cellulaires utilisent à la fois des mécanismes similaires et distincts pour réduire l'inflammation après une contusion thoracique sévère de la moelle épinière chez le rat. Cependant, des analyses plus approfondies sont nécessaires afin de comprendre pleinement les mécanismes mis en jeu par chaque traitement.

Dans nos études, nous avons choisi d'évaluer les concentrations des cytokines TNF-α, IL-6 et IL-1β 14 jours après la lésion, période cruciale de la phase inflammatoire où ces cytokines connaissent une régulation positive de leur expression. Cependant, afin d'améliorer notre compréhension de la cinétique des mécanismes anti-inflammatoires mis en jeu par les deux

thérapies cellulaires, il serait intéressant d'analyser les concentrations de chaque cytokine à leur pic d'apparition lors de la réponse inflammatoire, qui se produit au cours de la première semaine suivant la blessure (Hellenbrand et al., 2021 ; Lund et al., 2022). Il serait également judicieux de mesurer les concentrations intra-lésionnelles des cytokines anti-inflammatoires, telles que l'IL-10, l'IL-4, l'IL-13 ou encore le TGF-β, dont les pics de concentration sont atteints plus tardivement entre la première et la deuxième semaine par rapport aux cytokines pro-inflammatoires. Cela permettrait de mieux identifier les mécanismes immunomodulateurs utilisés par ces deux traitements (Hellenbrand et al., 2021 ; Lund et al., 2022). Ces approches, bien que pertinentes, nécessiteraient toutefois un échantillonnage plus important d'animaux.

6.2.2 Récupérations fonctionnelles

Dans les études présentées dans les **Articles I** et **II**, nous montrons que les deux thérapies cellulaires entrainent des améliorations des récupérations sensorimotrices chez des rats présentant une contusion médullaire thoracique sévère. Nous notons que l'analyse du score locomoteur du BBB à la 12ème semaine après la lésion montre que les rats greffés à la GA et ceux greffés à la FVS sont capables de supporter leur poids de manière soutenue et montrent une coordination constante entre les membres supérieurs et inférieurs lors de la marche. Dans l'ensemble, les deux traitements ont entrainé une amélioration significative des récupérations sensorimotrices des rats greffés entre la 1ère et la 12ème semaine après la lésion. Cependant, dans l'**Article II**, nous rapportons que les rats traités à la FVS présentent une amélioration significative du score locomoteur à partir de la 10ème semaine après lésion par rapport au groupe NaCl, alors que dans l'**Article I** aucune différence significative n'a été trouvée entre le groupe de rats greffés à la GA et le groupe NaCl durant les 12 semaines de suivi.

Comme nous l'avons indiqué précédemment dans le cadre théorique de ce manuscrit de ce manuscrit, l'organisation anatomique et fonctionnelle des voies spinales diffère entre l'Homme et le rat (voir section 2.1.2). Les résultats des tests du BBB et de l'échelle obtenus au cours de la première semaine suivant la blessure semblent indiquer que la contusion a altéré les voies

dorsales de la moelle épinière, comprenant les voies ascendantes lemniscales, spinothalamiques et spinocérébelleuses, ainsi que les voies descendantes corticospinales et rubrospinales. Ces altérations ont été associées à une perturbation des fonctions sensorimotrices des animaux (voir les **Articles I** et **II**). Les améliorations des récupérations sensorimotrices observées au fil des semaines suivantes pour les animaux traités à la GA ou à la FVS peuvent être attribuées d'une part à la limitation de la dégénérescence du tissu spinal et donc des fibres nerveuses impliquées dans ces voies, entrainée par la réduction précoce de la réponse inflammatoire et des processus apoptotiques, et d'autre part à l'augmentation de la régénérescence du tissu lésé.

Les récupérations sensorimotrices post-lésionnelles sont dépendantes de la capacité de régénérescence du tissu lésé, elle-même étant dépendante de la réponse inflammatoire et des processus apoptotiques. Dans ce contexte, un environnement inflammatoire inhibiteur entrave la régénérescence axonale, limite la restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales lésées et, par conséquent, restreint les récupérations sensorimotrices. De plus, à la suite d'une LME, l'augmentation de la sécrétion des cytokines IL-1β, IL-6 et TNF-α par les cellules microgliales favorise l'apoptose cellulaire et la formation de la cicatrice gliale (Bilalova et al., 2024). Il a été décrit que durant la phase aigüe de la lésion secondaire, l'IL-1β induit une diminution de l'expression de la protéine Bcl-2 qui limite la survie neuronale, et favorise l'expression des protéines Bax et caspase-3, toutes deux impliquées dans le phénomène d'apoptose (Ren et al., 2018). De plus, la fin de la phase subaiguë se caractérise par une activation des astrocytes par l'action des cytokines locales, qui deviennent réactifs, adoptent un profil fibreux et s'agrègent pour former la cicatrice gliale. Dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, nous avons mentionné les effets à la fois bénéfiques et néfastes que peut avoir cette cicatrice sur les LME (voir la section 2.2.3.2.2). De nombreuses études ont notamment montré que cette cicatrice constituait une entrave à la régénérescence axonale, alors que d'autres ont pu révéler son rôle essentiel comme support de la régénérescence. Toutefois, il semblerait qu'une forte concentration de GFAP dans le tissu lésé soit liée à une faible croissance axonale post-lésionnelle (J. Silver & Miller, 2004). Ainsi, nous pouvons supposer que la réduction de l'expression locale des cytokines pro-inflammatoires par les cellules de la FVS, observée dans l'**Article II**,

a pu limiter les phénomènes d'apoptose ainsi que la formation de la cicatrice gliale, et donc favoriser la régénérescence axonale, conduisant à une amélioration significative des récupérations sensorimotrices des animaux traités à la FVS durant les 12 semaines suivant la lésion. Les rats greffés à la GA ont également montré une amélioration significative du score locomoteur au test du BBB durant cette période comme montré dans l'**Article I**. Cependant aucune différence significative n'a été trouvé entre le groupe de rats greffés à la GA et le groupe NaCl. Comme montré précédemment, ces deux groupes présentent des taux similaires d'IL-1β. Une étude a montré que la liaison de cette cytokine à son récepteur IL-1R1, présent à la surface des astrocytes spinaux, permet de moduler la réaction astrogliale à la suite d'une LME (Gajtkó et al., 2020). Il est donc probable que les taux élevés d'IL-1β observés chez les animaux greffés à la GA aient pu favoriser les phénomènes d'apoptose ainsi que la formation de la cicatrice gliale, et par conséquent, restreindre la régénérescence axonale, limitant ainsi les récupérations locomotrices chez ces animaux.

Bien que les scores locomoteurs du BBB des animaux greffés à la GA n'aient montré aucune différence significative avec le groupe NaCl au cours des 12 semaines de suivi, des améliorations intra-groupes ont été constatées. Ces résultats suggèrent un certain degré de régénérescence fonctionnelle induite par ce traitement, à l'instar de la greffe de FVS. Ces observations sont cohérentes avec les résultats du test de la marche, révélant une locomotion plus fluide et coordonnée chez les animaux traités à la GA ou à la FVS, avec une meilleure synchronisation entre les membres inférieurs et supérieurs par rapport aux rats des groupes NaCl. Ces constats laissent supposer un meilleur contrôle moteur, une plus grande amplitude de pas et une meilleure fluidité articulaire chez les animaux traités avec les thérapies cellulaires, comme observé dans les **Articles I** et **II**.

L'ensemble des améliorations fonctionnelles observées, en plus d'être potentiellement favorisées par la réduction de la neuroinflammation post-lésionnelle, ont pu être influencées par la capacité des cellules du TA à sécréter des facteurs trophiques dans le milieu lésionnel. En effet, comme exposé dans le cadre théorique de cette thèse, les CSA ont la capacité de sécréter des facteurs neurotrophiques tels que le GDNF, le NGF, NT-3 et le BDNF. Ces facteurs modulent

la voie PI3K/AKT et les voies MAPK, qui sont impliquées dans la différenciation neuronale, la survie cellulaire et la repousse axonale (Atkinson & Dickman, 2023)(voir section 2.4.1.1). De plus, des contusions sévères de la moelle épinière ont été réalisées dans les études présentées dans les **Articles I** et **II**, et ce type de lésion altère les couches méningées et la BHS, les rendant perméables, ce qui facilite l'infiltration cellulaire. Nous pouvons donc supposer que dans nos études, l'effet régénérateur lié aux récupérations fonctionnelles observées résulterait à la fois de l'effet paracrine des CSA, à travers la sécrétion de facteurs neurotrophiques, mais pourrait également dépendre de la migration des CSA transplantées vers le site lésionnel, où elles pourraient ainsi libérer des facteurs trophiques et anti-inflammatoires supplémentaires, contribuant à la régénérescence du tissu lésé.

Par ailleurs, dans le cadre théorique de cette thèse, nous avons souligné l'effet angiogénique des cellules du TA à travers leur sécrétion de facteurs angiogéniques tels que le VEGF et l'ANGT (voir section 2.3.2.3). Cette capacité angiogénique permet l'apport de nutriments et d'oxygène essentiels au bon fonctionnement du tissu et favorise sa régénérescence à la suite d'une lésion. Par conséquent, il est probable que la communication paracrine entre les cellules greffées utilisées dans nos études, en particulier les CSA, les macrophages M2 et les CPE, et leur infiltration potentielle dans le tissu lésé, aient pu faciliter la revascularisation tissulaire en induisant la prolifération, la différenciation et la maturation des CPE en cellules endothéliales capables de former de nouveaux réseaux vasculaires fonctionnels, apportant ainsi un soutien trophique à la régénérescence tissulaire.

Les résultats obtenus aux tests sensorimoteurs dans les études des **Articles I** et **II** laissent supposer que le traitement à la GA apporte un effet bénéfique plus précoce que la greffe de FVS. Dans ce sens, les analyses des scores locomoteurs une semaine après la lésion révèlent que les animaux greffés avec de la GA atteignent un score d'environ 6 sur l'échelle du BBB, alors que les rats greffés à la FVS obtiennent un score d'environ 2. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus au test de l'échelle. Ce test évalue l'intégration des entrées sensorielles et des sorties motrices fines, et fournit une évaluation du sens tactile, de la proprioception et de la fonction motrice des animaux. Les résultats de ce test présentés dans l'**Article I**, montrent

que les rats greffés à la GA présentent des récupérations sensorimotrices significativement plus rapides de la 3ème à la 6ème semaine après la lésion, objectivé par l'absence de différence significative avec les animaux du groupe SHAM, constitué d'animaux indemnes de toute lésion. En revanche, dans l'**Article II**, les récupérations sensorimotrices des animaux des groupes FVS et NaCl se sont améliorées de manière similaire jusqu'à la 9ème semaine, puis les rats greffés à la FVS ont montré des récupérations significativement supérieures au groupe NaCl de la 10ème à la 12ème semaine après la lésion. Il semblerait donc que le traitement à la GA limite la dégénérescence des voies ascendantes spinocérébelleuses et de la voie descendante rubrospinale de manière plus précoce que la FVS. Ces voies sont impliquées dans la sensibilité proprioceptive inconsciente du corps, et véhiculent des informations sensitives provenant des muscles, des tendons et des ligaments des membres inférieurs et du tronc inférieur qui sont essentiels au maintien de l'équilibre et la coordination lors de la montée d'échelle (Sengul & Watson, 2015). Cette action thérapeutique précoce de la GA pourrait être liée à l'augmentation de la concentration locale d'adiponectine. Comme mentionné dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse, cette adipokine présente des effets anti-inflammatoires, angiogéniques et favorise la croissance axonale et la synaptogénèse grâce à son action sur ses récepteurs AdipoR1 et AdipoR2, lorsqu'elle est utilisée dans le traitement de certains troubles du SNC (Formolo et al., 2022) (voir section 2.4.1.2). De plus, une étude a démontré que la surexpression d'adiponectine peut réduire l'œdème cérébral associé à l'hématome dans les premières 24 heures suivant l'induction d'une hémorragie intracérébrale chez le rat (S. Wang et al., 2020). Très récemment, Mohamed et al. ont également mis en évidence la capacité de l'adiponectine à réduire l'expression de l'aquaporine 4 dans un modèle de rat de rétinopathie diabétique (Mohamed et al., 2024). Cette protéine joue un rôle crucial dans la formation de l'œdème consécutif à une lésion médullaire, ce qui constitue un obstacle significatif à la préservation et à la régénérescence du tissu spinal (Seblani et al., 2023, 2024). Il est donc possible que dans notre modèle de LME, l'adiponectine sécrétée par les cellules greffées activées ait restreint la formation d'œdème dans les premières heures suivant la lésion. Ainsi, nous pouvons supposer que la sécrétion locale d'adiponectine, à travers ses effets anti-inflammatoires et angiogéniques, ainsi que sa

capacité à réduire l'œdème, ait plus rapidement limité la dégénérescence tissulaire, favorisant la préservation tissulaire et la régénérescence fonctionnelle des voies spinales susmentionnées, comparé aux mécanismes mis en jeu par les cellules de la FVS. Une analyse de la cinétique de la réponse inflammatoire ainsi que des observations histologiques seraient nécessaires afin de confirmer notre hypothèse. Sur ce point, des pistes seront proposées dans une section ultérieure (voir section 7.1).

Il est également important de noter que dans l'étude présentée dans l'**Article I**, les prélèvement graisseux ont été réalisés chez 3 donneuses différentes, ce qui pourrait expliquer la grande variabilité retrouvée au sein du groupe GA. Des études ont montré que le TA présentait les changements hormonaux au cours du cycle menstruel des femmes. En effet, Wyskida et al. rapportent que les taux plasmatiques, d'adiponectine, de TNF-α et d'IL-6 sont stables pendant le cycle menstruel, alors que les taux de leptine sont régulés à la hausse au milieu du cycle et dans les phases lutéales (Wyskida et al., 2017). De plus, il a été démontré que ces variations hormonales sont associées à des changements dans la composition cellulaire du TA (Yeung et al., 2013). Ainsi, nous pourrions suggérer que selon la phase du cycle menstruel des donneuses au moment du prélèvement, la composition cellulaire et hormonale du TA pourrait différer entre les différents prélèvements. De plus, il est probable que ces divergences aient influencé l'activation du TA, ce qui aurait pu affecter l'expression des gènes Nanog, Oct4 et Sox2 par les CSA. Par conséquent, cela aurait pu avoir un impact sur la qualité de la GA greffée. Il est donc envisageable que chez certains animaux, la greffe de GA ait favorisé la production locale de leptine, entraînant ainsi une augmentation de l'expression d'IL-1β et altérant les récupérations sensorimotrices, contrairement à d'autres animaux.

Il serait donc essentiel d'évaluer la composition et la qualité de chaque prélèvement, afin d'affiner notre compréhension sur les mécanismes qui sous-tendent les récupérations fonctionnelles observées dans notre étude.

6.2.3 Restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales

À la suite des améliorations des récupérations sensorimotrices décrites dans les **Articles I** et **II**, nous avons évalué les effets thérapeutiques des greffes de GA et de SVF dans la restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales endommagées par la lésion.

Pour ce faire, nous avons réalisé des enregistrements électrophysiologiques 12 semaines après la lésion. Dans un premier temps, nous avons enregistré le réflexe H, notamment le rapport H_{max}/M_{max} à différentes fréquences de stimulation, afin de vérifier l'efficacité des greffes de GA et de FVS dans le processus de récupération des circuits neuronaux locaux (c'est-à-dire proche de la lésion). Ensuite, nous avons mesuré les ajustements ventilatoires induits par une fatigue musculaire électriquement induite, ce qui nous a renseigné sur l'intégrité de la communication entre les voies sous- et sus-lésionnelles, remontant vers les centres respiratoires pontobulbaires.

Le réflexe H est un phénomène neurophysiologique qui déclenche la contraction d'un muscle sans intervention des centres supraspinaux, en réponse à la stimulation des afférences Ia. Chez les personnes atteintes de LME, la stimulation nerveuse à haute fréquence augmente l'amplitude du réflexe H en raison de l'absence de retour inhibiteur des voies supraspinales (Gueye et al., 2015 ; J. K. Lee et al., 2005 ; Nawrotek et al., 2017 ; Pertici et al., 2013). Cette augmentation de l'amplitude du réflexe H contribue à la spasticité, caractérisée par une raideur musculaire et une résistance à l'étirement, affectant le mouvement normal. L'hyperréflexie, composante principale de la spasticité, résulte de divers mécanismes, dont une diminution de l'inhibition présynaptique des afférences Ia et des modifications de la transmission synaptique (Bennett et al., 2001 ; Reese et al., 2006 ; Yates et al., 2008). L'enregistrement et l'évaluation du réflexe H, notamment du rapport H_{max}/M_{max} à différentes fréquences de stimulation, permettent d'évaluer la spasticité et de comprendre la plasticité neurale et la régénérescence des voies spinales après une LME.

Dans nos deux études, nous avons pu constater que les deux traitements ont diminué le rapport H_{max}/M_{max} lors de l'augmentation de la fréquence de la stimulation, de manière comparable aux groupes SHAM. En revanche, ce rapport est resté constant dans les groupes NaCl des deux études, quelle que soit la fréquence de stimulation. Ces résultats soulignent

l'effet bénéfique des deux thérapies sur la restauration de l'intégrité fonctionnelle de la boucle sensorimotrice intrasegmentaire chez les animaux traités. De plus, le rétablissement des ajustements ventilatoires lors d'une fatigue musculaire électriquement induite chez les animaux greffés à la GA ou à la FVS suggère que ces deux traitements restaurent la communication entre les réseaux neuronaux sous-lésionnels et les centres supraspinaux. Ces récupérations, notamment au niveau du reflexe H, peuvent être responsables de l'amélioration de la motricité et de la posture chez les animaux traités, en diminuant une potentielle spasticité chez les animaux du groupe NaCl. De plus, ces observations suggèrent également que la greffe de GA ainsi que la greffe de FVS induisent une réorganisation et/ou une régénérescence des réseaux neuronaux lésés, favorisant ainsi leur rétablissement fonctionnel.

De la même manière que pour les récupérations sensorimotrices, nous pouvons envisager que les améliorations fonctionnelles observées peuvent être le résultat de deux mécanismes : d'une part, ces améliorations fonctionnelles pourraient résulter de l'interaction synergique entre les différentes sous-populations cellulaires de la FVS, qui sont communes aux deux traitements. D'autre part, elles pourraient être dues à des mécanismes d'action différents, où l'un reposerait exclusivement sur les cellules de la FVS tandis que l'autre intègrerait les effets bénéfiques des adipokines dans le cas de la greffe de GA. Afin de clarifier cette question, des analyses supplémentaires seraient nécessaires. Il serait intéressant d'évaluer les effets spécifiques de chacune des cellules présentes dans nos stratégies thérapeutiques, ainsi que l'action des différentes adipokines, sur la réorganisation, la régénérescence et la restauration fonctionnelle des voies spinales, identifiant ainsi leur contribution dans les processus menant aux améliorations sensorimotrices observées dans nos études.

Par ailleurs, dans l'**Article II**, nous avons également rapporté la variation du rapport H_{max}/M_{max} en réponse à une stimulation répétitive à 10 Hz du nerf péronier, afin de vérifier l'intégrité fonctionnelle des voies spinales intersegmentaires. Nos résultats indiquent que la stimulation nerveuse répétitive a induit une diminution significative du rapport H_{max}/M_{max} chez les animaux greffés à la FVS, similaire au groupe SHAM. Ces résultats suggèrent que le traitement à la FVS, en plus de restaurer l'intégrité de la boucle sensorimotrice au niveau

intrasegmentaire, restaure la communication entre les voies sus- et sous-lésionnelles. Cependant, cette mesure n'a pas été réalisée dans l'étude présentée dans l'**Article I**. Nous ne pouvons donc pas affirmer l'efficacité de la greffe de GA pour restaurer l'intégrité fonctionnelle des voies descendantes. En revanche, la fonctionnalité des voies ascendantes a pu être démontrée grâce à la mesure des ajustements ventilatoires mettant en jeu des afférences musculaires métabosensibles. Cependant, dans la mesure où les animaux greffés à la GA montrent des récupérations sensorimotrices significatives, il semblerait qu'il y ait tout de même une refonctionnalisation des voies descendantes motrices. Ainsi, afin de confirme cette hypothèse, il serait intéressant de mesurer la variation du rapport H_{max}/M_{max} en réponse à une stimulation répétitive à 10 Hz du nerf péronier chez les rats greffés avec de la GA.

6.2.4 Synthèse sur l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux couplées à un entrainement physique sur les lésions de la moelle épinière

Dans les sections précédentes, nous avons mis en lumière des effets thérapeutiques à la fois similaires et distincts des deux types de thérapies cellulaires employées dans nos recherches relatives aux contusions médullaires. Il semblerait que les effets anti-inflammatoires partagés par ces deux traitements soient médiés par des actions synergiques entre les cellules de la FVS, limitant le recrutement et l'activation des cellules microgliales, et entraînant une réduction de la sécrétion locale des cytokines pro-inflammatoires TNF-α et IL-6. De plus, les actions paracrines des différentes sous-populations cellulaires, impliquant la libération de facteurs neurotrophiques et angiogéniques, ont pu jouer un rôle majeur dans la régénérescence du tissu lésé, ainsi que dans la préservation, la réorganisation, et la restauration fonctionnelle des voies spinales altérées par la lésion. Cependant, ces deux stratégies semblent avoir une chronologie d'action différente. D'une part, la greffe de GA semble exercer un effet bénéfique plus précoce que la greffe de FVS. Cet effet pourrait être attribué à l'action neuroprotectrice immédiate de l'adiponectine sécrétée localement par les cellules greffées, favorisant ainsi la préservation tissulaire, à travers la stimulation des processus régénératifs au sein du tissu lésé. Cependant, l'expression élevée de l'IL-1β chez les rats traités avec de la GA pourrait avoir entravé les

récupérations à long terme de ces animaux, à travers le maintien des processus apoptotiques et en favorisant la formation de la cicatrice gliale. Ces phénomènes ont pu ainsi altérer les processus de régénérescence mis en place plus tardivement, ce qui pourrait expliquer l'absence de différence significative observée entre les récupérations sensorimotrices de ces animaux et le groupe NaCl, au cours des 12 semaines suivant la lésion. D'autre part, la FVS semble avoir un effet bénéfique plus retardé sur les récupérations sensorimotrices. Étant donné que l'expression des cytokines pro-inflammatoires n'a été mesurée que 14 jours après la lésion, son rôle dans la modulation de la réponse inflammatoire pendant la phase aiguë de la lésion n'est pas encore clair. Toutefois, nous pouvons supposer que la greffe de FVS agirait davantage sur les processus en lien avec la formation de la cicatrice gliale lors de la fin de la phase subaiguë, plutôt que sur les mécanismes pro-inflammatoires immédiats.

Ces divergences dans la chronologie d'action peuvent également être attribuées aux modalités d'administration distinctes au niveau de la lésion des deux thérapies cellulaires. En effet, la GA, étant de nature solide et de consistance gélatineuse, a été déposée sur la dure-mère, tandis que la FVS, sous forme de suspension cellulaire, a été injectée sous la dure-mère, dans l'espace sous-arachnoïdien. Dans cet espace, le LCS s'écoule de manière continue et unidirectionnelle à travers les méninges dans une direction cranio-caudale (Wichmann et al., 2022). Ainsi, il est probable que les cellules de la FVS injectées aient été dispersées dans le LCS et n'aient donc pas pu totalement et directement infiltrer le site lésionnel, ce qui pourrait en partie expliquer l'effet thérapeutique retardé de cette thérapie. De ce fait, il serait intéressant d'explorer les effets thérapeutiques d'une administration locale des cellules de la FVS, après les avoir incluses dans un hydrogel, ce qui permettrait leur maintien et faciliterait leur infiltration progressive, ainsi que la délivrance d'autres facteurs au niveau de la lésion. D'autre part, nous pouvons supposer que le dépôt de GA sur la dure mère permet un maintien des cellules greffées, favorisant des échanges locaux précoces avec l'environnement de la lésion, à travers la diffusion directe de divers facteurs, notamment l'adiponectine et la leptine. De plus, nous avons pu constater que 12 semaines après le dépôt de GA, le greffon était toujours visible au niveau de la lésion sous la forme d'un amas tissulaire (données non publiées). Cette observation suggère une

bonne prise de greffe, ainsi que la survie des cellules greffées tout au long de l'expérimentation. Il est donc possible que le maintien du greffon ait favorisé les communications paracrines entre les cellules greffées et le milieu lésé, facilitant également l'infiltration cellulaire, favorisant l'action bénéfique locale de la GA. Toutefois, des analyses histologiques ainsi qu'une évaluation de la qualité des différents prélèvement graisseux seraient essentiels afin de mieux appréhender les mécanismes sous-jacents aux récupérations fonctionnelles.

6.3 Comparaison de l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux couplées à un entrainement physique sur les lésions de la moelle épinière

6.3.1 Récupérations fonctionnelles

Comme mentionné dans le cadre théorique de ce manuscrit de thèse (voir section 2.2.9.2.3), la combinaison de thérapies cellulaires et d'un entrainement physique vise à exploiter les effets synergiques de ces deux interventions afin d'optimiser les récupérations fonctionnelles chez les personnes atteintes de LME. Ainsi, dans les études présentées dans l'**Article III** et dans l'**Annexe 1**, nous avons évalué les récupérations sensorimotrices de rats soumis à une contusion médullaire thoracique sévère et traités avec l'une des deux thérapies cellulaires : l'injection sous-durale de FVS autologue ou le dépôt de GA au site lésionnel, utilisées seules, ou combinées avec un entrainement sur tapis roulant.

Les résultats des tests BBB et de l'échelle obtenus dans nos différentes études indiquent des récupérations sensorimotrices comparables entre les groupes FVS et NaCl des **Articles II** et **III**, et entre les groupes GA et NaCl de l'**Article I** et de l'**Annexe 1**. Ces observations soulignent une bonne reproductibilité et la fiabilité des résultats. De plus, l'**Article III** et l'**Annexe 1** mettent en évidence des récupérations sensorimotrices intra-groupes significativement supérieures entre la 1ère et la 12ème semaine suivant la lésion pour l'ensemble des groupes. Par ailleurs, les résultats de l'étude présentée dans l'**Article III** indiquent que les animaux greffés à la FVS et entrainés (FVS-T) présentaient des récupérations sensorimotrices significativement supérieures à celles des rats du groupe FVS, pour les tests du BBB et de

l'échelle. Nous avons déduit de ces observations que la combinaison d'une greffe de FVS et d'un entrainement physique pouvait renforcer les effets positifs de la FVS observés dans l'étude de l'**Article II**. En revanche, les résultats préliminaires de l'étude présentée dans l'**Annexe 1** n'ont révélé aucune différence dans les récupérations sensorimotrices entre le groupe GA et le groupe d'animaux greffés avec de la GA et entrainés (GA-T). Nous pouvons en déduire que la combinaison d'une greffe de GA et d'un entrainement physique ne permet pas de renforcer les effets positifs de la greffe de GA observés dans l'**Article I**.

Les recherches menées depuis de nombreuses années ont permis d'approfondir la compréhension des divers modes d'actions thérapeutiques de l'entrainement (voir section 2.2.9.2.3). Tout d'abord, au niveau local, l'entrainement induit une réorganisation neuronale, et intègre les circuits neuronaux régénérés en renforçant les connexions nouvellement formées avec celles des circuits épargnés sous la lésion, conduisant à des récupérations fonctionnelles accrues (Behrman & Harkema, 2007 ; Rossignol et al., 2015 ; T. Sun et al., 2013). Ensuite, au niveau cérébral, l'entrainement physique stimule l'activation et la réorganisation fonctionnelle du cortex moteur, entrainant une plasticité corticale. Ainsi, après une LME, l'entrainement physique semble faciliter le remodelage des cartes corticales en favorisant la germination des fibres corticospinales, pouvant contribuer à l'amélioration des récupérations fonctionnelles (Asboth et al., 2018 ; L.-W. He et al., 2023 ; Loy & Bareyre, 2019 ; Martinez et al., 2009 ; Nandakumar et al., 2023 ; Perez et al., 2004 ; Thomas & Gorassini, 2005). Dans les études présentées dans l'**Article III** et l'**Annexe 1**, les animaux des groupes entraînés ont commencé leur programme d'entrainement 14 jours après la lésion. On peut donc envisager que les mécanismes qui sous-tendent les récupérations observées au cours des deux premières semaines sont les mêmes chez les animaux greffés avec l'une des thérapies cellulaires, FVS ou GA, qu'ils aient été soumis à un entrainement ou non. Ensuite, nous pouvons supposer que les améliorations fonctionnelles observées dans le groupe FVS-T durant les 10 semaines suivantes, décrites dans l'**Article III**, étaient liées aux synergies d'actions des sous-populations cellulaires de la FVS proposées dans la section 6.2 de cette discussion de thèse, auxquelles s'ajouterait l'ensemble des effets bénéfiques de l'entrainement, à la fois au niveau local et périphérique.

Dans la section 6.2, nous avons avancé l'hypothèse selon laquelle la restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales chez les rats du groupe FVS était liée à une augmentation de la régénérescence locale des tissus et de la synaptogénèse, entraînant une amélioration des récupérations sensorimotrices. De plus, comme rapporté dans la section 2.2.9.2.1 de ce manuscrit de thèse, l'entrainement physique diminue la sécrétion locale des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6 et TNF-α et favorise la libération des cytokines anti-inflammatoires IL-4 et IL-10 (Walsh et al., 2023). Il permet également l'expression des facteurs de croissance BDNF et GDNF au niveau lésionnel, qui modulent les voies de signalisation PI3K/Akt/mTOR, PLCγ/PKC et Ras/Raf/ERK1/2, impliquées dans l'apoptose, et agissant sur la survie et la prolifération cellulaire (Keikhaei et al., 2023 ; Kiss Bimbova et al., 2022 ; Takahashi et al., 2023). De même, l'entrainement induit également une régulation positive du récepteur KCC2, limitant l'hyperexcitabilité des motoneurones et diminuant les phénomènes de spasticité et d'allodynie (Boulenguez et al., 2010 ; Cramer et al., 2008).

Ainsi, dans l'**Article III**, il est probable que l'entrainement, combiné aux effets bénéfiques des cellules de la FVS, ait contribué à réduire les processus apoptotiques et pro-inflammatoires, tout en favorisant la régénérescence axonale et la synaptogénèse au niveau local, par rapport à la greffe de FVS seule. De plus, en nous appuyant sur le postulat de Hebb qui met en évidence la plasticité dépendante de l'activité (Hebb, 1949), nous pouvons également envisager que l'entrainement aurait renforcé les connexions nouvellement formées localement ou épargnées, ce qui aurait contribué aux améliorations fonctionnelles observées chez le groupe FVS-T. Enfin, cet entrainement sur tapis roulant pourrait également avoir induit une réorganisation des cartes corticales motrices, expliquant ainsi davantage les améliorations fonctionnelles observées chez ces animaux. Par conséquent, il est possible que l'ajout de l'entrainement physique ait compensé l'effet tardif de la greffe de FVS que nous avons précédemment proposé (voir section 6.2.4).

L'absence de différence significative observée dans l'étude présentée dans l'**Annexe 1** entre le groupe GA et GA-T pourrait être attribuée à plusieurs facteurs. Tout d'abord, dans la section 6.2.2 de cette discussion, nous avons avancé l'hypothèse que la leptine, sécrétée par les adipocytes greffés, pourrait avoir induit une concentration élevée d'IL-1β, favorisant

ainsi la formation de la cicatrice gliale pendant la phase subaiguë de la lésion. Ce phénomène aurait pu entraver les processus de remodelage et de régénérescence du tissu, limitant ainsi les récupérations sensorimotrices. Par conséquent, dans l'étude présentée dans l'**Annexe 1**, nous pouvons suggérer que l'ajout de l'entrainement n'a probablement pas eu d'influence sur la réduction de la concentration d'IL-1β, ce qui n'aurait pas empêché la formation de la cicatrice gliale, limitant la régénérescence du tissu et altérant les récupérations sensorimotrices. D'autre part, nos résultats montrent une grande variabilité intra-groupe pour les animaux des groupes GA et GA-T. Comme mentionné dans la section 6.2.2 de cette discussion, il est probable que cet effet puisse être lié à la composition et à la qualité variables du TA, dépendantes de la période du cycle menstruel des différentes donneuses lors des prélèvements.

6.3.2 Restauration de l'intégrité fonctionnelle des voies spinales

Les résultats des enregistrements électrophysiologiques obtenus 12 semaines après la lésion dans nos différentes études, indiquent une dépression du reflexe H en fonction de l'augmentation de la fréquence de stimulation est comparable entre les groupes FVS et NaCl des études présentées dans les **Articles II** et **III**, et entre les groupes GA et NaCl des études présentées dans l'**Article I** et l'**Annexe 1**. Ces observations soulignent une nouvelle fois la fiabilité et la reproductibilité des résultats obtenus dans les groupes traités. De plus, dans les **Articles I** et **II**, l'évaluation de la dépression du réflexe H nous a permis de démontrer que les greffes de GA et de FVS étaient capables de restaurer la fonctionnalité de la boucle sensorimotrice intrasegmentaire, de manière similaire au groupe SHAM. Dans l'**Article III** et l'**Annexe 1**, nos résultats révèlent que les groupes traités avec les thérapies cellulaires et entrainés sur tapis roulant, c'est-à-dire FVS-T ou GA-T, montrent une diminution du ratio H_{max}/M_{max} similaire à celle des groupes FVS et GA respectivement. Cela suggère que l'entrainement n'apporte pas d'effet bénéfique supplémentaire sur la restauration de la boucle sensorimotrice, cette dernière ayant déjà été rétablie grâce à l'effet des greffes de GA ou de FVS seules. Il n'y a pas non plus d'effet délétère observé sur cette récupération fonctionnelle.

Par ailleurs, nos résultats ne révèlent aucune différence significative dans les ajustements ventilatoires en réponse à une fatigue musculaire électriquement induite entre les groupes GA et GA-T, comme exposé dans l'**Annexe 1**. De même, aucune différence n'est observée entre les groupes NaCl et NaCl-T. Dans la partie discussion de l'**Article III**, nous avions déjà remis en question la pertinence de l'utilisation de ce test activant les fonctions ventilatoires sur des animaux soumis à un entrainement. En effet, l'entrainement peut avoir un impact bénéfique sur la réduction des troubles ventilatoires liés à la LME, notamment en favorisant le remodelage des voies respiratoires, mais également en améliorant l'endurance ainsi que la force des muscles respiratoires sollicités tant pendant la course que lors de ce test (Lemos et al., 2020). Par conséquent, il est probable que l'entrainement puisse accroitre l'adaptation des capacités respiratoires, ce qui se traduirait par des variations de la ventilation moins prononcées en réponse à une fatigue musculaire électriquement induite, nécessitant ainsi moins d'ajustements (D. Tang et al., 2022).

6.3.3 Synthèse sur l'efficacité des thérapies cellulaires dérivées du tissu adipeux couplées à un entrainement physique sur les lésions de la moelle épinière

Les stratégies combinant un entrainement physique et la greffe de FVS ou de GA semblent avoir des effets distincts. D'une part, dans l'**Article III**, nous avons mis en évidence que la combinaison d'un entrainement avec la greffe de FVS autologue permet des récupérations sensorimotrices significativement supérieures à l'utilisation de la greffe de FVS seule. Nous avons suggéré que ces améliorations pouvaient résulter des effets bénéfiques combinés de la greffe et de l'entrainement, à travers une augmentation de la neuroprotection et de la régénérescence tissulaire fonctionnelle locale, ainsi qu'à la limitation des phénomènes de spasticité. De plus, ces améliorations pourraient également être liées à la capacité de l'entrainement à réorganiser les cartes motrices corticales. D'autre part, l'entrainement physique ne semble pas induire d'amélioration des récupérations fonctionnelles lorsqu'il est combiné à un traitement avec de la GA. Cet effet pourrait s'expliquer par la présence de la cicatrice gliale qui limiterait la réorganisation et la régénérescence des axones dans le tissu nerveux lésé. De plus, selon la

période du cycle menstruel pendant laquelle les donneuses se trouvaient lors des prélèvements graisseux, il est probable que la composition cellulaire et hormonale ait influencé la qualité de l'activation de la GA entre les différents prélèvements, entraînant d'importantes variations entre les animaux greffés du même groupe (Wyskida et al., 2017 ; Yeung et al., 2013). Cette variabilité inter-individuelle au sein des donneuses pourrait avoir masqué l'effet positif de la thérapie combinée.

7 Perspectives

7.1 Approfondissement des études précliniques

Dans cette section, nous présentons des pistes de réflexions assortis de plusieurs protocoles qui pourraient être mis en œuvre afin de vérifier les hypothèses mentionnées dans la précédente section, et comprendre les mécanismes neuroprotecteurs et neurorégénérateurs des différentes stratégies thérapeutiques utilisées, conduisant aux effets bénéfiques observés dans nos études.

Dans la section discussion de thèse, nous avons en effet souligné le potentiel neuroprotecteur des greffes de GA et de FVS à la suite d'une LME chez le rat. Cependant, les mécanismes sous-jacents à cette neuroprotection ne sont pas encore clairs. Des analyses supplémentaires seraient nécessaires afin de les élucider. Tout d'abord, dans la section 6.2.1 de cette discussion, nous avons mis en avant l'importance de mesurer la concentration des diverses cytokines pro- et anti-inflammatoires à leur pic d'expression afin d'identifier les mécanismes impliqués dans la régulation de la réponse inflammatoire, ainsi que leur chronologie d'action, induits par chacune des deux thérapies cellulaires. De plus, afin de vérifier nos hypothèses concernant l'influence différentielle des greffes de GA et de FVS sur la formation de la cicatrice gliale, la quantification de cette cicatrice par un marquage à la GFAP sur coupes histologiques lors de la 12ème semaine après la lésion serait nécessaire. Par ailleurs, une coloration histologique de la moelle épinière à l'éosine et à l'hématoxyline 12 semaines après la lésion permettrait également de mesurer le volume lésionnel ainsi que l'épargne tissulaire des substances grise et blanche, renseignant ainsi sur la capacité de ces deux thérapies à préserver le tissu lésé. Nous avons également suggéré que cette préservation tissulaire pourrait être liée à une réduction de la formation d'œdème dans les premières heures suivant la lésion. Ainsi, une mesure de l'œdème dans les premières heures après la LME comme cela a déjà été proposé précédemment (Seblani et al., 2024), serait utile pour vérifier notre hypothèse.

Ensuite, des analyses histologiques pourraient nous renseigner sur les mécanismes neuro-régénérateurs potentiellement associés aux récupérations fonctionnelles observées mis en jeu par ces deux thérapies cellulaires combinées ou non à un entrainement physique sur tapis roulant. Tout d'abord, il serait intéressant de vérifier si les cellules greffées agissent préférentiellement à distance ou si elles sont capables de migrer vers le site lésé. Pour cela, un marquage des cellules greffées permettrait de suivre leur évolution au sein du tissu. Dans leur étude, Takahashi et al. ont réalisé un marquage au PKH26, utilisé pour un traçage cellulaire *in vivo* à long terme. Ils ont pu constater que les CSA greffées au site de la lésion après une contusion thoracique sévère de la moelle épinière chez le rat étaient capables de migrer dans le tissu lésé et de s'étendre dans les régions cranio-caudales de la lésion (Takahashi et al., 2023). Le PKH26 est spécifique d'une grande variété cellulaire, telles que les cellules souches, les cellules stromales ou encore les cellules immunitaires. De plus, le protocole de marquage au PKH26 nécessite une période d'incubation de seulement 5 min pour marquer un grand nombre de cellules, qui conservent leur marquage durant une centaine de jours. Dans nos études, l'utilisation de ce marqueur serait idéale et permettrait un suivi à long terme de l'évolution des cellules des issues des greffes de GA et de FVS au sein du tissu médullaire, tout en respectant la fenêtre d'intervention thérapeutique choisie, correspondant aux quatre premières heures après la lésion. Ce marquage nous permettrait également de conserver le caractère autologue de la greffe de FVS.

Par ailleurs, il serait également intéressant d'explorer la capacité de neurogénèse de nos deux traitements, qui pourrait fortement influencer la régénérescence du tissu lésé. La bromodeoxyuridine (BrdU) est marqueur de prolifération cellulaire, et l'anticorps contre la tubuline bêta III (TuJ1) marque spécifiquement les neurones immatures (Memberg & Hall, 1995). Ainsi, un co-marquage BrdU/TuJ1 permettrait de quantifier des neurones résidents épargnés en différentiation. De plus, un co-marquage BrdU/TuJ1/PKH26 nous renseignerait sur la capacité des cellules greffées à se différentier en cellules neurales. Dans les sections 6.2.1 et 6.3.1 de la section discussion de ce manuscrit, nous avons suggéré que les récupérations fonctionnelles puissent être également liées à la capacité des greffes de GA et FVS et de l'entrainement à activer les processus de remodelage et de régénérescence des fibres épargnées,

et ainsi favoriser la synaptogénèse. Nous avons également suggéré que ces phénomènes pouvaient être associés à une néoangiogénèse dans le tissu lésé. Afin de vérifier ces hypothèses, un marquage préalable des fibres nerveuses pourrait être réalisé pour évaluer leur régénérescence après la lésion par l'injection intraspinale d'un adénovirus atténué couplé à la protéine dextran amine biontinylée (BDA) comme proposé précédemment (M. A. Anderson et al., 2018). De plus, un co-marquage synaptophysine/homer, correspondant respectivement à des marqueurs pré- et post-synaptiques, nous renseignerait à la fois sur le potentiel de synaptogénèse de nos thérapies cellulaires, mais nous permettrait également de savoir si les axones régénérés sont capables de s'intégrer dans les circuits neuronaux épargnés sous la lésion (M. A. Anderson et al., 2018). Par ailleurs, les protéines associées à la myéline, telles que Nogo, la glycoprotéine associée à la myéline (MAG) et la protéine associée à la myéline des oligodendrocytes (OMgp), ont été identifiées comme des facteurs influençant la régénérescence axonale (Geoffroy, 2011). Ainsi, il serait judicieux d'évaluer la remyélinisation des fibres dans le tissu lésé en effectuant un marquage de ces protéines pour mieux comprendre leur rôle dans les processus de régénérescence. Enfin, l'utilisation du marqueur CD31 permettrait d'évaluer la capacité angiogénique des greffes de FVS et GA, essentielle à la réparation du tissu lésé.

Comme nous l'avons évoqué dans la section 6.2.4 de ce manuscrit, l'inclusion des cellules de la FVS dans un hydrogel permettrait la stabilisation et la diffusion de ces cellules et de leurs facteurs dans le milieu lésé. De plus, afin de tester si le mode d'action des deux thérapies cellulaires est principalement médié par leur effet exocrine, des injections du sécrétome des cellules de la GA et de FVS, mises en culture, pourraient être réalisées. Enfin, une analyse du protéome de ces cellules permettrait d'identifier les changements d'expression protéique qui s'opèrent au sein des cellules après avoir été greffées.

7.2 Vers une application clinique

Nos méthodologies expérimentales ont été élaborées et mise en œuvre en tenant compte de leur applicabilité potentielle et transférabilité en clinique humaine. Nous avons privilégié l'utilisation d'un modèle de contusion, ce dernier étant l'un des types de LME les plus fréquemment rencontrés en clinique (Ju et al., 2014). De plus, nous avons également défini une fenêtre thérapeutique de quatre heures après la lésion pour greffer les cellules, sachant qu'une intervention précoce est associée à de meilleurs résultats fonctionnels (Fehlings et al., 2022). Le choix du rat comme modèle expérimental s'est également appuyé sur la similitude de sa physiopathologie de la lésion médullaire avec celle observée chez l'Homme (Hardin-Pouzet & Morosan, 2019 ; Kjell & Olson, 2016 ; Tator, 1995). Dans les études des **Articles II** et **III**, nous avons privilégié une approche autologue afin de limiter les risques de rejet chez l'Homme. De plus, l'utilisation de TA humain dans l'**Article I** et l'**Annexe 1** a également permis d'évaluer l'innocuité et la faisabilité de son administration *in vivo*, en vue d'une éventuelle translation clinique. L'intérêt des deux thérapies utilisées réside également dans la possibilité d'isoler les cellules en quelques heures, sans recourir à une étape de culture, ce qui permet une application thérapeutique rapide (Carelli et al., 2015, 2018 ; Solodeev et al., 2023). De plus, tous les dispositifs, tels que les canules de liposuccion et les fils de suture, ainsi que les réactifs utilisés dans nos protocoles, tels que le NaCl, le Ringer Lactate, les antalgiques et antibiotiques sont dotés d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), garantissant ainsi leur compatibilité avec une utilisation chez l'Homme.

Nos conclusions suggèrent que la thérapie cellulaire basée sur la greffe autologue de FVS pourrait offrir une approche plus prometteuse pour une application chez l'Homme que la greffe de GA. En effet, la variabilité importante observée au sein des groupes greffés avec de la GA souligne la nécessité d'une compréhension approfondie des mécanismes d'activation du TA avant toute utilisation potentielle chez l'Homme pour le traitement des LME. De plus, les résultats des tests comportementaux montrent que la greffe de FVS semble favoriser davantage les récupérations sensorimotrices que la greffe de GA, notamment lorsqu'elle est associée à un entrainement sur tapis roulant. Par ailleurs, plusieurs études cliniques ont déjà attesté de

l'innocuité et de la sécurité de l'injection autologue de FVS (M. H. Carstens et al., 2020 ; Ferreira et al., 2023 ; Guillaume-Jugnot et al., 2016 ; Mattei et al., 2018 ; Onoi et al., 2023), et un essai clinique en cours en Chine vise à évaluer ces aspects après une LME, offrant ainsi une perspective supplémentaire quant à son utilisation clinique potentielle (clinicaltrial.gov, NCT05967325).

En France, conformément aux directives de l'*Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé* (ANSM), les thérapies utilisant des tissus biologiques doivent être évaluées sur au moins deux espèces animales, dont le rongeur, avant toute autorisation d'essai clinique. Cette démarche vise à évaluer la toxicité potentielle du traitement et permet d'estimer la dose à administrer chez l'Homme, à partir de la dose sans effet toxique chez l'animal convertie en équivalent-Homme. Actuellement, une étude préclinique est en cours au *Centre d'Enseignement et de Recherche Chirurgical* (CERC) de la faculté de médecine-nord de Marseille, visant à évaluer l'efficacité thérapeutique de l'autogreffe de FVS sur les récupérations sensorimotrices après une contusion thoracique de la moelle épinière chez le porcelet, dans le but d'une éventuelle application clinique future.

La neuroréhabilitation à la suite d'une LME chez l'Homme est essentielle pour favoriser les récupérations fonctionnelles et améliorer la qualité de vie des patients. Étant donné la diversité des lésions et des déficits neurologiques observés chez chaque individu, une approche personnalisée de prise en charge est cruciale. En plus des exercices de marche, les programmes de réhabilitation doivent s'inscrire dans une démarche pluridisciplinaire, intégrant diverses modalités telles que la kinésithérapie, l'ergothérapie et l'activité physique adaptée, en fonction des capacités et des préférences de chaque patient. Cette approche multiple et complémentaire de la réadaptation vise à maximiser les bienfaits de la neuroréhabilitation tout en tenant compte des aspects physiques, cognitifs, émotionnels et sociaux propres à chaque individu, dans le but ultime de favoriser leur réinsertion sociale et d'améliorer leur qualité de vie après une LME.

8 Conclusion

Malgré les efforts de recherche considérables déployés au fil des années dans le domaine des LME, aucune stratégie thérapeutique n'a encore atteint une efficacité satisfaisante. Toutefois, cette thèse a mis en évidence le potentiel prometteur des thérapies cellulaires basées sur l'utilisation du TA dans l'amélioration de la restauration des fonctions sensorimotrices à la suite d'une LME. De plus, nos résultats ont souligné l'intérêt thérapeutique d'une approche combinant ces thérapies cellulaires avec des protocoles de neuroréhabilitation basés sur de la marche/course sur tapis roulant. Ainsi, il est envisageable que l'utilisation clinique d'une stratégie thérapeutique combinant la thérapie cellulaire basée sur le TA avec un programme de neuroréhabilitation, puisse significativement améliorer les récupérations sensorimotrices des personnes atteintes de traumatismes médullaires, offrant ainsi une perspective d'amélioration notable de leur qualité de vie. Cependant, nos résultats soulignent également la complexité des mécanismes sous-jacents aux améliorations fonctionnelles observées. Il serait donc essentiel d'approfondir notre compréhension de ces mécanismes afin d'optimiser le potentiel thérapeutique de ces thérapies cellulaires basées sur l'utilisation du TA.

Annexe 1

Étude de l'efficacité thérapeutique sur les récupérations sensorimotrices de la combinaison d'une greffe de tissu adipeux humain mécaniquement activé et d'un entrainement sur tapis roulant après une contusion aigüe de la moelle épinière chez le rat.

Matériel et méthode

Groupes

1. NaCl (n=6), rats ayant subi une contusion médullaire sévère au niveau T_{10} à S0, suivie d'une administration immédiate de NaCl au site lésé.
2. NaCl-T (n=6), rats ayant subi une contusion médullaire sévère au niveau T_{10} à S0, suivie d'une administration immédiate de NaCl au site lésé. Ces animaux ont ensuite été soumis à un protocole d'entraînement quotidien sur tapis roulant (T) pendant 10 semaines, de S2 à S12.
3. GA (n=6), rats ayant subi une contusion médullaire sévère au niveau T_{10} à S0, suivie d'un dépôt de GA humain sur la dure-mère au niveau de la lésion.
4. GA-T (n=6), rats ayant subi une contusion médullaire sévère au niveau T_{10} à S0, suivie d'un dépôt de GA humain sur la dure-mère au niveau de la lésion. Ces animaux ont ensuite été soumis à un protocole d'entraînement quotidien sur tapis roulant pendant 10 semaines, de S2 à S12. Chronologie Expérimentale (voir Figure 1)

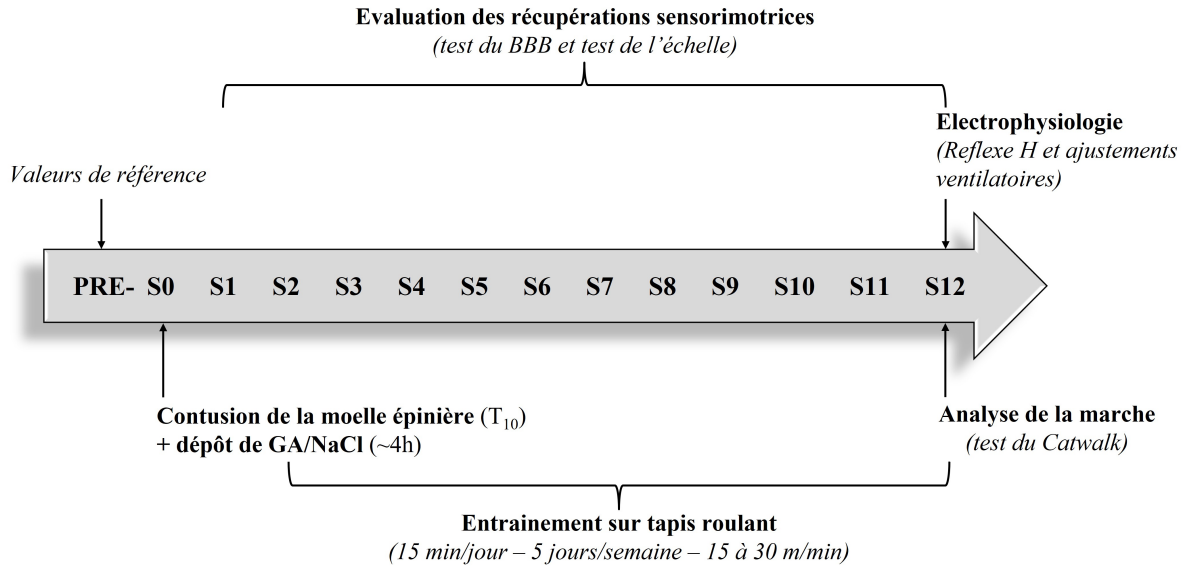


FIGURE 1 – **Chronologie expérimentale.**

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant les logiciels SigmaStat-SigmaPlot 14.0 pour les calculs statistiques (SigmaStat®, San Jose, CA, USA) et GraphPad Prism 8.0.2 pour la création des graphiques (GraphPad Prism Software Inc., San Diego, CA, USA). Pour les expériences à deux voies (facteur groupes $\times$ facteur temps ou fréquence de stimulation), nous avons appliqué le test non paramétrique de Scheirer-Ray-Hare, suivi d'un test de Dunn, pour comparer les scores comportementaux entre tous les groupes et à différents moments, ainsi que les rapports H_{max}/M_{max} et les Δcycles/min entre tous les groupes. Les données ont été présentées en médiane $\pm$ SD et les différences ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0{,}05$.

Résultats

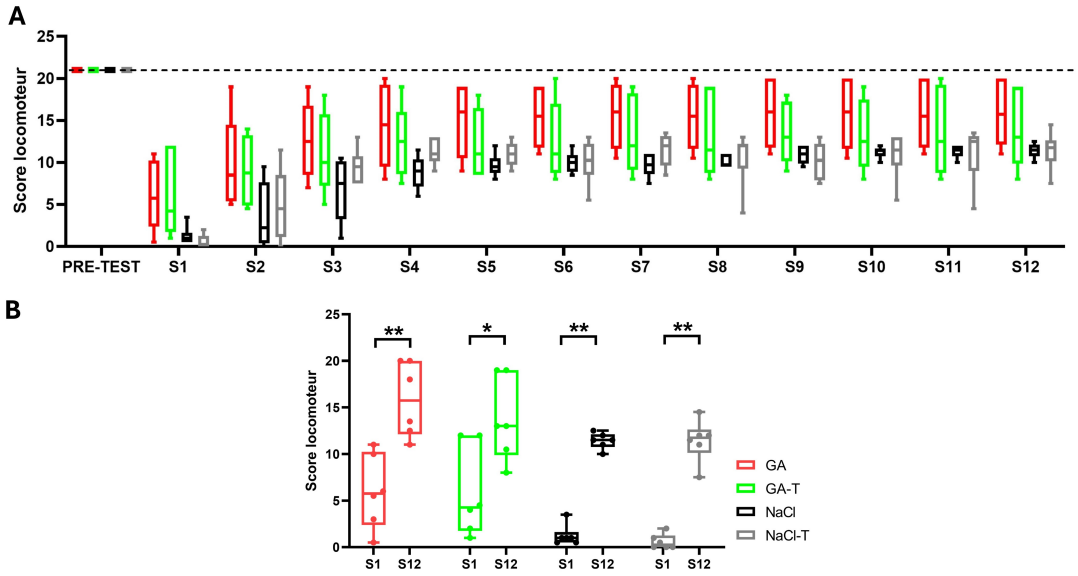


FIGURE 2 – **Test du BBB. A) Évaluation du score locomoteur des rats lésés.** Après la contusion médullaire, le score locomoteur de chaque groupe a chuté de manière significative, puis une lente récupération a été observée jusqu'à S12. Aucune différence significative du score locomoteur n'a été trouvé entre les groupes durant les 12 semaines de suivi. **B) Comparaison intra-groupe du score locomoteur des rats lésés entre S1 et S12.** Chaque groupe a montré une amélioration significative du score locomoteur entre S1 et S12. *Les différences significatives sont représentées par * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$). $n = 6$ par groupe.*

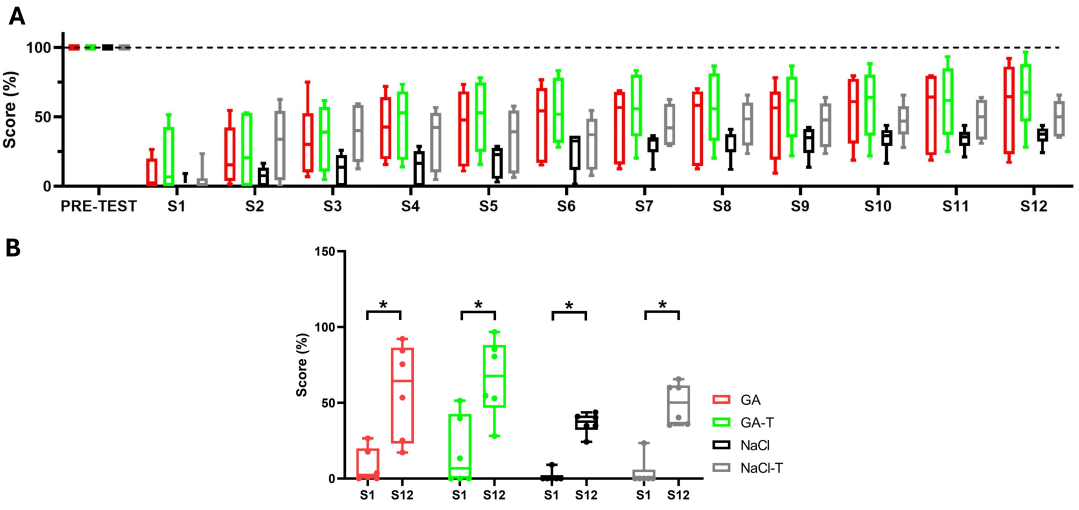


FIGURE 3 – **Test de l'échelle. A) Évaluation du score sensorimoteur de montée d'échelle des rats lésés.** Après la contusion médullaire, le score sensorimoteur de montée d'échelle de chaque groupe a chuté de manière significative, puis une lente récupération a été observée jusqu'à S12. Aucune différence significative du score sensorimoteur n'a été trouvé entre les groupes durant les 12 semaines de suivi. **B) Comparaison intra-groupe du score sensorimoteur de montée d'échelle des rats lésés entre S1 et S12.** Chaque groupe a montré une amélioration significative du score sensorimoteur entre S1 et S12. *Les différences significatives sont représentées par * ($p < 0,05$). $n = 6$ par groupe.*

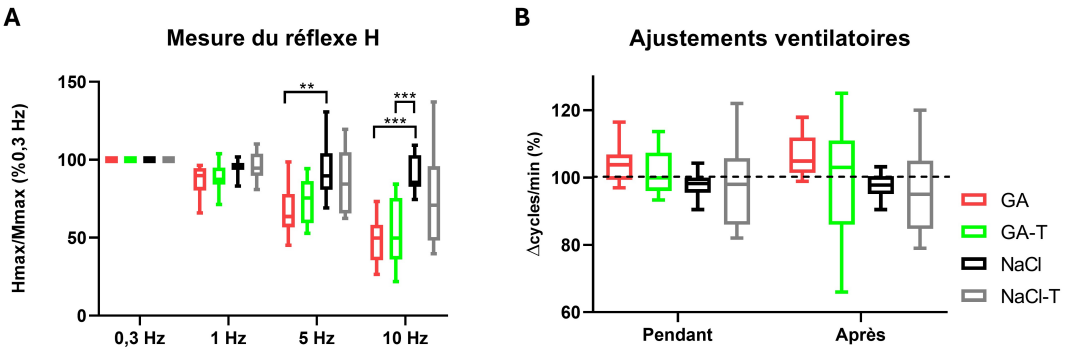


FIGURE 4 – **Enregistrements électrophysiologiques. A) Mesure du réflexe H.** Le rapport H_{max}/M_{max} du groupe GA mesuré à S12 est significativement inférieur à celui du groupe NaCl pour les fréquences de stimulation de 5 et 10Hz. A 10 Hz, le groupe GA-T montre un rapport H_{max}/M_{max} significativement inférieur à celui du groupe NaCl. Aucune différence n'a été trouvé entre les groupes GA et GA-T, et entre les groupes NaCl et NaCl-T. **B) Mesure des ajustements ventilatoires en réponse à une fatigue musculaire électriquement induite de 3 minutes.** Aucune différence significative des ajustements ventilatoires n'a été trouvé entre les groupes à S12. *Pour une fréquence donnée, une différence significative dans le rapport H_{max}/M_{max} est indiquée par * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,01$). $n = 6$ par groupe.*

Bibliographie

AbuHasan, Q., & Munakomi, S. (2024). Neuroanatomy, Pyramidal Tract. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 21, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545314/

Adler, D., Gonzalez-Bermejo, J., Duguet, A., Demoule, A., Le Pimpec-Barthes, F., Hurbault, A., Morélot-Panzini, C., & Similowski, T. (2009). Diaphragm pacing restores olfaction in tetraplegia. *The European Respiratory Journal*, *34*(2), 365-370. https://doi.org/10.1183/09031936.00177708

Ahima, R. S. (2006). Adipose Tissue as an Endocrine Organ [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1038/oby.2006.317]. *Obesity*, *14*(S8), 242S-249S. https://doi.org/10.1038/oby.2006.317

Ahuja, C. S., & Fehlings, M. (2016). Concise Review : Bridging the Gap : Novel Neuroregenerative and Neuroprotective Strategies in Spinal Cord Injury. *Stem Cells Translational Medicine*, *5*(7), 914-924. https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0381

Ahuja, C. S., Nori, S., Tetreault, L., Wilson, J., Kwon, B., Harrop, J., Choi, D., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic Spinal Cord Injury—Repair and Regeneration. *Neurosurgery*, *80*(3S), S9-S22. https://doi.org/10.1093/neuros/nyw080

Ahuja, C. S., Wilson, J. R., Nori, S., Kotter, M. R. N., Druschel, C., Curt, A., & Fehlings, M. G. (2017). Traumatic spinal cord injury [Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature Reviews Disease Primers*, *3*(1), 1-21. https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.18

Akdemir, E. S., Huang, A. Y.-S., & Deneen, B. (2020). Astrocytogenesis : where, when, and how. *F1000Research*, *9*, F1000 Faculty Rev-233. https://doi.org/10.12688/f1000research.22405.1

Alajam, R., Alqahtani, A. S., & Liu, W. (2019). Effect of Body Weight–Supported Treadmill Training on Cardiovascular and Pulmonary Function in People With Spinal Cord Injury : A Systematic Review. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, *25*(4), 355-369. https://doi.org/10.1310/sci2504-355

Al-Chalabi, M., Reddy, V., & Alsalman, I. (2024). Neuroanatomy, Posterior Column (Dorsal Column). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée avril 20, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507888/

Al-Chalabi, M., Reddy, V., & Gupta, S. (2024). Neuroanatomy, Spinothalamic Tract. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée avril 20, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507824/

Alexander, R. W. (2012). Understanding Adipose-derived Stromal Vascular Fraction (ADSVF) Cell Biology and Use on the Basis of Cellular, Chemical, Structural and Paracrine Components : A Concise Review.

Alizadeh, A., Dyck, S. M., & Karimi-Abdolrezaee, S. (2019). Traumatic Spinal Cord Injury : An Overview of Pathophysiology, Models and Acute Injury Mechanisms. *Frontiers in Neurology*, *10*, 282. https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00282

Al-Kharboosh, R., Perera, J. J., Bechtle, A., Bu, G., & Quinones-Hinojosa, A. (2022). Emerging point-of-care autologous cellular therapy using adipose-derived stromal vascular fraction for neurodegenerative diseases. *Clinical and Translational Medicine*, *12*(12), e1093. https://doi.org/10.1002/ctm2.1093

Al-kharboosh, R., Perera, J. J., Bechtle, A., Bu, G., & Quinones-Hinojosa, A. (2022). Emerging point-of-care autologous cellular therapy using adipose-derived stromal vascular fraction for neurodegenerative diseases. *Clinical and Translational Medicine*, *12*(12), e1093. https://doi.org/10.1002/ctm2.1093

Allen, A. R. (1911). SURGERY OF EXPERIMENTAL LESION OF SPINAL CORD EQUIVALENT TO CRUSH INJURY OF FRACTURE DISLOCATION OF SPINAL COLUMN : A PRELIMINARY REPORT. *Journal of the American Medical Association*, *57*(11), 878. https://doi.org/10.1001/jama.1911.04260090100008

Alluin, O., Karimi-Abdolrezaee, S., Delivet-Mongrain, H., Leblond, H., Fehlings, M., & Rossignol, S. (2011). Kinematic Study of Locomotor Recovery after Spinal Cord Clip Compression Injury in Rats. *Journal of neurotrauma*, *28*, 1963-81. https://doi.org/10.1089/neu.2011.1840

Almad, A., Sahinkaya, F. R., & McTigue, D. M. (2011). Oligodendrocyte Fate after Spinal Cord Injury. *Neurotherapeutics*, *8*(2), 262-273. https://doi.org/10.1007/s13311-011-0033-5

Amann, M., Sidhu, S. K., McNeil, C. J., & Gandevia, S. C. (2022). Critical considerations of the contribution of the corticomotoneuronal pathway to central fatigue. *The Journal of Physiology*, *600*(24), 5203-5214. https://doi.org/10.1113/JP282564

Anderson, K. D., Guest, J. D., Dietrich, W. D., Bartlett Bunge, M., Curiel, R., Dididze, M., Green, B. A., Khan, A., Pearse, D. D., Saraf-Lavi, E., Widerström-Noga, E., Wood, P., & Levi, A. D. (2017). Safety of Autologous Human Schwann Cell Transplantation in Subacute Thoracic Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *34*(21), 2950-2963. https://doi.org/10.1089/neu.2016.4895

Anderson, M. A., Burda, J. E., Ren, Y., Ao, Y., O'Shea, T. M., Kawaguchi, R., Coppola, G., Khakh, B. S., Deming, T. J., & Sofroniew, M. V. (2016). Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. *Nature*, *532*(7598), 195-200. https://doi.org/10.1038/nature17623

Anderson, M. A., O'Shea, T. M., Burda, J. E., Ao, Y., Barlatey, S. L., Bernstein, A. M., Kim, J. H., James, N. D., Rogers, A., Kato, B., Wollenberg, A. L.,

Kawaguchi, R., Coppola, G., Wang, C., Deming, T. J., He, Z., Courtine, G., & Sofroniew, M. V. (2018). Required growth facilitators propel axon regeneration across complete spinal cord injury. *Nature*, *561*(7723), 396-400. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0467-6

Anjum, A., Yazid, M. D., Fauzi Daud, M., Idris, J., Ng, A. M. H., Selvi Naicker, A., Ismail, O. H. R., Athi Kumar, R. K., & Lokanathan, Y. (2020). Spinal Cord Injury : Pathophysiology, Multimolecular Interactions, and Underlying Recovery Mechanisms [Number : 20 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(20), 7533. https://doi.org/10.3390/ijms21207533

Antila, S., Karaman, S., Nurmi, H., Airavaara, M., Voutilainen, M. H., Mathivet, T., Chilov, D., Li, Z., Koppinen, T., Park, J.-H., Fang, S., Aspelund, A., Saarma, M., Eichmann, A., Thomas, J.-L., & Alitalo, K. (2017). Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels. *The Journal of Experimental Medicine*, *214*(12), 3645-3667. https://doi.org/10.1084/jem.20170391

Anwer, S., Equebal, A., Palekar, T. J., Nezamuddin, M., Neyaz, O., & Alghadir, A. (2014). Effect of Locomotor Training on Motor Recovery and Walking Ability in Patients with Incomplete Spinal Cord Injury : A Case Series. *Journal of Physical Therapy Science*, *26*(6), 951-953. https://doi.org/10.1589/jpts.26.951

Aras, Y., Sabanci, P. A., Kabatas, S., Duruksu, G., Subasi, C., Erguven, M., & Karaoz, E. (2015). The effects of adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation during the acute and subacute phases following spinal cord injury. *Turkish Neurosurgery*. https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.15724-15.0

Aronowitz, J. A., Lockhart, R. A., & Hakakian, C. S. (2015). Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue. *SpringerPlus*, *4*(1), 713. https://doi.org/10.1186/s40064-015-1509-2

Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A., Silver, M., van der Zee, R., Li, T., Witzenbichler, B., Schatteman, G., & Isner, J. M. (1997). Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis [Publisher : American Association for the Advancement of Science]. *Science*, *275*(5302), 964-966. https://doi.org/10.1126/science.275.5302.964

Asboth, L., Friedli, L., Beauparlant, J., Martinez-Gonzalez, C., Anil, S., Rey, E., Baud, L., Pidpruzhnykova, G., Anderson, M. A., Shkorbatova, P., Batti, L., Pagès, S., Kreider, J., Schneider, B. L., Barraud, Q., & Courtine, G. (2018). Cortico-reticulo-spinal circuit reorganization enables functional recovery after severe spinal cord contusion. *Nature Neuroscience*, *21*(4), 576-588. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0093-5

Assunção-Silva, R. C., Mendes-Pinheiro, B., Patrício, P., Behie, L. A., Teixeira, F. G., Pinto, L., & Salgado, A. J. (2018). Exploiting the impact of the secretome

of MSCs isolated from different tissue sources on neuronal differentiation and axonal growth. *Biochimie*, *155*, 83-91. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.07.026

Atalay, S., Coruh, A., & Deniz, K. (2014). Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. *Burns*, *40*(7), 1375-1383. https://doi.org/10.1016/j.burns.2014.01.023

Atkinson, E., & Dickman, R. (2023). Growth factors and their peptide mimetics for treatment of traumatic brain injury. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *90*, 117368. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2023.117368

Aubertin, K., Piffoux, M., Sebbagh, A., Gauthier, J., Silva, A. K. A., & Gazeau, F. (2021). Applications thérapeutiques des vésicules extracellulaires [Number : 12 Publisher : EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *37*(12), 1146-1157. https://doi.org/10.1051/medsci/2021207

Audinat, É., & Arnoux, I. (2014). La microglie : des cellules immunitaires qui sculptent et contrôlent les synapses neuronales [Number : 02 Publisher : Éditions EDK, Groupe EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *30*(02), 153-159. https://doi.org/10.1051/medsci/20143002012

Babaei, H., Kheirollah, A., Ranjbaran, M., Sarkaki, A., & Adelipour, M. (2023). Dose-dependent neuroprotective effects of adipose-derived mesenchymal stem cells on amyloid -induced Alzheimer's disease in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *678*, 62-67. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.08.041

Ballermann, M., & Fouad, K. (2006). Spontaneous locomotor recovery in spinal cord injured rats is accompanied by anatomical plasticity of reticulospinal fibers. *European Journal of Neuroscience*, *23*(8), 1988-1996. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04726.x

Barbiellini Amidei, C., Salmaso, L., Bellio, S., & Saia, M. (2022). Epidemiology of traumatic spinal cord injury : a large population-based study [Number : 9 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *60*(9), 812-819. https://doi.org/10.1038/s41393-022-00795-w

Barrière, G., Leblond, H., Provencher, J., & Rossignol, S. (2008). Prominent Role of the Spinal Central Pattern Generator in the Recovery of Locomotion after Partial Spinal Cord Injuries. *The Journal of Neuroscience*, *28*(15), 3976-3987. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5692-07.2008

Bartanusz, V., Jezova, D., Alajajian, B., & Digicaylioglu, M. (2011). The blood–spinal cord barrier : Morphology and Clinical Implications [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ana.22421]. *Annals of Neurology*, *70*(2), 194-206. https://doi.org/10.1002/ana.22421

Basso, D. M., Beattie, M. S., & Bresnahan, J. C. (1995). A Sensitive and Reliable Locomotor Rating Scale for Open Field Testing in Rats. *Journal of Neurotrauma*, *12*(1), 1-21. https://doi.org/10.1089/neu.1995.12.1

Battistuzzo, C. R., Callister, R. J., Callister, R., & Galea, M. P. (2012). A Systematic Review of Exercise Training To Promote Locomotor Recovery in Animal Models of Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *29*(8), 1600-1613. https://doi.org/10.1089/neu.2011.2199

Behrman, A. L., Ardolino, E. M., & Harkema, S. J. (2017). Activity-based Therapy : From Basic Science to Clinical Application for Recovery after Spinal Cord Injury. *Journal of neurologic physical therapy : JNPT*, *41*(Suppl 3 IV STEP Spec Iss), S39-S45. https://doi.org/10.1097/NPT.0000000000000184

Behrman, A. L., & Harkema, S. J. (2007). Physical Rehabilitation as an Agent for Recovery After Spinal Cord Injury. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, *18*(2), 183-202. https://doi.org/10.1016/j.pmr.2007.02.002

Behrouzifar, S., Vakili, A., Bandegi, A. R., & Kokhaei, P. (2018). Neuroprotective nature of adipokine resistin in the early stages of focal cerebral ischemia in a stroke mouse model. *Neurochemistry International*, *114*, 99-107. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.02.001

Bellák, T., Fekécs, Z., Török, D., Táncos, Z., Nemes, C., Tézsla, Z., Gál, L., Polgári, S., Kobolák, J., Dinnyés, A., Nógrádi, A., & Pajer, K. (2020). Grafted human induced pluripotent stem cells improve the outcome of spinal cord injury : modulation of the lesion microenvironment. *Scientific Reports*, *10*, 22414. https://doi.org/10.1038/s41598-020-79846-2

Bennett, D. J., Li, Y., Harvey, P. J., & Gorassini, M. (2001). Evidence for plateau potentials in tail motoneurons of awake chronic spinal rats with spasticity. *Journal of Neurophysiology*, *86*(4), 1972-1982. https://doi.org/10.1152/jn.2001.86.4.1972

Bergmann, P. J., Melin, A. D., & Russell, A. P. (2006). Differential segmental growth of the vertebral column of the rat (*Rattus norvegicus*). *Zoology*, *109*(1), 54-65. https://doi.org/10.1016/j.zool.2005.09.009

Berman, S., Uhlendorf, T. L., Berman, M., & Lander, E. B. (2018). Effective Treatment of Traumatic Brain Injury in Rowett Nude Rats with Stromal Vascular Fraction Transplantation [Number : 6 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *Brain Sciences*, *8*(6), 112. https://doi.org/10.3390/brainsci8060112

Bernasconi, R., & Nyström, A. (2018). Balance and circumstance : The renin angiotensin system in wound healing and fibrosis. *Cellular Signalling*, *51*, 34-46. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.07.011

Bernecker, C., Scherr, J., Schinner, S., Braun, S., Scherbaum, W. A., & Halle, M. (2013). Evidence for an exercise induced increase of TNF- and IL-6 in marathon runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *23*(2), 207-214. https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2011.01372.x

Bertrand, S., & Cazalets, J.-R. (2002). The respective contribution of lumbar segments to the generation of locomotion in the isolated spinal cord of newborn rat [_eprint :

https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1460-9568.2002.02233.x]. *European Journal of Neuroscience*, *16*(9), 1741-1750. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02233.x

Bhardwaj, N., & Yadala, S. (2024). Neuroanatomy, Corticobulbar Tract. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 21, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555891/

Bianco, J., Gueye, Y., Marqueste, T., Alluin, O., Risso, J.-J., Garcia, S., Lavault, M.-N., Khrestchatisky, M., Feron, F., & Decherchi, P. (2011). Vitamin D improves respiratory adjustment to fatigue and H-reflex responses in paraplegic adult rats. *Neuroscience*, *188*, 182-192. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.04.066

Bican, O., Minagar, A., & Pruitt, A. A. (2013). The Spinal Cord. *Neurologic Clinics*, *31*(1), 1-18. https://doi.org/10.1016/j.ncl.2012.09.009

Biering-Sørensen, F., Biering-Sørensen, T., Liu, N., Malmqvist, L., Wecht, J. M., & Krassioukov, A. (2018). Alterations in cardiac autonomic control in spinal cord injury. *Autonomic Neuroscience*, *209*, 4-18. https://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.02.004

Bilalova, A., Tutova, O., Mukhamedshina, Y., & Rizvanov, A. (2024). Astrocytes in Spinal Cord Injury : Current Opportunities and Prospects for Directional Polarization [Number : 3 Publisher : IMR Press]. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, *29*(3), 94. https://doi.org/10.31083/j.fbl2903094

Bilchak, J. N., Caron, G., & Côté, M.-P. (2021). Exercise-Induced Plasticity in Signaling Pathways Involved in Motor Recovery after Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4858. https://doi.org/10.3390/ijms22094858

Blaber, S. P., Webster, R. A., Hill, C. J., Breen, E. J., Kuah, D., Vesey, G., & Herbert, B. R. (2012). Analysis of in vitro secretion profiles from adipose-derived cell populations. *Journal of Translational Medicine*, *10*, 172. https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-172

Bloemer, J., Pinky, P. D., Govindarajulu, M., Hong, H., Judd, R., Amin, R. H., Moore, T., Dhanasekaran, M., Reed, M. N., & Suppiramaniam, V. (2018). Role of Adiponectin in Central Nervous System Disorders. *Neural Plasticity*, *2018*, 1-15. https://doi.org/10.1155/2018/4593530

Bompais, H., Chagraoui, J., Canron, X., Crisan, M., Liu, X. H., Anjo, A., Tolla-Le Port, C., Leboeuf, M., Charbord, P., Bikfalvi, A., & Uzan, G. (2004). Human endothelial cells derived from circulating progenitors display specific functional properties compared with mature vessel wall endothelial cells. *Blood*, *103*(7), 2577-2584. https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2770

Bonnet, M., Alluin, O., Trimaille, T., Gigmes, D., Marqueste, T., & Decherchi, P. (2020). Delayed Injection of a Physically Cross-Linked PNIPAAm- *g* -PEG Hydrogel

in Rat Contused Spinal Cord Improves Functional Recovery. *ACS Omega*, *5*(18), 10247-10259. https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03611

Bonnet, M., Trimaille, T., Brezun, J.-M., Feron, F., Gigmes, D., Marqueste, T., & Decherchi, P. (2020). Motor and sensitive recovery after injection of a physically cross-linked PNIPAAm-g-PEG hydrogel in rat hemisectioned spinal cord. *Materials Science and Engineering : C*, *107*, 110354. https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110354

Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J., & Foster, M. T. (2016). Adipose tissue : an endocrine organ playing a role in metabolic regulation [Publisher : De Gruyter]. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, *26*(1), 25-42. https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0073

Bora, P., & Majumdar, A. S. (2017). Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine : a brief review on biology and translation. *Stem Cell Research & Therapy*, *8*(1), 145. https://doi.org/10.1186/s13287-017-0598-y

Börgeson, E., Boucher, J., & Hagberg, C. E. (2022). Of mice and men : Pinpointing species differences in adipose tissue biology. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*. Récupérée février 29, 2024, à partir de https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2022.1003118

Boulenguez, P., Liabeuf, S., Bos, R., Bras, H., Jean-Xavier, C., Brocard, C., Stil, A., Darbon, P., Cattaert, D., Delpire, E., Marsala, M., & Vinay, L. (2010). Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury [Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature Medicine*, *16*(3), 302-307. https://doi.org/10.1038/nm.2107

Boulet, N., Briot, A., Galitzky, J., & Bouloumié, A. (2022). The Sexual Dimorphism of Human Adipose Depots. *Biomedicines*, *10*(10), 2615. https://doi.org/10.3390/biomedicines10102615

Bourin, P., BUNNELL, B. A., CASTEILLA, L., DOMINICI, M., KATZ, A. J., MARCH, K. L., REDL, H., RUBIN, J. P., YOSHIMURA, K., & GIMBLE, J. M. (2013). Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells : a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics (IFATS) and Science and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*, *15*(6), 641-648. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.02.006

Bowles, A. C., Strong, A. L., Wise, R. M., Thomas, R. C., Gerstein, B. Y., Dutreil, M. F., Hunter, R. S., Gimble, J. M., & Bunnell, B. A. (2016). Adipose Stromal Vascular Fraction-Mediated Improvements at Late-Stage Disease in a Murine Model of Multiple Sclerosis. *Stem Cells*, *35*(2), 532-544. https://doi.org/10.1002/stem.2516

Bowles, A. C., Wise, R. M., Gerstein, B. Y., Thomas, R. C., Ogelman, R., Febbo, I., & Bunnell, B. A. (2017). Immunomodulatory Effects of Adipose Stromal Vascular

Fraction Cells Promote Alternative Activation Macrophages to Repair Tissue Damage. *Stem Cells*, *35*(10), 2198-2207. https://doi.org/10.1002/stem.2689

Bowles, A. C., Wise, R. M., Gerstein, B. Y., Thomas, R. C., Ogelman, R., Manayan, R. C., & Bunnell, B. A. (2018). Adipose stromal vascular fraction attenuates TH1 cell-mediated pathology in a model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*, *15*(1), 77. https://doi.org/10.1186/s12974-018-1099-3

Bradbury, E. J., Moon, L. D. F., Popat, R. J., King, V. R., Bennett, G. S., Patel, P. N., Fawcett, J. W., & McMahon, S. B. (2002). Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury [Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature*, *416*(6881), 636-640. https://doi.org/10.1038/416636a

Bradl, M., & Lassmann, H. (2010). Oligodendrocytes : biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, *119*(1), 37-53. https://doi.org/10.1007/s00401-009-0601-5

Brown, C., McKee, C., Bakshi, S., Walker, K., Hakman, E., Halassy, S., Svinarich, D., Dodds, R., Govind, C. K., & Chaudhry, G. R. (2019). Mesenchymal stem cells : Cell therapy and regeneration potential [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/term.2914]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *13*(9), 1738-1755. https://doi.org/10.1002/term.2914

Budd, M. A., Gater, D. R., & Channell, I. (2022). Psychosocial Consequences of Spinal Cord Injury : A Narrative Review [Number : 7 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *Journal of Personalized Medicine*, *12*(7), 1178. https://doi.org/10.3390/jpm12071178

Burda, J. E., & Sofroniew, M. V. (2014). Reactive gliosis and the multicellular response to CNS damage and disease. *Neuron*, *81*(2), 229-248. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.034

Burns, A. S., Marino, R. J., Kalsi-Ryan, S., Middleton, J. W., Tetreault, L. A., Dettori, J. R., Mihalovich, K. E., & Fehlings, M. G. (2017). Type and Timing of Rehabilitation Following Acute and Subacute Spinal Cord Injury : A Systematic Review. *Global Spine Journal*, *7*(3_suppl), 175S-194S. https://doi.org/10.1177/2192568217703084

Bydon, M., Dietz, A. B., Goncalves, S., Moinuddin, F. M., Alvi, M. A., Goyal, A., Yolcu, Y., Hunt, C. L., Garlanger, K. L., Fabro, A. S. D., Reeves, R. K., Terzic, A., Windebank, A. J., & Qu, W. (2020). CELLTOP Clinical Trial : First Report From a Phase 1 Trial of Autologous Adipose Tissue–Derived Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Paralysis Due to Traumatic Spinal Cord Injury [Publisher : Elsevier]. *Mayo Clinic Proceedings*, *95*(2), 406-414. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.10.008

Cai, J., Feng, J., Liu, K., Zhou, S., & Lu, F. (2018). Early Macrophage Infiltration Improves Fat Graft Survival by Inducing Angiogenesis and Hematopoietic Stem Cell Recruitment.

Plastic and Reconstructive Surgery, *141*(2), 376-386. https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000004028

Cai, Y., Zhang, F., Feng, J., Wu, B., Li, H., Xiao, S., Lu, F., Wei, Z., & Deng, C. (2023). Long-term follow-up and exploration of the mechanism of stromal vascular fraction gel in chronic wounds. *Stem Cell Research & Therapy*, *14*(1), 163. https://doi.org/10.1186/s13287-023-03389-2

Callegari, I. O. M., Rocha, G. Z., & Oliveira, A. G. (2023). Physical exercise, health, and disease treatment : The role of macrophages. *Frontiers in Physiology*, *14*, 1061353. https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1061353

Candar, E., Demircubuk, I., & Sengul, G. (2023). Bror Rexed (1914–2002) and His Pioneer Works on Spinal Cord Cytoarchitecture [Publisher : SAGE Publications Inc STM]. *The Neuroscientist*, 10738584221149664. https://doi.org/10.1177/10738584221149664

Cannon, B., de Jong, J. M. A., Fischer, A. W., Nedergaard, J., & Petrovic, N. (2020). Human brown adipose tissue : Classical brown rather than brite/beige ? [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1113/EP087875]. *Experimental Physiology*, *105*(8), 1191-1200. https://doi.org/10.1113/EP087875

Cannon, B., & Nedergaard, J. (2004). Brown Adipose Tissue : Function and Physiological Significance [Publisher : American Physiological Society]. *Physiological Reviews*, *84*(1), 277-359. https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2003

Cao, Y., & Krause, J. S. (2020). Estimation of indirect costs based on employment and earnings changes after spinal cord injury : an observational study [Number : 8 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *58*(8), 908-913. https://doi.org/10.1038/s41393-020-0447-1

Cao, Y., & Krause, J. S. (2021). The association between secondary health conditions and indirect costs after spinal cord injury [Number : 3 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *59*(3), 306-310. https://doi.org/10.1038/s41393-020-00567-4

Carelli, S., Colli, M., Vinci, V., Caviggioli, F., Klinger, M., & Gorio, A. (2018). Mechanical Activation of Adipose Tissue and Derived Mesenchymal Stem Cells : Novel Anti-Inflammatory Properties. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(1), 267. https://doi.org/10.3390/ijms19010267

Carelli, S., Giallongo, T., Rey, F., Colli, M., Tosi, D., Bulfamante, G., Di Giulio, A. M., & Gorio, A. (2019). Neuroprotection, Recovery of Function and Endogenous Neurogenesis in Traumatic Spinal Cord Injury Following Transplantation of Activated Adipose Tissue. *Cells*, *8*(4), 329. https://doi.org/10.3390/cells8040329

Carelli, S., Messaggio, F., Canazza, A., Hebda, D. M., Caremoli, F., Latorre, E., Grimoldi, M. G., Colli, M., Bulfamante, G., Tremolada, C., Di Giulio, A. M., & Gorio, A. (2015). Characteristics and Properties of Mesenchymal Stem Cells

Derived from Microfragmented Adipose Tissue [Publisher : SAGE Publications Inc]. *Cell Transplantation*, *24*(7), 1233-1252. https://doi.org/10.3727/096368914X681603

Carstens, M., Haq, I., Martinez-Cerrato, J., Dos-Anjos, S., Bertram, K., & Correa, D. (2020). Sustained clinical improvement of Parkinson's disease in two patients with facially-transplanted adipose-derived stromal vascular fraction cells. *Journal of Clinical Neuroscience*, *81*, 47-51. https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.09.001

Carstens, M. H., Gómez, A., Cortés, R., Turner, E., Pérez, C., Ocon, M., & Correa, D. (2017). Non-reconstructable peripheral vascular disease of the lower extremity in ten patients treated with adipose-derived stromal vascular fraction cells. *Stem Cell Research*, *18*, 14-21. https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.12.001

Carstens, M. H., Zelaya, M., Calero, D., Rivera, C., & Correa, D. (2020). Adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) cells for the treatment of non-reconstructable peripheral vascular disease in patients with critical limb ischemia : A 6-year follow-up showing durable effects. *Stem Cell Research*, *49*, 102071. https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.102071

Casha, S., Zygun, D., McGowan, M. D., Bains, I., Yong, V. W., & John Hurlbert, R. (2012). Results of a phase II placebo-controlled randomized trial of minocycline in acute spinal cord injury. *Brain*, *135*(4), 1224-1236. https://doi.org/10.1093/brain/aws072

Cazalets, J. R., Borde, M., & Clarac, F. (1995). Localization and organization of the central pattern generator for hindlimb locomotion in newborn rat. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *15*(7 Pt 1), 4943-4951. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-07-04943.1995

Cazalets, J. R., Borde, M., & Clarac, F. (1996). The synaptic drive from the spinal locomotor network to motoneurons in the newborn rat. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *16*(1), 298-306. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-01-00298.1996

Chamberlain, J. D., Buzzell, A., Gmünder, H. P., Hug, K., Jordan, X., Moser, A., Schubert, M., Zwahlen, M., Brinkhof, M. W., & the SwiSCI Study Group and the Swiss National Cohort. (2019). Comparison of All-Cause and Cause-Specific Mortality of Persons with Traumatic Spinal Cord Injuries to the General Swiss Population : Results from a National Cohort Study. *Neuroepidemiology*, *52*(3-4), 205-213. https://doi.org/10.1159/000496976

Chazenbalk, G., Bertolotto, C., Heneidi, S., Jumabay, M., Trivax, B., Aronowitz, J., Yoshimura, K., Simmons, C. F., Dumesic, D. A., & Azziz, R. (2011). Novel Pathway of Adipogenesis through Cross-Talk between Adipose Tissue Macrophages, Adipose Stem Cells and Adipocytes : Evidence of Cell Plasticity [Publisher : Public Library of Science]. *PLOS ONE*, *6*(3), e17834. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017834

Chen, J., Wang, L., Liu, M., Gao, G., Zhao, W., Fu, Q., & Wang, Y. (2022). Implantation of adipose-derived mesenchymal stem cell sheets promotes axonal regeneration and

restores bladder function after spinal cord injury. *Stem Cell Research & Therapy*, *13*(1), 503. https://doi.org/10.1186/s13287-022-03188-1

Chen, K.-B., Uchida, K., Nakajima, H., Yayama, T., Hirai, T., Watanabe, S., Guerrero, A. R., Kobayashi, S., Ma, W.-Y., Liu, S.-Y., & Baba, H. (2011). Tumor Necrosis Factor- Antagonist Reduces Apoptosis of Neurons and Oligodendroglia in Rat Spinal Cord Injury. *Spine*, *36*(17), 1350. https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181f014ec

Chen, W., Zhang, Y., Yang, S., Sun, J., Qiu, H., Hu, X., Niu, X., Xiao, Z., Zhao, Y., Zhou, Y., Dai, J., & Chu, T. (2020). NeuroRegen Scaffolds Combined with Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells for the Repair of Acute Complete Spinal Cord Injury : A 3-Year Clinical Study [Publisher : SAGE Publications Inc]. *Cell Transplantation*, *29*, 0963689720950637. https://doi.org/10.1177/0963689720950637

Chen, Y., Tang, Y., Vogel, L., & DeVivo, M. (2013). Causes of Spinal Cord Injury. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, *19*(1), 1-8. https://doi.org/10.1310/sci1901-1

Cheriyan, T., Ryan, D. J., Weinreb, J. H., Cheriyan, J., Paul, J. C., Lafage, V., Kirsch, T., & Errico, T. J. (2014). Spinal cord injury models : a review. *Spinal Cord*, *52*(8), 588-595. https://doi.org/10.1038/sc.2014.91

Cheung, E. Y. Y., Yu, K. K. K., Kwan, R. L. C., Ng, C. K. M., Chau, R. M. W., & Cheing, G. L. Y. (2019). Effect of EMG-biofeedback robotic-assisted body weight supported treadmill training on walking ability and cardiopulmonary function on people with subacute spinal cord injuries – a randomized controlled trial. *BMC Neurology*, *19*(1), 140. https://doi.org/10.1186/s12883-019-1361-z

Chiu, T.-L., Baskaran, R., Tsai, S.-T., Huang, C.-Y., Chuang, M.-H., Syu, W.-S., Harn, H.-J., Lin, Y.-C., Chen, C.-H., Huang, P.-C., Wang, Y.-F., Chuang, C.-H., Lin, P.-C., & Lin, S.-Z. (2022). Intracerebral transplantation of autologous adipose-derived stem cells for chronic ischemic stroke : A phase I study [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/term.3256]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *16*(1), 3-13. https://doi.org/10.1002/term.3256

Cho, T. A. (2015). Spinal Cord Functional Anatomy. https://doi.org/10.1212/01.CON.0000461082.25876.4a

Choi, J. S., Kim, B. S., Kim, J. Y., Kim, J. D., Choi, Y. C., Yang, H.-J., Park, K., Lee, H. Y., & Cho, Y. W. (2011). Decellularized extracellular matrix derived from human adipose tissue as a potential scaffold for allograft tissue engineering [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jbm.a.33056]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *97A*(3), 292-299. https://doi.org/10.1002/jbm.a.33056

Christensen, M. D., Everhart, A. W., Pickelman, J. T., & Hulsebosch, C. E. (1996). Mechanical and thermal allodynia in chronic central pain following spinal cord injury. *PAIN*, *68*(1), 97. https://doi.org/10.1016/S0304-3959(96)03224-1

Clifford, T., Finkel, Z., Rodriguez, B., Joseph, A., & Cai, L. (2023). Current Advancements in Spinal Cord Injury Research—Glial Scar Formation and Neural Regeneration. *Cells*, *12*(6), 853. https://doi.org/10.3390/cells12060853

Cobo, F., Cortés, J. L., Cabrera, C., Nieto, A., & Concha, A. (2007). Microbiological contamination in stem cell cultures. *Cell Biology International*, *31*(9), 991-995. https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2007.03.010

Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue : an endocrine organ. *Archives of Medical Science : AMS*, *9*(2), 191-200. https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181

Comella, K., Parcero, J., Bansal, H., Perez, J., Lopez, J., Agrawal, A., & Ichim, T. (2016). Effects of the intramyocardial implantation of stromal vascular fraction in patients with chronic ischemic cardiomyopathy. *Journal of Translational Medicine*, *14*(1), 158. https://doi.org/10.1186/s12967-016-0918-5

Corselli, M., Crisan, M., Murray, I. R., West, C. C., Scholes, J., Codrea, F., Khan, N., & Péault, B. (2013). Identification of perivascular mesenchymal stromal/stem cells by flow cytometry [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cyto.a.22313]. *Cytometry Part A*, *83A*(8), 714-720. https://doi.org/10.1002/cyto.a.22313

Corvera, S., Solivan-Rivera, J., & Yang Loureiro, Z. (2022). Angiogenesis in adipose tissue and obesity. *Angiogenesis*, *25*(4), 439-453. https://doi.org/10.1007/s10456-022-09848-3

Côté, M.-P., Azzam, G. A., Lemay, M. A., Zhukareva, V., & Houlé, J. D. (2011). Activity-Dependent Increase in Neurotrophic Factors Is Associated with an Enhanced Modulation of Spinal Reflexes after Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *28*(2), 299-309. https://doi.org/10.1089/neu.2010.1594

Courtine, G., Song, B., Roy, R. R., Zhong, H., Herrmann, J. E., Ao, Y., Qi, J., Edgerton, V. R., & Sofroniew, M. V. (2008). Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury. *Nature Medicine*, *14*(1), 69-74. https://doi.org/10.1038/nm1682

Courtine, G., Bunge, M. B., Fawcett, J. W., Grossman, R. G., Kaas, J. H., Lemon, R., Maier, I., Martin, J., Nudo, R. J., Ramon-Cueto, A., Rouiller, E. M., Schnell, L., Wannier, T., Schwab, M. E., & Edgerton, V. R. (2007). Can experiments in nonhuman primates expedite the translation of treatments for spinal cord injury in humans ? *Nature medicine*, *13*(5), 561-566. https://doi.org/10.1038/nm1595

Courtine, G., & Sofroniew, M. V. (2019). Spinal cord repair : advances in biology and technology [Number : 6 Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature Medicine*, *25*(6), 898-908. https://doi.org/10.1038/s41591-019-0475-6

Craig, A., Nicholson Perry, K., Guest, R., Tran, Y., Dezarnaulds, A., Hales, A., Ephraums, C., & Middleton, J. (2015). Prospective Study of the Occurrence of Psychological Disorders and Comorbidities After Spinal Cord Injury. *Archives of Physical*

Medicine and Rehabilitation, *96*(8), 1426-1434. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2015.02.027

Craig, A., Tran, Y., Guest, R., & Middleton, J. (2019). Trajectories of Self-Efficacy and Depressed Mood and Their Relationship in the First 12 Months Following Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *100*(3), 441-447. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2018.07.442

Craig, A., Tran, Y., Wijesuriya, N., & Middleton, J. (2012). Fatigue and tiredness in people with spinal cord injury. *Journal of Psychosomatic Research*, *73*(3), 205-210. https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2012.07.005

Cramer, S. W., Baggott, C., Cain, J., Tilghman, J., Allcock, B., Miranpuri, G., Rajpal, S., Sun, D., & Resnick, D. (2008). The role of cation-dependent chloride transporters in neuropathic pain following spinal cord injury. *Molecular Pain*, *4*, 36. https://doi.org/10.1186/1744-8069-4-36

Cross, M. J., & Claesson-Welsh, L. (2001). FGF and VEGF function in angiogenesis : signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends in Pharmacological Sciences*, *22*(4), 201-207. https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01676-X

Curcio, M., & Bradke, F. (2018). Axon Regeneration in the Central Nervous System : Facing the Challenges from the Inside [_eprint : https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062508]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *34*(1), 495-521. https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100617-062508

Daryabor, G., Amirghofran, Z., Gholijani, N., & Bemani, P. (2022). Obesity and Adipose Tissue-derived Cytokines in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, *22*(12), 1217-1231. Récupérée mars 4, 2024, à partir de https://www.eurekaselect.com/article/120888

da Silva Meirelles, L., Fontes, A. M., Covas, D. T., & Caplan, A. I. (2009). Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, *20*(5), 419-427. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.10.002

Datto, J. P., Bastidas, J. C., Miller, N. L., Shah, A. K., Arheart, K. L., Marcillo, A. E., Dietrich, W. D., & Pearse, D. D. (2015). Female Rats Demonstrate Improved Locomotor Recovery and Greater Preservation of White and Gray Matter after Traumatic Spinal Cord Injury Compared to Males [Publisher : Mary Ann Liebert, Inc., publishers]. *Journal of Neurotrauma*, *32*(15), 1146-1157. https://doi.org/10.1089/neu.2014.3702

Decherchi, P., Dousset, E., & Jammes, Y. (2007). Respiratory and cardiovascular responses evoked by tibialis anterior muscle afferent fibers in rats. *Experimental Brain Research*, *183*(3), 299-312. https://doi.org/10.1007/s00221-007-1044-7

Delarue, Q., Brodier, M., Neveu, P., Moncomble, L., Hugede, A., Blondin, A., Robac, A., Raimond, C., Lecras, P., Riou, G., & Guerout, N. (2024, avril). Spinal cord injury : What are the lesion effects on transplanted cells in an autograft

model ? [Pages : 2024.04.19.590121 Section : New Results]. https://doi.org/10.1101/2024.04.19.590121

de Leon, R. D., & Dy, C. J. (2017). What Did We Learn from the Animal Studies of Body Weight–Supported Treadmill Training and Where Do We Go from Here ? *Journal of Neurotrauma*, *34*(9), 1744-1750. https://doi.org/10.1089/neu.2016.4561

Deng, S., Gan, L., Liu, C., Xu, T., Zhou, S., Guo, Y., Zhang, Z., Yang, G.-Y., Tian, H., & Tang, Y. (2023). Roles of Ependymal Cells in the Physiology and Pathology of the Central Nervous System [Publisher : JKL International LLC]. *Aging and Disease*, *14*(2), 468. https://doi.org/10.14336/AD.2022.0826-1

de Paleville, D. T., McKay, W., Aslan, S., Folz, R., Sayenko, D., & Ovechkin, A. V. (2013). Locomotor step training with body weight support improves respiratory motor function in individuals with chronic spinal cord injury. *Respiratory physiology & neurobiology*, *189*(3), 10.1016/j.resp.2013.08.018. https://doi.org/10.1016/j.resp.2013.08.018

Devillard, X., Rimaud, D., Roche, F., & Calmels, P. (2007). Effects of training programs for spinal cord injury. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique*, *50*(6), 490-498. https://doi.org/10.1016/j.annrmp.2007.04.013

DeVivo, M. J. (2012). Epidemiology of traumatic spinal cord injury : trends and future implications [Number : 5 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *50*(5), 365-372. https://doi.org/10.1038/sc.2011.178

DeVivo, M. J., Chen, Y., & Wen, H. (2022). Cause of Death Trends Among Persons With Spinal Cord Injury in the United States : 1960-2017. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *103*(4), 634-641. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2021.09.019

DeVivo, M. J., Go, B. K., & Jackson, A. B. (2002). Overview Of The National Spinal Cord Injury Statistical Center Database. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, *25*(4), 335-338. https://doi.org/10.1080/10790268.2002.11753637

Di Nicola, V. (2019). Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. *Regenerative Therapy*, *11*, 182-191. https://doi.org/10.1016/j.reth.2019.07.008

Diaz, E., & Morales, H. (2016). Spinal Cord Anatomy and Clinical Syndromes. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, *37*(5), 360-371. https://doi.org/10.1053/j.sult.2016.05.002

Didangelos, T., Koliakos, G., Kouzi, K., Arsos, G., Kotzampassi, K., Tziomalos, K., Karamanos, D., & Hatzitolios, A. I. (2018). Accelerated healing of a diabetic foot ulcer using autologous stromal vascular fraction suspended in platelet-rich plasma. *Regenerative Medicine*, *13*(3), 277-281. https://doi.org/10.2217/rme-2017-0069

Dimitrijevic, M. R., Gerasimenko, Y., & Pinter, M. M. (1998). Evidence for a Spinal Central Pattern Generator in Humansa [_eprint : https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09062.x]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *860*(1), 360-376. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09062.x

Dong, L., Li, X., Leng, W., Guo, Z., Cai, T., Ji, X., Xu, C., Zhu, Z., & Lin, J. (2023). Adipose stem cells in tissue regeneration and repair : From bench to bedside. *Regenerative Therapy*, *24*, 547-560. https://doi.org/10.1016/j.reth.2023.09.014

Dos-Anjos, S., & Catalán, J. M. (2019). Techniques and Processing Methods to Isolate Stem Cells and Stromal Vascular Fraction Cells. In H. Pinto & J. Fontdevila (éd.), *Regenerative Medicine Procedures for Aesthetic Physicians* (p. 223-233). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15458-5_18

Doyle, L. M. F., Stafford, P. P., & Roberts, B. L. (2001). Recovery of locomotion correlated with axonal regeneration after a complete spinal transection in the eel [Publisher : Elsevier]. *Neuroscience*, *107*(1), 169-179. https://doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00402-X

Dubey, N. K., Mishra, V. K., Dubey, R., Deng, Y.-H., Tsai, F.-C., & Deng, W.-P. (2018). Revisiting the Advances in Isolation, Characterization and Secretome of Adipose-Derived Stromal/Stem Cells [Number : 8 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(8), 2200. https://doi.org/10.3390/ijms19082200

Duma, C., Kopyov, O., Kopyov, A., Berman, M., Lander, E., Elam, M., Arata, M., Weiland, D., Cannell, R., Caraway, C., Berman, S., Scord, K., Stemler, L., Chung, K., Khoudari, S., McRory, R., Duma, C., Farmer, S., Bravo, A., … Rapaport, B. (2019). Human intracerebroventricular (ICV) injection of autologous, non-engineered, adipose-derived stromal vascular fraction (ADSVF) for neurodegenerative disorders : results of a 3-year phase 1 study of 113 injections in 31 patients. *Molecular Biology Reports*, *46*(5), 5257-5272. https://doi.org/10.1007/s11033-019-04983-5

Dumont, R. J., Okonkwo, D. O., Verma, S., Hurlbert, R. J., Boulos, P. T., Ellegala, D. B., & Dumont, A. S. (2001). Acute Spinal Cord Injury, Part I : Pathophysiologic Mechanisms : *Clinical Neuropharmacology*, *24*(5), 254-264. https://doi.org/10.1097/00002826-200109000-00002

Duncan, G. J., Manesh, S. B., Hilton, B. J., Assinck, P., Plemel, J. R., & Tetzlaff, W. (2020). The fate and function of oligodendrocyte progenitor cells after traumatic spinal cord injury [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/glia.23706]. *Glia*, *68*(2), 227-245. https://doi.org/10.1002/glia.23706

Eccles, J. C. (1964, janvier). Presynaptic Inhibition in the Spinal Cord. In J. C. Eccles & J. P. Schadé (éd.), *Progress in Brain Research* (p. 65-91, T. 12). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)60618-4

Eckert, M. J., & Abraham, W. C. (2013). Effects of environmental enrichment exposure on synaptic transmission and plasticity in the hippocampus. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *15*, 165-187. https://doi.org/10.1007/7854_2012_215

El-Habta, R., Andersson, G., Kingham, P. J., & Backman, L. J. (2021). Anti-apoptotic effect of adipose tissue-derived stromal vascular fraction in denervated rat muscle. *Stem Cell Research & Therapy*, *12*(1), 162. https://doi.org/10.1186/s13287-021-02230-y

Engblom-Deglmann, M. L., & Hamilton, J. (2020). The Impact of Spinal Cord Injury on the Couple Relationship : A Grounded Theory Exploration of the Adjustment Process [Publisher : Taylor & Francis Ltd]. *Journal of Couple & Relationship Therapy*, *19*(3), 250-275. https://doi.org/10.1080/15332691.2020.1746459

Enoka, R. M., Robinson, G. A., & Kossev, A. R. (1989). Task and fatigue effects on low-threshold motor units in human hand muscle [Publisher : American Physiological Society]. *Journal of Neurophysiology*, *62*(6), 1344-1359. https://doi.org/10.1152/jn.1989.62.6.1344

Faggioni, R., Fantuzzi, G., Fuller, J., Dinarello, C. A., Feingold, K. R., & Grunfeld, C. (1998). IL-1 beta mediates leptin induction during inflammation. *The American Journal of Physiology*, *274*(1), R204-208. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.274.1.R204

Fang, B., Liu, Y., Zheng, D., Shan, S., Wang, C., Gao, Y., Wang, J., Xie, Y., Zhang, Y., & Li, Q. (2019). The effects of mechanical stretch on the biological characteristics of human adipose-derived stem cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *23*(6), 4244-4255. https://doi.org/10.1111/jcmm.14314

Fawcett, J. W., Curt, A., Steeves, J. D., Coleman, W. P., Tuszynski, M. H., Lammertse, D., Bartlett, P. F., Blight, A. R., Dietz, V., Ditunno, J., Dobkin, B. H., Havton, L. A., Ellaway, P. H., Fehlings, M. G., Privat, A., Grossman, R., Guest, J. D., Kleitman, N., Nakamura, M., … Short, D. (2007). Guidelines for the conduct of clinical trials for spinal cord injury as developed by the ICCP panel : spontaneous recovery after spinal cord injury and statistical power needed for therapeutic clinical trials. *Spinal Cord*, *45*(3), 190-205. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3102007

Fehlings, M. G., Moghaddamjou, A., Harrop, J. S., Stanford, R., Ball, J., Aarabi, B., Freeman, B. J. C., Arnold, P. M., Guest, J. D., Kurpad, S. N., Schuster, J. M., Nassr, A., Schmitt, K. M., Wilson, J. R., Brodke, D. S., Ahmad, F. U., Yee, A., Ray, W. Z., Brooks, N. P., … Kopjar, B. (2023). Safety and Efficacy of Riluzole in Acute Spinal Cord Injury Study (RISCIS) : A Multi-Center, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blinded Trial. *Journal of Neurotrauma*, *40*(17-18), 1878-1888. https://doi.org/10.1089/neu.2023.0163

Fehlings, M. G., Pedro, K., & Hejrati, N. (2022). Management of Acute Spinal Cord Injury : Where Have We Been ? Where Are We Now ? Where Are We Going ? [Publisher : Mary Ann Liebert, Inc., publishers]. *Journal of Neurotrauma*, *39*(23-24), 1591-1602. https://doi.org/10.1089/neu.2022.0009

Fehlings, M. G., Tetreault, L. A., Wilson, J. R., Kwon, B. K., Burns, A. S., Martin, A. R., Hawryluk, G., & Harrop, J. S. (2017). A Clinical Practice Guideline for the Management of Acute Spinal Cord Injury : Introduction, Rationale, and Scope. *Global Spine Journal*, *7*(3 Suppl), 84S-94S. https://doi.org/10.1177/2192568217703387

Ferreira, M. Y., Carvalho Junior, J. D. C., & Ferreira, L. M. (2023). Evaluating the quality of studies reporting on clinical applications of stromal vascular fraction : A systematic review and proposed reporting guidelines (CLINIC-STRA-SVF). *Regenerative Therapy*, *24*, 332-342. https://doi.org/10.1016/j.reth.2023.08.003

Formolo, D. A., Cheng, T., Yu, J., Kranz, G. S., & Yau, S.-Y. (2022). Central Adiponectin Signaling – A Metabolic Regulator in Support of Brain Plasticity (H. Van Praag & C. Wrann, éd.). *Brain Plasticity*, *8*(1), 79-96. https://doi.org/10.3233/BPL-220138

Fouad, K., Pedersen, V., Schwab, M. E., & Brösamle, C. (2001). Cervical sprouting of corticospinal fibers after thoracic spinal cord injury accompanies shifts in evoked motor responses. *Current Biology*, *11*(22), 1766-1770. https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00535-8

Fouad, K., Popovich, P. G., Kopp, M. A., & Schwab, J. M. (2021). The neuroanatomical–functional paradox in spinal cord injury. *Nature reviews. Neurology*, *17*(1), 53-62. https://doi.org/10.1038/s41582-020-00436-x

François, P., Giraudo, L., Veran, J., Bertrand, B., Dumoulin, C., Aboudou, H., Grimaud, F., Vogtensperger, M., Velier, M., Arnaud, L., Lyonnet, L., Simoncini, S., Guillet, B., Dignat-George, F., Magalon, J., & Sabatier, F. (2020). Development and Validation of a Fully GMP-Compliant Process for Manufacturing Stromal Vascular Fraction : A Cost-Effective Alternative to Automated Methods. *Cells*, *9*(10), 2158. https://doi.org/10.3390/cells9102158

Fujita, Y., & Yamashita, T. (2019). The Effects of Leptin on Glial Cells in Neurological Diseases [Publisher : Frontiers]. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00828

Gajtkó, A., Bakk, E., Hegedűs, K., Ducza, L., & Holló, K. (2020). IL-1 Induced Cytokine Expression by Spinal Astrocytes Can Play a Role in the Maintenance of Chronic Inflammatory Pain. *Frontiers in Physiology*, *11*, 543331. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.543331

Galic, S., Oakhill, J. S., & Steinberg, G. R. (2010). Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *316*(2), 129-139. https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.018

Galland, S., & Stamenkovic, I. (2020). Mesenchymal stromal cells in cancer : a review of their immunomodulatory functions and dual effects on tumor progression. *The Journal of Pathology*, *250*(5), 555-572. https://doi.org/10.1002/path.5357

Gan, F., Liu, L., Zhou, Q., Huang, W., Huang, X., & Zhao, X. (2022). Effects of adipose-derived stromal cells and endothelial progenitor cells on adipose transplant survival and angiogenesis. *PLoS ONE*, *17*(1), e0261498. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261498

Ganapathy, M. K., Reddy, V., & Tadi, P. (2024). Neuroanatomy, Spinal Cord Morphology. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 19, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545206/

Gandevia, S. C. (2001). Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological Reviews*, *81*(4), 1725-1789. https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1725

Gandolfi, S., Pileyre, B., Drouot, L., Dubus, I., Auquit-Auckbur, I., & Martinet, J. (2023). Stromal vascular fraction in the treatment of myositis [Publisher : Nature Publishing Group]. *Cell Death Discovery*, *9*(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41420-023-01605-9

Gant, K. L., Guest, J. D., Palermo, A. E., Vedantam, A., Jimsheleishvili, G., Bunge, M. B., Brooks, A. E., Anderson, K. D., Thomas, C. K., Santamaria, A. J., Perez, M. A., Curiel, R., Nash, M. S., Saraf-Lavi, E., Pearse, D. D., Widerström-Noga, E., Khan, A., Dietrich, W. D., & Levi, A. D. (2022). Phase 1 Safety Trial of Autologous Human Schwann Cell Transplantation in Chronic Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *39*(3-4), 285-299. https://doi.org/10.1089/neu.2020.7590

Gao, L., Peng, Y., Xu, W., He, P., Li, T., Lu, X., & Chen, G. (2020). Progress in Stem Cell Therapy for Spinal Cord Injury. *Stem Cells International*, *2020*, 2853650. https://doi.org/10.1155/2020/2853650

Gao, S., Guo, X., Zhao, S., Jin, Y., Zhou, F., Yuan, P., Cao, L., Wang, J., Qiu, Y., Sun, C., Kang, Z., Gao, F., Xu, W., Hu, X., Yang, D., Qin, Y., Ning, K., Shaw, P. J., Zhong, G., … Xu, J. (2019). Differentiation of human adipose-derived stem cells into neuron/motoneuron-like cells for cell replacement therapy of spinal cord injury. *Cell Death & Disease*, *10*(8), 597. https://doi.org/10.1038/s41419-019-1772-1

Gao, T.-Y., Huang, F.-F., Xie, Y.-Y., Wang, W.-Q., Wang, L.-D., Mu, D., Cui, Y., & Wang, B. (2021). Dynamic changes in the systemic immune responses of spinal cord injury model mice. *Neural Regeneration Research*, *16*(2), 382. https://doi.org/10.4103/1673-5374.290910

Garcia, E., Aguilar-Cevallos, J., Silva-Garcia, R., & Ibarra, A. (2016). Cytokine and Growth Factor Activation In Vivo and In Vitro after Spinal Cord Injury. *Mediators of Inflammation*, *2016*, 9476020. https://doi.org/10.1155/2016/9476020

Garshick, E., Kelley, A., Cohen, S., Garrison, A., Tun, C., Gagnon, D., & Brown, R. (2005). A prospective assessment of mortality in chronic spinal cord injury. *Spinal cord*, *43*(7), 408-416. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101729

Gaudet, A. D., & Fonken, L. K. (2018). Glial Cells Shape Pathology and Repair After Spinal Cord Injury. *Neurotherapeutics*, *15*(3), 554-577. https://doi.org/10.1007/s13311-018-0630-7

Gayen, C. D., Bessen, M. A., Dorrian, R. M., Quarrington, R. D., Mulaibrahimovic, A., Doig, R. L. O., Freeman, B. J. C., Leonard, A. V., & Jones, C. F. (2023). Survival Model of Thoracic Contusion Spinal Cord Injury in the Domestic Pig. *Journal of Neurotrauma*, *40*(9-10), 965-980. https://doi.org/10.1089/neu.2022.0281

Gentile, P., Scioli, M. G., Orlandi, A., & Cervelli, V. (2015). Breast Reconstruction with Enhanced Stromal Vascular Fraction Fat Grafting : What Is the Best Method ? *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*, *3*(6), e406. https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000000285

Geoffroy, C. (2011). Effet des protéines de la myéline sur la régénération axonale et le bourgeonnement [Number : 2 Publisher : Éditions EDK, Groupe EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *27*(2), 132-135. https://doi.org/10.1051/medsci/2011272132

Ginhoux, F., & Merad, M. (2011). Les cellules de la microglie - Leurs origines extra-embryonnaires enfin révélées [Number : 8-9 Publisher : Éditions EDK, Groupe EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *27*(8-9), 719-724. https://doi.org/10.1051/medsci/2011278013

Giri, J., Das, R., Nylen, E., Chinnadurai, R., & Galipeau, J. (2020). CCL2 and CXCL12 Derived from Mesenchymal Stromal Cells Cooperatively Polarize IL-10+ Tissue Macrophages to Mitigate Gut Injury. *Cell reports*, *30*(6), 1923-1934.e4. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.047

Golestani, A., Shobeiri, P., Sadeghi-Naini, M., Jazayeri, S. B., Maroufi, S. F., Ghodsi, Z., Dabbagh Ohadi, M. A., Mohammadi, E., Rahimi-Movaghar, V., & Ghodsi, S. M. (2022). Epidemiology of Traumatic Spinal Cord Injury in Developing Countries from 2009 to 2020 : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*, *56*(4), 219-239. https://doi.org/10.1159/000524867

Gómez-Pinilla, F., Ying, Z., Opazo, P., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (2001). Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.0953-816x.2001.01484.x]. *European Journal of Neuroscience*, *13*(6), 1078-1084. https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01484.x

Gonzalez-Bermejo, J., LLontop, C., Similowski, T., & Morélot-Panzini, C. (2015). Respiratory neuromodulation in patients with neurological pathologies : for whom and how ? *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, *58*(4), 238-244. https://doi.org/10.1016/j.rehab.2015.07.001

Gorio, A., Gao, H., Klinger, M., Vinci, V., & Paino, F. (2024). Mechanically Activated Adipose Tissue as a Source for Novel Therapies inNeurological Disease/Injury.

Current Stem Cell Research & Therapy, *19*(5), 688-699. https://doi.org/10.2174/1574888X18666230605120546

Greco, S. J., Bryan, K. J., Sarkar, S., Zhu, X., Smith, M. A., Ashford, J. W., Johnston, J. M., Tezapsidis, N., & Casadesus, G. (2010). Leptin Reduces Pathology and Improves Memory in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, *19*(4), 1155-1167. https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1308

Griffin, J. M., & Bradke, F. (2020). Therapeutic repair for spinal cord injury : combinatory approaches to address a multifaceted problem. *EMBO Molecular Medicine*, *12*(3), e11505. https://doi.org/10.15252/emmm.201911505

Grillner, S., & Zangger, P. (1979). On the central generation of locomotion in the low spinal cat. *Experimental Brain Research*, *34*(2). https://doi.org/10.1007/BF00235671

Gueye, Y., Marqueste, T., Maurel, F., Khrestchatisky, M., Decherchi, P., & Feron, F. (2015). Cholecalciferol (vitamin D) improves functional recovery when delivered during the acute phase after a spinal cord trauma. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *154*, 23-31. https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.06.007

Guijarro-Belmar, A., Varone, A., Baltzer, M. R., Kataria, S., Tanriver-Ayder, E., Watzlawick, R., Sena, E., Cunningham, C. J., Rajnicek, A. M., Macleod, M., Huang, W., Currie, G. L., & McCann, S. K. (2022). Effectiveness of biomaterial-based combination strategies for spinal cord repair – a systematic review and meta-analysis of preclinical literature [Number : 12 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *60*(12), 1041-1049. https://doi.org/10.1038/s41393-022-00811-z

Guillaume-Jugnot, P., Daumas, A., Magalon, J., Jouve, E., Nguyen, P.-S., Truillet, R., Mallet, S., Casanova, D., Giraudo, L., Veran, J., Dignat-George, F., Sabatier, F., Magalon, G., & Granel, B. (2016). Autologous adipose-derived stromal vascular fraction in patients with systemic sclerosis : 12-month follow-up. *Rheumatology*, *55*(2), 301-306. https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev323

Hachmann, J. T., Grahn, P. J., Calvert, J. S., Drubach, D. I., Lee, K. H., & Lavrov, I. A. (2017). Electrical Neuromodulation of the Respiratory System After Spinal Cord Injury [Publisher : Elsevier]. *Mayo Clinic Proceedings*, *92*(9), 1401-1414. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.04.011

Hagen, E. M. (2015). Acute complications of spinal cord injuries. *World Journal of Orthopedics*, *6*(1), 17-23. https://doi.org/10.5312/wjo.v6.i1.17

Hall, M. (1973). Of the Principles of Investigation in Physiology. *Circulation*, *48*(3), 651-654. https://doi.org/10.1161/01.CIR.48.3.651

Hamers, F. P., Koopmans, G. C., & Joosten, E. A. (2006). CatWalk-Assisted Gait Analysis in the Assessment of Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *23*(3-4), 537-548. https://doi.org/10.1089/neu.2006.23.537

Hardin-Pouzet, H., & Morosan, S. (2019). Des souris, des rats et des hommes - En quoi les modèles rongeurs restent indispensables pour la production de connaissances [Number : 5 Publisher : EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *35*(5), 479-482. https://doi.org/10.1051/medsci/2019082

Harkema, S. J., Schmidt-Read, M., Lorenz, D. J., Edgerton, V. R., & Behrman, A. L. (2012). Balance and ambulation improvements in individuals with chronic incomplete spinal cord injury using locomotor training-based rehabilitation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *93*(9), 1508-1517. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2011.01.024

Hartkopp, A., Brønnum-Hansen, H., Seidenschnur, A.-M., & Biering-Sorensen, F. (1998). Suicide in a spinal cord injured population : Its relation to functional status. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *79*(11), 1356-1361. https://doi.org/10.1016/S0003-9993(98)90227-1

Hassanshahi, A., Hassanshahi, M., Khabbazi, S., Hosseini-Khah, Z., Peymanfar, Y., Ghalamkari, S., Su, Y.-W., & Xian, C. J. (2019). Adipose-derived stem cells for wound healing. *Journal of Cellular Physiology*, *234*(6), 7903-7914. https://doi.org/10.1002/jcp.27922

He, L.-W., Guo, X.-J., Zhao, C., & Rao, J.-S. (2023). Rehabilitation Training after Spinal Cord Injury Affects Brain Structure and Function : From Mechanisms to Methods. *Biomedicines*, *12*(1), 41. https://doi.org/10.3390/biomedicines12010041

He, Z., & Jin, Y. (2016). Intrinsic Control of Axon Regeneration [Publisher : Elsevier]. *Neuron*, *90*(3), 437-451. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.022

Hebb, D. O. (1949). *The organization of behavior : a neuropsychological theory* (1. issued in paperback). Routledge.

Hedayatpour, A., Ragerdi, I., Pasbakhsh, P., Kafami, L., Atlasi, N., Pirhajati Mahabadi, V., Ghasemi, S., & Reza, M. (2013). Promotion of Remyelination by Adipose Mesenchymal Stem Cell Transplantation in A Cuprizone Model of Multiple Sclerosis. *Cell Journal (Yakhteh)*, *15*(2), 142-151. Récupérée mars 5, 2024, à partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3712775/

Heise, C., & Kayalioglu, G. (2009, janvier). Chapter 6 - Cytoarchitecture of the Spinal Cord. In C. Watson, G. Paxinos & G. Kayalioglu (éd.), *The Spinal Cord* (p. 64-93). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374247-6.50010-9

Hellenbrand, D. J., Quinn, C. M., Piper, Z. J., Morehouse, C. N., Fixel, J. A., & Hanna, A. S. (2021). Inflammation after spinal cord injury : a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration. *Journal of Neuroinflammation*, *18*(1), 284. https://doi.org/10.1186/s12974-021-02337-2

Henke, A. M., Billington, Z. J., & Gater, D. R. (2022). Autonomic Dysfunction and Management after Spinal Cord Injury : A Narrative Review. *Journal of Personalized Medicine*, *12*(7), 1110. https://doi.org/10.3390/jpm12071110

Henneman, E., Somjen, G., & Carpenter, D. O. (1965). Excitability and inhibitibility of motoneurons of different sizes [Publisher : American Physiological Society]. *Journal of Neurophysiology*, *28*(3), 599-620. https://doi.org/10.1152/jn.1965.28.3.599

Hermann, G. E., Rogers, R. C., Bresnahan, J. C., & Beattie, M. S. (2001). Tumor necrosis factor-alpha induces cFOS and strongly potentiates glutamate-mediated cell death in the rat spinal cord. *Neurobiology of Disease*, *8*(4), 590-599. https://doi.org/10.1006/nbdi.2001.0414

Herold, J., & Kalucka, J. (2021). Angiogenesis in Adipose Tissue : The Interplay Between Adipose and Endothelial Cells. *Frontiers in Physiology*, *11*, 624903. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.624903

Hicks, A. L. (2021). Locomotor training in people with spinal cord injury : is this exercise ? [Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group]. *Spinal Cord*, *59*(1), 9-16. https://doi.org/10.1038/s41393-020-0502-y

Hillen, B. K., Abbas, J. J., & Jung, R. (2013). Accelerating locomotor recovery after incomplete spinal injury. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1279*(1), 164-174. https://doi.org/10.1111/nyas.12061

Hirota, R., Sasaki, M., Honmou, O., & Yamashita, T. (2023). Mesenchymal Stem Cell Transplantation for Spinal Cord Injury : Current Status and Prospects. *Spine Surgery and Related Research*, *7*(4), 319-326. https://doi.org/10.22603/ssrr.2022-0234

Hodgetts, S. I., Plant, G. W., & Harvey, A. R. (2009, janvier). Chapter 14 - Spinal Cord Injury : experimental animal models and relation to human therapy. In C. Watson, G. Paxinos & G. Kayalioglu (éd.), *The Spinal Cord* (p. 209-237). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374247-6.50018-3

Hofstetter, J., Suckow, M. A., & Hickman, D. L. (2006, janvier). Chapter 4 - Morphophysiology. In M. A. Suckow, S. H. Weisbroth & C. L. Franklin (éd.), *The Laboratory Rat (Second Edition)* (p. 93-125). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-012074903-4/50007-8

Holnthoner, W., Hohenegger, K., Husa, A.-M., Muehleder, S., Meinl, A., Peterbauer-Scherb, A., & Redl, H. (2015). Adipose-derived stem cells induce vascular tube formation of outgrowth endothelial cells in a fibrin matrix [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/term.1620]. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, *9*(2), 127-136. https://doi.org/10.1002/term.1620

Hong, X., Oh, N., Wang, K., Neumeyer, J., Lee, C. N., Lin, R.-Z., Piekarski, B., Emani, S., Greene, A. K., Friehs, I., del Nido, P. J., & Melero-Martin, J. M. (2021). Human endothelial colony-forming cells provide trophic support for pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes via distinctively high expression of neuregulin-1. *Angiogenesis*, *24*(2), 327-344. https://doi.org/10.1007/s10456-020-09765-3

Honmou, O., Yamashita, T., Morita, T., Oshigiri, T., Hirota, R., Iyama, S., Kato, J., Sasaki, Y., Ishiai, S., Ito, Y. M., Namioka, A., Namioka, T., Nakazaki,

M., Kataoka-Sasaki, Y., Onodera, R., Oka, S., Sasaki, M., Waxman, S. G., & Kocsis, J. D. (2021). Intravenous infusion of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in spinal cord injury patients : 13 case series. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, *203*, 106565. https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2021.106565

Hou, J., Nelson, R., Mohammad, N., Mustafa, G., Plant, D., Thompson, F. J., & Bose, P. (2020). Effect of Simultaneous Combined Treadmill Training and Magnetic Stimulation on Spasticity and Gait Impairments after Cervical Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *37*(18), 1999-2013. https://doi.org/10.1089/neu.2019.6961

Huang, T., He, D., Kleiner, G., & Kuluz, J. (2007). Neuron-like Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells From Infant Piglets in Vitro. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, *30*(Suppl 1), S35-S40. Récupérée mars 5, 2024, à partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2031970/

Hubbard, N. E., Lim, D., Mukutmoni, M., Cai, A., & Erickson, K. L. (2005). Expression and regulation of murine macrophage angiopoietin-2. *Cellular Immunology*, *234*(2), 102-109. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2005.06.001

Hubscher, C. H., Wyles, J., Gallahar, A., Johnson, K., Willhite, A., Harkema, S., & Herrity, A. N. (2021). Impact of different forms of activity-based recovery training on bladder, bowel and sexual function following spinal cord injury. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, *102*(5), 865-873. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2020.11.002

Huh, J. Y., Park, Y. J., Ham, M., & Kim, J. B. (2014). Crosstalk between Adipocytes and Immune Cells in Adipose Tissue Inflammation and Metabolic Dysregulation in Obesity. *Molecules and Cells*, *37*(5), 365-371. https://doi.org/10.14348/molcells.2014.0074

Hur, J. W., Cho, T.-H., Park, D.-H., Lee, J.-B., Park, J.-Y., & Chung, Y.-G. (2016). Intrathecal transplantation of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells for treating spinal cord injury : A human trial. *The Journal of Spinal Cord Medicine*, *39*(6), 655-664. https://doi.org/10.1179/2045772315Y.0000000048

Hwang, D. H., Shin, H. Y., Kwon, M. J., Choi, J. Y., Ryu, B.-Y., & Kim, B. G. (2014). Survival of neural stem cell grafts in the lesioned spinal cord is enhanced by a combination of treadmill locomotor training via insulin-like growth factor-1 signaling. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *34*(38), 12788-12800. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5359-13.2014

Ilha, J., Meireles, A., de Freitas, G. R., do Espírito Santo, C. C., Machado-Pereira, N. A. M. M., Swarowsky, A., & Santos, A. R. S. (2019). Overground gait training promotes functional recovery and cortical neuroplasticity in an incomplete spinal cord injury model. *Life Sciences*, *232*, 116627. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116627

Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., Benveniste, H., Vates, G. E., Deane, R., Goldman, S. A., Nagelhus, E. A., &

Nedergaard, M. (2012). A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid . *Science translational medicine*, *4*(147), 147ra111. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003748

Ingram, D. A., Mead, L. E., Tanaka, H., Meade, V., Fenoglio, A., Mortell, K., Pollok, K., Ferkowicz, M. J., Gilley, D., & Yoder, M. C. (2004). Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells using human peripheral and umbilical cord blood. *Blood*, *104*(9), 2752-2760. https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1396

Iwai, H., Shimada, H., Nishimura, S., Kobayashi, Y., Itakura, G., Hori, K., Hikishima, K., Ebise, H., Negishi, N., Shibata, S., Habu, S., Toyama, Y., Nakamura, M., & Okano, H. (2015). Allogeneic Neural Stem/Progenitor Cells Derived From Embryonic Stem Cells Promote Functional Recovery After Transplantation Into Injured Spinal Cord of Nonhuman Primates. *Stem Cells Translational Medicine*, *4*(7), 708-719. https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0215

Iyer, K. V., Pulford, S., Mogilner, A., & Shivashankar, G. (2012). Mechanical Activation of Cells Induces Chromatin Remodeling Preceding MKL Nuclear Transport. *Biophysical Journal*, *103*(7), 1416-1428. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.08.041

Janatpour, Z. C., Korotcov, A., Bosomtwi, A., Dardzinski, B. J., & Symes, A. J. (2019). Subcutaneous Administration of Angiotensin-(1-7) Improves Recovery after Traumatic Brain Injury in Mice [Publisher : Mary Ann Liebert, Inc., publishers]. *Journal of Neurotrauma*, *36*(22), 3115-3131. https://doi.org/10.1089/neu.2019.6376

Jaumard, N. V., Leung, J., Gokhale, A. J., Guarino, B. B., Welch, W. C., & Winkelstein, B. A. (2015). Relevant Anatomic and Morphological Measurements of the Rat Spine : Considerations for Rodent Models of Human Spine Trauma. *Spine*, *40*(20), E1084. https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001021

Jia, Z., Zeng, H., Ye, X., Dai, M., Tang, C., & Liu, L. (2023). Hydrogel-based treatments for spinal cord injuries. *Heliyon*, *9*(9), e19933. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19933

Jin, L.-Y., Li, J., Wang, K.-F., Xia, W.-W., Zhu, Z.-Q., Wang, C.-R., Li, X.-F., & Liu, H.-Y. (2021). Blood–Spinal Cord Barrier in Spinal Cord Injury : A Review. *Journal of Neurotrauma*, *38*(9), 1203-1224. https://doi.org/10.1089/neu.2020.7413

Johannes. (2019, avril). Structure de la colonne vertébrale et du système nerveux. Récupérée mars 19, 2024, à partir de https://community.paraplegie.ch/fr/wiki-fr/corps-complications/structure-de-la-colonne-vertebrale-et-du-systeme-nerveux

Ju, G., Wang, J., Wang, Y., & Zhao, X. (2014). Spinal cord contusion. *Neural Regeneration Research*, *9*(8), 789-794. https://doi.org/10.4103/1673-5374.131591

Jung, H. S., Park, K.-H., Cho, Y. M., Chung, S. S., Cho, H. J., Cho, S. Y., Kim, S. J., Kim, S. Y., Lee, H. K., & Park, K. S. (2006). Resistin is secreted from macrophages

in atheromas and promotes atherosclerosis. *Cardiovascular Research*, *69*(1), 76-85. https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.09.015

Jung, S.-Y., Kim, D.-Y., Yune, T. Y., Shin, D.-H., Baek, S.-B., & Kim, C.-J. (2014). Treadmill exercise reduces spinal cord injury-induced apoptosis by activating the PI3K/Akt pathway in rats [Publisher : Spandidos Publications]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *7*(3), 587-593. https://doi.org/10.3892/etm.2013.1451

Juvin, L., Simmers, J., & Morin, D. (2007). Locomotor rhythmogenesis in the isolated rat spinal cord : a phase-coupled set of symmetrical flexion–extension oscillators. *The Journal of Physiology*, *583*(Pt 1), 115-128. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.133413

Kadowaki, T., & Yamauchi, T. (2005). Adiponectin and Adiponectin Receptors. *Endocrine Reviews*, *26*(3), 439-451. https://doi.org/10.1210/er.2005-0005

Kakuta, Y., Adachi, A., Yokohama, M., Horii, T., Mieda, T., Iizuka, Y., Takagishi, K., Chikuda, H., Iizuka, H., & Nakamura, K. (2019). Spontaneous functional full recovery from motor and sensory deficits in adult mice after mild spinal cord injury. *Heliyon*, *5*(6), e01847. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01847

Kang, Y., Ding, H., Zhou, H., Wei, Z., Liu, L., Pan, D., & Feng, S. (2017). Epidemiology of worldwide spinal cord injury : a literature review. *Journal of Neurorestoratology*, *Volume 6*, 1-9. https://doi.org/10.2147/JN.S143236

Karina, K., Rosadi, I., Sobariah, S., Afini, I., Widyastuti, T., & Rosliana, I. (2019). Comparable effect of adipose-derived stromal vascular fraction and mesenchymal stem cells for wound healing : An in vivo study [Number : 10]. *Biomedical Research and Therapy*, *6*(10), 3412-3421. https://doi.org/10.15419/bmrat.v6i10.570

Kayalioglu, G. (2009, janvier). Chapter 10 - Projections from the Spinal Cord to the Brain. In C. Watson, G. Paxinos & G. Kayalioglu (éd.), *The Spinal Cord* (p. 148-167). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374247-6.50014-6

Kazemiha, M., Sarveazad, A., Moradi, F., Ramezanpour, F., Vosoogh, M., Doshmanziari, M., Shariatpanahi, M., & Eftekharzadeh, M. (2019). Histological and Behavioral Alterations Following hADSCs Intravenous Administration in Alzheimer's Rat Model [Number : 1 Publisher : Brieflands]. *Thrita*, *8*(1). https://doi.org/10.5812/thrita.99975

Keikhaei, R., Abdi, E., Darvishi, M., Ghotbeddin, Z., & Hamidabadi, H. G. (2023). Combined treatment of high-intensity interval training with neural stem cell generation on contusive model of spinal cord injury in rats. *Brain and Behavior*, *13*(7), e3043. https://doi.org/10.1002/brb3.3043

Kershaw, E. E., & Flier, J. S. (2004). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *89*(6), 2548-2556. https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395

Khalpey, Z., Janardhanan, R., Konhilas, J., & Hemphill, C. (2014). First in Man : Adipose-derived Stromal Vascular Fraction Cells May Promote Restorative Cardiac

Function. *The American journal of medicine*, *127*(5), e11-e12. https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2013.12.024

Khazaei, S., Keshavarz, G., Bozorgi, A., Nazari, H., & Khazaei, M. (2022). Adipose tissue-derived stem cells : a comparative review on isolation, culture, and differentiation methods. *Cell and Tissue Banking*, *23*(1), 1-16. https://doi.org/10.1007/s10561-021-09905-z

Kim, D. J., Hahn, H. M., Youn, Y.-N., Lee, J. S., Lee, I. J., & Lim, S.-H. (2023). Adipose Derived Stromal Vascular Fraction and Mesenchymal Stem Cells Improve Angiogenesis in a Rat Hindlimb Ischaemia Model. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery : The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery*, S1078–5884(23)00966-8. https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2023.11.036

Kim, J.-C., & Lim, J.-H. (2018). The effects of coordinative locomotor training on coordination and gait in chronic stroke patients : a randomized controlled pilot trial. *Journal of Exercise Rehabilitation*, *14*(6), 1010-1016. https://doi.org/10.12965/jer.1836386.193

Kim, Y.-M., Jin, J.-J., Lee, S.-J., Seo, T.-B., & Ji, E.-S. (2018). Treadmill exercise with bone marrow stromal cells transplantation facilitates neuroprotective effect through BDNF-ERK1/2 pathway in spinal cord injury rats. *Journal of Exercise Rehabilitation*, *14*(3), 335-340. https://doi.org/10.12965/jer.1836264.132

Kiss Bimbova, K., Bacova, M., Kisucka, A., Galik, J., Zavacky, P., & Lukacova, N. (2022). Activation of Three Major Signaling Pathways After Endurance Training and Spinal Cord Injury. *Molecular Neurobiology*, *59*(2), 950-967. https://doi.org/10.1007/s12035-021-02628-y

Kjell, J., & Olson, L. (2016). Rat models of spinal cord injury : from pathology to potential therapies. *Disease Models & Mechanisms*, *9*(10), 1125-1137. https://doi.org/10.1242/dmm.025833

Klarner, T., & Zehr, E. P. (2018). Sherlock Holmes and the curious case of the human locomotor central pattern generator. *Journal of Neurophysiology*, *120*(1), 53-77. https://doi.org/10.1152/jn.00554.2017

Kloc, M., Uosef, A., Ubelaker, H. V., Kubiak, J. Z., & Ghobrial, R. M. (2023). Macrophages and stem/progenitor cells interplay in adipose tissue and skeletal muscle : a review. *Stem Cell Investigation*, *10*, 9. https://doi.org/10.21037/sci-2023-009

Knikou, M. (2012). Plasticity of Corticospinal Neural Control after Locomotor Training in Human Spinal Cord Injury. *Neural Plasticity*, *2012*, 1-13. https://doi.org/10.1155/2012/254948

Koh, M., & Markovich, B. (2024). Neuroanatomy, Spinocerebellar Dorsal Tract. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée avril 20, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556013/

Kokotilo, K. J., Eng, J. J., & Curt, A. (2009). Reorganization and Preservation of Motor Control of the Brain in Spinal Cord Injury : A Systematic Review. *Journal of neurotrauma*, *26*(11), 2113-2126. https://doi.org/10.1089/neu.2008.0688

Krisa, L., Runyen, M., & Detloff, M. R. (2018). Translational Challenges of Rat Models of Upper Extremity Dysfunction After Spinal Cord Injury. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, *24*(3), 195-205. https://doi.org/10.1310/sci2403-195

Krishna, V., Andrews, H., Jin, X., Yu, J., Varma, A., Wen, X., & Kindy, M. (2013). A Contusion Model of Severe Spinal Cord Injury in Rats. *Journal of Visualized Experiments*, (78), 50111. https://doi.org/10.3791/50111

Kurimoto, T., Yin, Y., Habboub, G., Gilbert, H.-Y., Li, Y., Nakao, S., Hafezi-Moghadam, A., & Benowitz, L. I. (2013). Neutrophils Express Oncomodulin and Promote Optic Nerve Regeneration. *The Journal of Neuroscience*, *33*(37), 14816-14824. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5511-12.2013

Kwokdinata, C., Ramanujam, V., Chen, J., de Oliveira, P. N., Nai, M. H., Chooi, W. H., Lim, C. T., Ng, S. Y., David, L., & Chew, S. Y. (2023). Encapsulation of Human Spinal Cord Progenitor Cells in Hyaluronan-Gelatin Hydrogel for Spinal Cord Injury Treatment [Publisher : American Chemical Society]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *15*(44), 50679-50692. https://doi.org/10.1021/acsami.3c07419

Kwon, B. K., Streijger, F., Hill, C. E., Anderson, A. J., Bacon, M., Beattie, M. S., Blesch, A., Bradbury, E. J., Brown, A., Bresnahan, J. C., Case, C. C., Colburn, R. W., David, S., Fawcett, J. W., Ferguson, A. R., Fischer, I., Floyd, C. L., Gensel, J. C., Houle, J. D., … Tetzlaff, W. (2015). Large animal and primate models of spinal cord injury for the testing of novel therapies. *Experimental Neurology*, *269*, 154-168. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.04.008

Kwon, H. M., Hur, S.-M., Park, K.-Y., Kim, C.-K., Kim, Y.-M., Kim, H.-S., Shin, H.-C., Won, M.-H., Ha, K.-S., Kwon, Y.-G., Lee, D. H., & Kim, Y.-M. (2014). Multiple paracrine factors secreted by mesenchymal stem cells contribute to angiogenesis. *Vascular Pharmacology*, *63*(1), 19-28. https://doi.org/10.1016/j.vph.2014.06.004

Lambrechts, M. J., & Cook, J. L. (2021). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Their Neuroprotective Role After an Acute Spinal Cord Injury : A Systematic Review of Animal Models. *Global Spine Journal*, *11*(3), 365-377. https://doi.org/10.1177/2192568220901689

Lang, C., Bradley, P. M., Jacobi, A., Kerschensteiner, M., & Bareyre, F. M. (2013). STAT3 promotes corticospinal remodelling and functional recovery after spinal cord injury [Num Pages : 937 Publisher : John Wiley & Sons, Ltd]. *EMBO reports*, *14*(10), 931-937. https://doi.org/10.1038/embor.2013.117

Laurans, L., & Taleb, S. (2018). IDO, une enzyme dangereuse pour l'obésité [Number : 8-9 Publisher : EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *34*(8-9), 660-661. https://doi.org/10.1051/medsci/20183408010

Le Pimpec-Barthes, F., Gonzalez-Bermejo, J., Hubsch, J.-P., Duguet, A., Morélot-Panzini, C., Riquet, M., & Similowski, T. (2011). Intrathoracic phrenic pacing : a 10-year experience in France. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, *142*(2), 378-383. https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2011.04.033

Leblond, H., L'Espérance, M., Orsal, D., & Rossignol, S. (2003). Treadmill Locomotion in the Intact and Spinal Mouse. *The Journal of Neuroscience*, *23*(36), 11411-11419. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-36-11411.2003

Lecoutre, S., Lambert, M., Drygalski, K., Dugail, I., Maqdasy, S., Hautefeuille, M., & Clément, K. (2022). Importance of the Microenvironment and Mechanosensing in Adipose Tissue Biology [Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)]. *Cells*, *11*(15). https://doi.org/10.3390/cells11152310

Lee, H.-B., Park, S.-W., Kim, I.-K., Kim, J.-H., Kim, D. Y., & Hwang, K.-C. (2020). Adipose tissue derived stromal vascular fraction as an adjuvant therapy in stroke rehabilitation. *Medicine*, *99*(34), e21846. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000021846

Lee, J. K., Emch, G. S., Johnson, C. S., & Wrathall, J. R. (2005). Effect of spinal cord injury severity on alterations of the H-reflex. *Experimental Neurology*, *196*(2), 430-440. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.08.018

Lee, J., & Muzio, M. R. (2024). Neuroanatomy, Extrapyramidal System. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 21, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554542/

Lemon, R. N., & Griffiths, J. (2005). Comparing the function of the corticospinal system in different species : Organizational differences for motor specialization ? [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mus.20333]. *Muscle & Nerve*, *32*(3), 261-279. https://doi.org/10.1002/mus.20333

Lemon, R. N., Kirkwood, P. A., Maier, M. A., Nakajima, K., & Nathan, P. (2004, janvier). Direct and indirect pathways for corticospinal control of upper limb motoneurons in the primate. In *Progress in Brain Research* (p. 263-279, T. 143). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)43026-4

Lemos, J. R., da Cunha, F. A., Lopes, A. J., Guimarães, F. S., do Amaral Vasconcellos, F. V., & dos Santos Vigário, P. (2020). Respiratory muscle training in non-athletes and athletes with spinal cord injury : A systematic review of the effects on pulmonary function, respiratory muscle strength and endurance, and cardiorespiratory fitness based on the FITT principle of exercise prescription [Publisher : IOS Press]. *Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation*, *33*(4), 655-667. https://doi.org/10.3233/BMR-181452

Leonard, A. V., Menendez, J. Y., Pat, B. M., Hadley, M. N., & Floyd, C. L. (2017). Localization of the corticospinal tract within the porcine spinal cord : Implications for experimental modeling of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience Letters*, *648*, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.020

Levi, A. D., Anderson, K. D., Okonkwo, D. O., Park, P., Bryce, T. N., Kurpad, S. N., Aarabi, B., Hsieh, J., & Gant, K. (2019). Clinical Outcomes from a Multi-Center Study of Human Neural Stem Cell Transplantation in Chronic Cervical Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *36*(6), 891-902. https://doi.org/10.1089/neu.2018.5843

Li, C., Zhao, H., & Wang, B. (2020). Mesenchymal stem/stromal cells : Developmental origin, tumorigenesis and translational cancer therapeutics. *Translational Oncology*, *14*(1), 100948. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100948

Li, J., Ji, Z., Wang, Y., Li, T., Luo, J., Li, J., Shi, X., Li, L., He, L., & Wu, W. (2022). Human Adipose-Derived Stem Cells Combined with Nano-Hydrogel Promote Functional Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *Biology*, *11*(5), 781. https://doi.org/10.3390/biology11050781

Li, K., Li, X., Shi, G., Lei, X., Huang, Y., Bai, L., & Qin, C. (2021). Effectiveness and mechanisms of adipose-derived stem cell therapy in animal models of Parkinson's disease : a systematic review and meta-analysis. *Translational Neurodegeneration*, *10*, 14. https://doi.org/10.1186/s40035-021-00238-1

Li, S., Dinh, H. T. P., Matsuyama, Y., Sato, K., & Yamagishi, S. (2022). Molecular Mechanisms in the Vascular and Nervous Systems following Traumatic Spinal Cord Injury. *Life*, *13*(1), 9. https://doi.org/10.3390/life13010009

Li, Y., Gao, Y., Xu, X., Shi, R., Liu, J., Yao, W., & Ke, C. (2017). Slit2/Robo1 promotes synaptogenesis and functional recovery of spinal cord injury. *Neuroreport*, *28*(2), 75-81. https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000715

Li, Y., Li, F., Qin, D., Chen, H., Wang, J., Wang, J., Song, S., Wang, C., Wang, Y., Liu, S., Gao, D., & Wang, Z.-H. (2022). The role of brain derived neurotrophic factor in central nervous system. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *14*, 986443. https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.986443

Li, Y., Yun, K., & Mu, R. (2020). A review on the biology and properties of adipose tissue macrophages involved in adipose tissue physiological and pathophysiological processes. *Lipids in Health and Disease*, *19*, 164. https://doi.org/10.1186/s12944-020-01342-3

Liao, X., Xiao, J., Li, S.-H., Xiao, L.-L., Cheng, B., Fu, X.-B., Cui, T., & Liu, H.-W. (2019). Critical role of the endogenous renin-angiotensin system in maintaining self-renewal and regeneration potential of epidermal stem cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1865*(10), 2647-2656. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.07.006

Lima, R., Monteiro, A., Salgado, A. J., Monteiro, S., & Silva, N. A. (2022). Pathophysiology and Therapeutic Approaches for Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(22), 13833. https://doi.org/10.3390/ijms232213833

Liu, G.-B., Cheng, Y.-X., Feng, Y.-K., Pang, C.-J., Li, Q., Wang, Y., Jia, H., & Tong, X.-J. (2011). Adipose-derived stem cells promote peripheral nerve repair. *Archives of Medical Science*, *4*, 592-596. https://doi.org/10.5114/aoms.2011.24127

London, E. D., Berman, S. M., Chakrapani, S., Delibasi, T., Monterosso, J., Erol, H. K., Paz-Filho, G., Wong, M.-L., & Licinio, J. (2011). Short-Term Plasticity of Gray Matter Associated with Leptin Deficiency and Replacement. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *96*(8), E1212-E1220. https://doi.org/10.1210/jc.2011-0314

Lovejoy, J., Champagne, C., de Jonge, L., Xie, H., & Smith, S. (2008). Increased visceral fat and decreased energy expenditure during the menopausal transition. *International journal of obesity (2005)*, *32*(6), 949-958. https://doi.org/10.1038/ijo.2008.25

Loy, K., & Bareyre, F. (2019). Rehabilitation following spinal cord injury : how animal models can help our understanding of exercise-induced neuroplasticity. *Neural Regeneration Research*, *14*(3), 405. https://doi.org/10.4103/1673-5374.245951

Lucius, R., Gallinat, S., Rosenstiel, P., Herdegen, T., Sievers, J., & Unger, T. (1998). The Angiotensin II Type 2 (AT2) Receptor Promotes Axonal Regeneration in the Optic Nerve of Adult Rats [Publisher : The Rockefeller University Press]. *The Journal of Experimental Medicine*, *188*(4), 661. https://doi.org/10.1084/jem.188.4.661

Lund, M. C., Clausen, B. H., Brambilla, R., & Lambertsen, K. L. (2023). The Role of Tumor Necrosis Factor Following Spinal Cord Injury : A Systematic Review. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *43*(3), 925-950. https://doi.org/10.1007/s10571-022-01229-0

Lund, M. C., Ellman, D. G., Nissen, M., Nielsen, P. S., Nielsen, P. V., Jørgensen, C., Andersen, D. C., Gao, H., Brambilla, R., Degn, M., Clausen, B. H., & Lambertsen, K. L. (2022). The Inflammatory Response after Moderate Contusion Spinal Cord Injury : A Time Study. *Biology*, *11*(6), 939. https://doi.org/10.3390/biology11060939

Ma, F., Morancho, A., Montaner, J., & Rosell, A. (2015). Endothelial progenitor cells and revascularization following stroke. *Brain Research*, *1623*, 150-159. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.02.010

Mackay-Sim, A., Féron, F., Cochrane, J., Bassingthwaighte, L., Bayliss, C., Davies, W., Fronek, P., Gray, C., Kerr, G., Licina, P., Nowitzke, A., Perry, C., Silburn, P., Urquhart, S., & Geraghty, T. (2008). Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human paraplegia : a 3-year clinical trial. *Brain*, *131*(9), 2376-2386. https://doi.org/10.1093/brain/awn173

Malekzadeh, H., Golpayegani, M., Ghodsi, Z., Sadeghi-Naini, M., Asgardoon, M., Baigi, V., Vaccaro, A. R., & Rahimi-Movaghar, V. (2022). Direct Cost of Illness for Spinal Cord Injury : A Systematic Review. *Global Spine Journal*, *12*(6), 1267-1281. https://doi.org/10.1177/21925682211031190

Malekzadeh, H., Tirmizi, Z., Arellano, J. A., Egro, F. M., & Ejaz, A. (2023). Application of Adipose-Tissue Derived Products for Burn Wound Healing. *Pharmaceuticals*, *16*(9), 1302. https://doi.org/10.3390/ph16091302

Manocha, E., Consonni, A., Baggi, F., Ciusani, E., Cocce, V., Paino, F., Tremolada, C., Caruso, A., & Alessandri, G. (2022). CD146+ Pericytes Subset Isolated from Human Micro-Fragmented Fat Tissue Display a Strong Interaction with Endothelial Cells : A Potential Cell Target for Therapeutic Angiogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(10), 5806. https://doi.org/10.3390/ijms23105806

Marinangeli, C., Didier, S., Ahmed, T., Caillerez, R., Domise, M., Laloux, C., Bégard, S., Carrier, S., Colin, M., Marchetti, P., Ghesquière, B., Balschun, D., Buée, L., Kluza, J., & Vingtdeux, V. (2018). AMP-Activated Protein Kinase Is Essential for the Maintenance of Energy Levels during Synaptic Activation. *iScience*, *9*, 1-13. https://doi.org/10.1016/j.isci.2018.10.006

Marques, M. R., Nicola, F. C., Sanches, E. F., Arcego, D. M., Durán-Carabali, L. E., Aristimunha, D., Dalmaz, C., & Netto, C. A. (2018). Locomotor Training Promotes Time-dependent Functional Recovery after Experimental Spinal Cord Contusion. *Neuroscience*, *392*, 258-269. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.08.033

Martin Ginis, K. A., van der Scheer, J. W., Latimer-Cheung, A. E., Barrow, A., Bourne, C., Carruthers, P., Bernardi, M., Ditor, D. S., Gaudet, S., de Groot, S., Hayes, K. C., Hicks, A. L., Leicht, C. A., Lexell, J., Macaluso, S., Manns, P. J., McBride, C. B., Noonan, V. K., Pomerleau, P., … Goosey-Tolfrey, V. L. (2018). Evidence-based scientific exercise guidelines for adults with spinal cord injury : an update and a new guideline. *Spinal Cord*, *56*(4), 308-321. https://doi.org/10.1038/s41393-017-0017-3

Martinez, M., Brezun, J.-M., Zennou-Azogui, Y., Baril, N., & Xerri, C. (2009). Sensorimotor training promotes functional recovery and somatosensory cortical map reactivation following cervical spinal cord injury [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1460-9568.2009.07019.x]. *European Journal of Neuroscience*, *30*(12), 2356-2367. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.07019.x

Martinez, M., Delcour, M., Russier, M., Zennou-Azogui, Y., Xerri, C., Coq, J.-O., & Brezun, J.-M. (2010). Differential tactile and motor recovery and cortical map alteration after C4–C5 spinal hemisection. *Experimental Neurology*, *221*(1), 186-197. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.10.022

Martinez, M., Delivet-Mongrain, H., Leblond, H., & Rossignol, S. (2012). Effect of Locomotor Training in Completely Spinalized Cats Previously Submitted to a Spinal Hemisection. *The Journal of Neuroscience*, *32*(32), 10961-10970. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1578-12.2012

Martinez, M., Delivet-Mongrain, H., & Rossignol, S. (2013). Treadmill training promotes spinal changes leading to locomotor recovery after partial spinal cord injury in cats. *Journal of Neurophysiology*, *109*(12), 2909-2922. https://doi.org/10.1152/jn.01044.2012

Massoto, T. B., Santos, A. C. R., Ramalho, B. S., Almeida, F. M., Martinez, A. M. B., & Marques, S. A. (2020). Mesenchymal stem cells and treadmill training enhance function and promote tissue preservation after spinal cord injury. *Brain Research*, *1726*, 146494. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146494

Mateos, L., Perez-Alvarez, M. J., & Wandosell, F. (2016). Angiotensin II type-2 receptor stimulation induces neuronal VEGF synthesis after cerebral ischemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1862*(7), 1297-1308. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.03.013

Mattei, A., Magalon, J., Bertrand, B., Grimaud, F., Revis, J., Velier, M., Veran, J., Dessi, P., Sabatier, F., & Giovanni, A. (2018). Autologous adipose-derived stromal vascular fraction and scarred vocal folds : first clinical case report. *Stem Cell Research & Therapy*, *9*(1), 202. https://doi.org/10.1186/s13287-018-0842-0

Mazini, L., Rochette, L., Amine, M., & Malka, G. (2019). Regenerative Capacity of Adipose Derived Stem Cells (ADSCs), Comparison with Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(10), 2523. https://doi.org/10.3390/ijms20102523

McGregor, G., & Harvey, J. (2018). Regulation of Hippocampal Synaptic Function by the Metabolic Hormone, Leptin : Implications for Health and Neurodegenerative Disease [Publisher : Frontiers]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *12*. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00340

Medina, R. J., Barber, C. L., Sabatier, F., Dignat-George, F., Melero-Martin, J. M., Khosrotehrani, K., Ohneda, O., Randi, A. M., Chan, J. K., Yamaguchi, T., Van Hinsbergh, V. W., Yoder, M. C., & Stitt, A. W. (2017). Endothelial Progenitors : A Consensus Statement on Nomenclature. *Stem Cells Translational Medicine*, *6*(5), 1316-1320. https://doi.org/10.1002/sctm.16-0360

Meirelles, L. D. S., Chagastelles, P. C., & Nardi, N. B. (2006). Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of Cell Science*, *119*(11), 2204-2213. https://doi.org/10.1242/jcs.02932

Melero-Martin, J. M. (2022). Human Endothelial Colony-Forming Cells. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, a041154. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041154

Memberg, S. P., & Hall, A. K. (1995). Dividing neuron precursors express neuron-specific tubulin [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/neu.480270104]. *Journal of Neurobiology*, *27*(1), 26-43. https://doi.org/10.1002/neu.480270104

Mendonça, M. V. P., Larocca, T. F., de Freitas Souza, B. S., Villarreal, C. F., Silva, L. F. M., Matos, A. C., Novaes, M. A., Bahia, C. M. P., de Oliveira Melo Martinez, A. C., Kaneto, C. M., Furtado, S. B. C., Sampaio, G. P., Soares, M. B. P., & dos Santos, R. R. (2014). Safety and neurological assessments after autologous transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells in subjects

with chronic spinal cord injury. *Stem Cell Research & Therapy*, *5*(6), 126. https://doi.org/10.1186/scrt516

Menezes, K., Rosa, B. G., Freitas, C., da Cruz, A. S., de Siqueira Santos, R., Nascimento, M. A., Alves, D. V. L., Bonamino, M., Rossi, M. I., Borojevic, R., & Coelho-Sampaio, T. (2020). Human mesenchymal stromal/stem cells recruit resident pericytes and induce blood vessels maturation to repair experimental spinal cord injury in rats. *Scientific Reports*, *10*, 19604. https://doi.org/10.1038/s41598-020-76290-0

Merritt, C. H., Taylor, M. A., Yelton, C. J., & Ray, S. K. (2019). Economic impact of traumatic spinal cord injuries in the United States. *Neuroimmunology and neuroinflammation*, *6*, 9. https://doi.org/10.20517/2347-8659.2019.15

Miana, V. V., & González, E. A. P. (2018). Adipose tissue stem cells in regenerative medicine. *ecancermedicalscience*, *12*, 822. https://doi.org/10.3332/ecancer.2018.822

Miao, J., Shen, L.-H., Tang, Y.-H., Wang, Y.-T., Tao, M.-X., Jin, K.-L., Zhao, Y.-J., & Yang, G.-Y. (2013). Overexpression of Adiponectin Improves Neurobehavioral Outcomes After Focal Cerebral Ischemia in Aged Mice. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, *19*(12), 969-977. https://doi.org/10.1111/cns.12198

Michalek, J., Vrablikova, A., Heinrich, K. G., & Dudasova, Z. (2019). Stromal Vascular Fraction Cell Therapy for a Stroke Patient—Cure without Side Effects. *Brain Sciences*, *9*(3), 55. https://doi.org/10.3390/brainsci9030055

Minassian, K., Bayart, A., Lackner, P., Binder, H., Freundl, B., & Hofstoetter, U. S. (2023). Rare phenomena of central rhythm and pattern generation in a case of complete spinal cord injury. *Nature Communications*, *14*, 3276. https://doi.org/10.1038/s41467-023-39034-y

Minassian, K., Hofstoetter, U. S., Dzeladini, F., Guertin, P. A., & Ijspeert, A. (2017). The Human Central Pattern Generator for Locomotion : Does It Exist and Contribute to Walking ? *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *23*(6), 649-663. https://doi.org/10.1177/1073858417699790

Mohamed, M. H., Mohamed, H. G., & Ebrahim, R. H. (2024). Adiponectin Decreased Aquaporin 4 MRNA Expression in Rat Model of Type 1 Diabetic Retinopathy, Can It Prevent Retinal Edema ? [Publisher : Pan Arab League of Continuous Medical Education]. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, *94*(1), 682-688. https://doi.org/10.21608/ejhm.2024.341827

Mohammadi, R., Sanaei, N., Ahsan, S., Masoumi-Verki, M., Khadir, F., & Mokarizadeh, A. (2015). Stromal vascular fraction combined with silicone rubber chamber improves sciatic nerve regeneration in diabetes. *Chinese Journal of Traumatology*, *18*(4), 212-218. https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2014.10.005

Molteni, R., Zheng, J.-Q., Ying, Z., Gómez-Pinilla, F., & Twiss, J. L. (2004). Voluntary exercise increases axonal regeneration from sensory neurons. *Proceedings of*

the National Academy of Sciences, *101*(22), 8473-8478. https://doi.org/10.1073/pnas.0401443101

Moreno-López, Y., Olivares-Moreno, R., Cordero-Erausquin, M., & Rojas-Piloni, G. (2016). Sensorimotor Integration by Corticospinal System [Publisher : Frontiers]. *Frontiers in Neuroanatomy*, *10*. https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00024

Morita, T., Sasaki, M., Kataoka-Sasaki, Y., Nakazaki, M., Nagahama, H., Oka, S., Oshigiri, T., Takebayashi, T., Yamashita, T., Kocsis, J. D., & Honmou, O. (2016). Intravenous infusion of mesenchymal stem cells promotes functional recovery in a model of chronic spinal cord injury. *Neuroscience*, *335*, 221-231. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.08.037

Morrison, S. A., Lorenz, D., Eskay, C. P., Forrest, G. F., & Basso, D. M. (2018). Longitudinal Recovery and Reduced Costs After 120 Sessions of Locomotor Training for Motor Incomplete Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *99*(3), 555-562. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2017.10.003

Muir, G. D., & Whishaw, I. Q. (1999). Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions : measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats. *Behavioural Brain Research*, *103*(1), 45-53. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00018-2

Murray, I. R., West, C. C., Hardy, W. R., James, A. W., Park, T. S., Nguyen, A., Tawonsawatruk, T., Lazzari, L., Soo, C., & Péault, B. (2014). Natural history of mesenchymal stem cells, from vessel walls to culture vessels. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *71*(8), 1353-1374. https://doi.org/10.1007/s00018-013-1462-6

Musienko, P., Heutschi, J., Friedli, L., Den Brand, R. V., & Courtine, G. (2012). Multi-system neurorehabilitative strategies to restore motor functions following severe spinal cord injury. *Experimental Neurology*, *235*(1), 100-109. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.08.025

Muthu, S., Jeyaraman, M., Gulati, A., & Arora, A. (2021). Current evidence on mesenchymal stem cell therapy for traumatic spinal cord injury : systematic review and meta-analysis. *Cytotherapy*, *23*(3), 186-197. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.09.007

Na, S., Collin, O., Chowdhury, F., Tay, B., Ouyang, M., Wang, Y., & Wang, N. (2008). Rapid signal transduction in living cells is a unique feature of mechanotransduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(18), 6626-6631. https://doi.org/10.1073/pnas.0711704105

Naeimi, A., Zaminy, A., Amini, N., Balabandi, R., & Golipoor, Z. (2022). Effects of melatonin-pretreated adipose-derived mesenchymal stem cells (MSC) in an animal model of spinal cord injury. *BMC Neuroscience*, *23*(1), 65. https://doi.org/10.1186/s12868-022-00752-6

Nandakumar, B., Blumenthal, G. H., Disse, G. D., Desmond, P. C., Ebinu, J. O., Ricard, J., Bethea, J. R., & Moxon, K. A. (2023). Exercise therapy guides cortical reorganization after midthoracic spinal contusion to enhance control of lower thoracic muscles, supporting functional recovery. *Experimental Neurology*, *364*, 114394. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114394

Nardone, R., Golaszewski, S., & Trinka, E. (2022, janvier). Chapter 25 - Linking sensorimotor plasticity, the motor cortex, and spinal cord injury. In R. Rajendram, V. R. Preedy & C. R. Martin (éd.), *Cellular, Molecular, Physiological, and Behavioral Aspects of Spinal Cord Injury* (p. 301-313). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822427-4.00025-3

Nardone, R., Höller, Y., Sebastianelli, L., Versace, V., Saltuari, L., Brigo, F., Lochner, P., & Trinka, E. (2018). Cortical morphometric changes after spinal cord injury. *Brain Research Bulletin*, *137*, 107-119. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.11.013

Nathan, P. W., & Smith, M. C. (1955). SPINO-CORTICAL FIBRES IN MAN. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *18*(3), 181-190. https://doi.org/10.1136/jnnp.18.3.181

Nawrotek, K., Marqueste, T., Modrzejewska, Z., Zarzycki, R., Rusak, A., & Decherchi, P. (2017). Thermogelling chitosan lactate hydrogel improves functional recovery after a C2 spinal cord hemisection in rat. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, *105*(7), 2004-2019. https://doi.org/10.1002/jbm.a.36067

Nedergaard, J., & Cannon, B. (2014). The Browning of White Adipose Tissue : Some Burning Issues. *Cell Metabolism*, *20*(3), 396-407. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.07.005

Ng, R. C.-L., Jian, M., Ma, O. K.-F., Bunting, M., Kwan, J. S.-C., Zhou, G.-J., Senthilkumar, K., Iyaswamy, A., Chan, P.-K., Li, M., Leung, K. M.-Y., Kumar Durairajan, S.-S., Lam, K. S.-L., Chu, L.-W., Festenstein, R., Chung, S. K., & Chan, K.-H. (2021). Chronic oral administration of adipoRon reverses cognitive impairments and ameliorates neuropathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Molecular Psychiatry*, *26*(10), 5669-5689. https://doi.org/10.1038/s41380-020-0701-0

Nithianantharajah, J., & Hannan, A. J. (2006). Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system [Number : 9 Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature Reviews Neuroscience*, *7*(9), 697-709. https://doi.org/10.1038/nrn1970

Nógrádi, A., Szabó, A., Pintér, S., & Vrbová, G. (2007). Delayed riluzole treatment is able to rescue injured rat spinal motoneurons. *Neuroscience*, *144*(2), 431-438. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.09.046

Nógrádi, A., & Vrbová, G. (2006). Anatomy and Physiology of the Spinal Cord. In A. Nógrádi (éd.), *Transplantation of Neural Tissue into the Spinal Cord* (p. 1-23). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-32633-2_1

Ohta, Y., Hamaguchi, A., Ootaki, M., Watanabe, M., Takeba, Y., Iiri, T., Matsumoto, N., & Takenaga, M. (2017). Intravenous infusion of adipose-derived stem/stromal cells improves functional recovery of rats with spinal cord injury [Publisher : Elsevier]. *Cytotherapy*, *19*(7), 839-848. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.04.002

Ohtake, Y., & Li, S. (2015). Molecular mechanisms of scar-sourced axon growth inhibitors. *Brain Research*, *1619*, 22-35. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.08.064

Okuda, A., Horii-Hayashi, N., Sasagawa, T., Shimizu, T., Shigematsu, H., Iwata, E., Morimoto, Y., Masuda, K., Koizumi, M., Akahane, M., Nishi, M., & Tanaka, Y. (2017). Bone marrow stromal cell sheets may promote axonal regeneration and functional recovery with suppression of glial scar formation after spinal cord transection injury in rats [Publisher : American Association of Neurological Surgeons Section : Journal of Neurosurgery : Spine]. *Journal of Neurosurgery : Spine*, *26*(3), 388-395. https://doi.org/10.3171/2016.8.SPINE16250

Onoi, Y., Matsumoto, T., Sobajima, S., Tsubosaka, M., Hayashi, S., Matsushita, T., Iwaguro, H., & Kuroda, R. (2023). Clinical use of autologous adipose-derived stromal vascular fraction cell injections for hip osteoarthritis. *Regenerative Therapy*, *24*, 94-102. https://doi.org/10.1016/j.reth.2023.06.006

Oscarsson, O. (1965). Functional Organization of the Spino- and Cuneocerebellar Tracts. *Physiological Reviews*. https://doi.org/10.1152/physrev.1965.45.3.495

O'Shea, T. M., Burda, J. E., & Sofroniew, M. V. (2017). Cell biology of spinal cord injury and repair. *Journal of Clinical Investigation*, *127*(9), 3259-3270. https://doi.org/10.1172/JCI90608

Ou, Y., Yuan, X.-d., Cai, Y.-n., & Lu, Y.-h. (2011). Ultrastructure and electrophysiology of astrocytes differentiated from adult adipose-derived stromal cells. *Chinese Medical Journal*, *124*(17), 2656. https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.17.016

Ouchi, N., & Walsh, K. (2007). Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clinica Chimica Acta*, *380*(1-2), 24-30. https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.01.026

Oyinbo, C. (2011). Secondary injury mechanisms in traumatic spinal cord injury : a nugget of this multiply cascade [Number : 2]. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, *71*(2), 281-299. https://doi.org/10.55782/ane-2011-1848

Panatier, A., & Robitaille, R. (2012). L'astrocyte, un partenaire clé des neurones au cours de la transmission synaptique de base [Number : 6-7 Publisher : Éditions EDK, Groupe EDP Sciences]. *médecine/sciences*, *28*(6-7), 582-584. https://doi.org/10.1051/medsci/2012286009

Parimisetty, A., Dorsemans, A.-C., Awada, R., Ravanan, P., Diotel, N., & Lefebvre d'Hellencourt, C. (2016). Secret talk between adipose tissue and central nervous

system via secreted factors—an emerging frontier in the neurodegenerative research. *Journal of Neuroinflammation*, *13*(1), 67. https://doi.org/10.1186/s12974-016-0530-x

Park, J., Decker, J. T., Margul, D. J., Smith, D. R., Cummings, B. J., Anderson, A. J., & Shea, L. D. (2018). Local Immunomodulation with Anti-inflammatory Cytokine-Encoding Lentivirus Enhances Functional Recovery after Spinal Cord Injury [Publisher : Elsevier]. *Molecular Therapy*, *26*(7), 1756-1770. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.04.022

Park, K. K., Liu, K., Hu, Y., Smith, P. D., Wang, C., Cai, B., Xu, B., Connolly, L., Kramvis, I., Sahin, M., & He, Z. (2008). Promoting Axon Regeneration in the Adult CNS by Modulation of the PTEN/mTOR Pathway. *Science (New York, N.Y.)*, *322*(5903), 963-966. https://doi.org/10.1126/science.1161566

Paz-Filho, G. J. (2016). The Effects of Leptin Replacement on Neural Plasticity [Publisher : Hindawi]. *Neural Plasticity*, *2016*, e8528934. https://doi.org/10.1155/2016/8528934

Perdomo-Pantoja, A., Holmes, C., Cottrill, E., Rindone, A. N., Ishida, W., Taylor, M., Tomberlin, C., Lo, S.-F. L., Grayson, W. L., & Witham, T. F. (2021). Comparison of Freshly Isolated Adipose Tissue-derived Stromal Vascular Fraction and Bone Marrow Cells in a Posterolateral Lumbar Spinal Fusion Model. *Spine*, *46*(10), 631-637. https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000003709

Perez, M. A., Lungholt, B. K. S., Nyborg, K., & Nielsen, J. B. (2004). Motor skill training induces changes in the excitability of the leg cortical area in healthy humans. *Experimental Brain Research*, *159*(2), 197-205. https://doi.org/10.1007/s00221-004-1947-5

Pertici, V., Amendola, J., Laurin, J., Gigmes, D., Madaschi, L., Carelli, S., Marqueste, T., Gorio, A., & Decherchi, P. (2013). The Use of Poly(N-[2-Hydroxypropyl]-Methacrylamide) Hydrogel to Repair a T10 Spinal Cord Hemisection in Rat : A Behavioural, Electrophysiological and Anatomical Examination. *ASN Neuro*, *5*(2), AN20120082. https://doi.org/10.1042/AN20120082

Picoli, C. d. C., Birbrair, A., & Li, Z. (2024). Pericytes as the Orchestrators of Vasculature and Adipogenesis [Number : 1 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *Genes*, *15*(1), 126. https://doi.org/10.3390/genes15010126

Pinteaux, E., Inoue, W., Schmidt, L., Molina-Holgado, F., Rothwell, N. J., & Luheshi, G. N. (2007). Leptin induces interleukin-1 release from rat microglial cells through a caspase 1 independent mechanism [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1471-4159.2007.04559.x]. *Journal of Neurochemistry*, *102*(3), 826-833. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04559.x

Plog, B. A., & Nedergaard, M. (2018). The glymphatic system in CNS health and disease : past, present and future. *Annual review of pathology*, *13*, 379-394. https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-051217-111018

Popovich, P. G., Wei, P., & Stokes, B. T. (1997). Cellular inflammatory response after spinal cord injury in sprague-dawley and lewis rats [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/%28SICI%291096-9861%2819970120%29377%3A3%3C443%3A%3AAID-CNE10%3E3.0.CO%3B2-S]. *Journal of Comparative Neurology*, *377*(3), 443-464. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970120)377:3<443::AID-CNE10>3.0.CO;2-S

Poulos, J. (2018). The limited application of stem cells in medicine : a review. *Stem Cell Research & Therapy*, *9*(1), 1. https://doi.org/10.1186/s13287-017-0735-7

Pousti, F., Ahmadi, R., Mirahmadi, F., Hosseinmardi, N., & Rohampour, K. (2018). Adiponectin modulates synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience Letters*, *662*, 227-232. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.10.042

Premaratne, G. U., Ma, L.-P., Fujita, M., Lin, X., Bollano, E., & Fu, M. (2011). Stromal Vascular Fraction Transplantation as an Alternative Therapy for Ischemic Heart Failure : Anti-inflammatory Role. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, *6*(1), 43. https://doi.org/10.1186/1749-8090-6-43

Priebe, M. M., Chiodo, A. E., Scelza, W. M., Kirshblum, S. C., Wuermser, L.-A., & Ho, C. H. (2007). Spinal Cord Injury Medicine. 6. Economic and Societal Issues in Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *88*(3, Supplement 1), S84-S88. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2006.12.005

Protas, E. J., Holmes, S., Qureshy, H., Johnson, A., Lee, D., & Sherwood, A. M. (2001). Supported treadmill ambulation training after spinal cord injury : A pilot study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *82*(6), 825-831. https://doi.org/10.1053/apmr.2001.23198

Pruitt, B. L., Dunn, A. R., Weis, W. I., & Nelson, W. J. (2014). Mechano-Transduction : From Molecules to Tissues. *PLoS Biology*, *12*(11), e1001996. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001996

Prunet-Marcassus, B., Cousin, B., Caton, D., André, M., Pénicaud, L., & Casteilla, L. (2006). From heterogeneity to plasticity in adipose tissues : site-specific differences. *Experimental Cell Research*, *312*(6), 727-736. https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.11.021

Pukos, N., Marion, C. M., Arnold, W. D., Noble, B. T., Popovich, P. G., & McTigue, D. M. (2023). Chronic demyelination and myelin repair after spinal cord injury in mice : A potential link for glutamatergic axon activity. *Glia*, *71*(9), 2096-2116. https://doi.org/10.1002/glia.24382

Qi, Z., Middleton, J. W., & Malcolm, A. (2018). Bowel Dysfunction in Spinal Cord Injury. *Current Gastroenterology Reports*, *20*(10), 47. https://doi.org/10.1007/s11894-018-0655-4

Quilgars, C., & Bertrand, S. S. (2019). Activity-dependent synaptic dynamics in motor circuits of the spinal cord. *Current Opinion in Physiology*, *8*, 44-49. https://doi.org/10.1016/j.cophys.2018.12.011

Ra, J. C., Shin, I. S., Kim, S. H., Kang, S. K., Kang, B. C., Lee, H. Y., Kim, Y. J., Jo, J. Y., Yoon, E. J., Choi, H. J., & Kwon, E. (2011). Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans. *Stem Cells and Development*, *20*(8), 1297-1308. https://doi.org/10.1089/scd.2010.0466

Rafiei Alavi, S. N., Madani Neishaboori, A., Hossein, H., Sarveazad, A., & Yousefifard, M. (2021). Efficacy of adipose tissue-derived stem cells in locomotion recovery after spinal cord injury : a systematic review and meta-analysis on animal studies. *Systematic Reviews*, *10*(1), 213. https://doi.org/10.1186/s13643-021-01771-w

Raineteau, O., & Schwab, M. E. (2001). Plasticity of motor systems after incomplete spinal cord injury. *Nature Reviews Neuroscience*, *2*(4), 263-273. https://doi.org/10.1038/35067570

Raisman, G. (1969). Neuronal plasticity in the septal nuclei of the adult rat. *Brain Research*, *14*(1), 25-48. https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90029-8

Raju, H., & Tadi, P. (2024). Neuroanatomy, Somatosensory Cortex. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 21, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555915/

Ramakrishnan, V. M., & Boyd, N. L. (2018). The Adipose Stromal Vascular Fraction as a Complex Cellular Source for Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, *24*(4), 289-299. https://doi.org/10.1089/ten.teb.2017.0061

Ramakrishnan, V. M., Tien, K. T., McKinley, T. R., Bocard, B. R., McCurry, T. M., Williams, S. K., Hoying, J. B., & Boyd, N. L. (2016). Wnt5a Regulates the Assembly of Human Adipose Derived Stromal Vascular Fraction-Derived Microvasculatures. *PLoS ONE*, *11*(3), e0151402. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151402

Ramon y Cajal, S. (1928). DEGENERATION AND REGENERATION OF THE NERVOUS SYSTEM.

Rasmussen, R., & Carlsen, E. M. (2016). Spontaneous Functional Recovery from Incomplete Spinal Cord Injury. *The Journal of Neuroscience*, *36*(33), 8535-8537. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1684-16.2016

Reese, N. B., Skinner, R. D., Mitchell, D., Yates, C., Barnes, C. N., Kiser, T. S., & Garcia-Rill, E. (2006). Restoration of frequency-dependent depression of the H-reflex by passive exercise in spinal rats. *Spinal Cord*, *44*(1), 28-34. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3101810

Regenhardt, R. W., Desland, F., Mecca, A. P., Pioquinto, D. J., Afzal, A., Mocco, J., & Sumners, C. (2013). Anti-inflammatory effects of angiotensin-(1-7) in ischemic stroke. *Neuropharmacology*, *71*, 154-163. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.03.025

Ren, H., Chen, X., Tian, M., Zhou, J., Ouyang, H., & Zhang, Z. (2018). Regulation of Inflammatory Cytokines for Spinal Cord Injury Repair Through Local Delivery of

Therapeutic Agents. *Advanced Science*, *5*(11), 1800529. https://doi.org/10.1002/advs.201800529

Rexed, B. (1954). A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *The Journal of Comparative Neurology*, *100*(2), 297-379. https://doi.org/10.1002/cne.901000205

Riek, S., & Bawa, P. (1992). Recruitment of motor units in human forearm extensors [Publisher : American Physiological Society]. *Journal of Neurophysiology*, *68*(1), 100-108. https://doi.org/10.1152/jn.1992.68.1.100

Rigotti, G., Marchi, A., Galiè, M., Baroni, G., Benati, D., Krampera, M., Pasini, A., & Sbarbati, A. (2007). Clinical Treatment of Radiotherapy Tissue Damage by Lipoaspirate Transplant : A Healing Process Mediated by Adipose-Derived Adult Stem Cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *119*(5), 1409. https://doi.org/10.1097/01.prs.0000256047.47909.71

Riordan, N. H., Ichim, T. E., Min, W.-P., Wang, H., Solano, F., Lara, F., Alfaro, M., Rodriguez, J. P., Harman, R. J., Patel, A. N., Murphy, M. P., Lee, R. R., & Minev, B. (2009). Non-expanded adipose stromal vascular fraction cell therapy for multiple sclerosis. *Journal of Translational Medicine*, *7*(1), 29. https://doi.org/10.1186/1479-5876-7-29

Risedal, A., Zeng, R., & Johansson, B. B. (1999). Early Training May Exacerbate Brain Damage after Focal Brain Ischemia in the Rat [Publisher : SAGE Publications Ltd STM]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *19*(9), 997-1003. https://doi.org/10.1097/00004647-199909000-00007

Rosenzweig, E. S., Courtine, G., Jindrich, D. L., Brock, J. H., Ferguson, A. R., Strand, S. C., Nout, Y. S., Roy, R. R., Miller, D. M., Beattie, M. S., Havton, L. A., Bresnahan, J. C., Edgerton, V. R., & Tuszynski, M. H. (2010). Extensive spontaneous plasticity of corticospinal projections after primate spinal cord injury. *Nature Neuroscience*, *13*(12), 1505-1510. https://doi.org/10.1038/nn.2691

Roshdy, O. H., Abdallah, W. I., Farid, C. I., Mehanna, R. A., Bayoumi, N. H., & Ismail, A. I. (2022). Stromal vascular fraction improves the durability of autologous fat temple augmentation—A split-face randomized study using ultrasound biomicroscopy. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, *75*(6), 1870-1877. https://doi.org/10.1016/j.bjps.2021.12.005

Rossignol, S., Dubuc, R., & Gossard, J.-P. (2006). Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiological Reviews*, *86*(1), 89-154. https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2005

Rossignol, S., Martinez, M., Escalona, M., Kundu, A., Delivet-Mongrain, H., Alluin, O., & Gossard, J.-P. (2015). The "beneficial" effects of locomotor training after various types of spinal lesions in cats and rats. In *Progress in Brain Research* (p. 173-198, T. 218). Elsevier. https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2014.12.009

Rowald, A., Komi, S., Demesmaeker, R., Baaklini, E., Hernandez-Charpak, S. D., Paoles, E., Montanaro, H., Cassara, A., Becce, F., Lloyd, B., Newton, T., Ravier, J., Kinany, N., D'Ercole, M., Paley, A., Hankov, N., Varescon, C., McCracken, L., Vat, M., … Courtine, G. (2022). Activity-dependent spinal cord neuromodulation rapidly restores trunk and leg motor functions after complete paralysis. *Nature Medicine*, *28*(2), 260-271. https://doi.org/10.1038/s41591-021-01663-5

Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen.

Russo, M. V., & McGavern, D. B. (2016). Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury. *Science (New York, N.Y.)*, *353*(6301), 783-785. https://doi.org/10.1126/science.aaf6260

Ryu, B., Sekine, H., Homma, J., Kobayashi, T., Kobayashi, E., Kawamata, T., & Shimizu, T. (2019). Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell sheet that produces neurological improvement with angiogenesis and neurogenesis in a rat stroke model. *Journal of Neurosurgery*, *132*(2), 442-455. https://doi.org/10.3171/2018.11.JNS182331

Ryu, Y., Ogata, T., Nagao, M., Sawada, Y., Nishimura, R., & Fujita, N. (2018). Effects of Treadmill Training Combined with Serotonergic Interventions on Spasticity after Contusive Spinal Cord Injury. *Journal of Neurotrauma*, *35*(12), 1358-1366. https://doi.org/10.1089/neu.2017.5400

Saito, N., Shirado, T., Funabashi-Eto, H., Wu, Y., Mori, M., Asahi, R., & Yoshimura, K. (2022). Purification and characterization of human adipose-resident microvascular endothelial progenitor cells [Publisher : Nature Publishing Group]. *Scientific Reports*, *12*(1), 1775. https://doi.org/10.1038/s41598-022-05760-4

Sakers, A., De Siqueira, M. K., Seale, P., & Villanueva, C. J. (2022). Adipose-tissue plasticity in health and disease. *Cell*, *185*(3), 419-446. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.016

Salameh, T. S., MORTELL, W., & BANKS, W. A. (2018). Resistin Is Associated with Blood-Brain Barrier Disruption in Mice Resistant to Diet-Induced Obesity and Treated with Topiramate. *Diabetes*, *67*(Supplement_1), 2043-P. https://doi.org/10.2337/db18-2043-P

Sananta, P., Dradjat, R. S., Rosandi, R. D., & Siahaan, L. D. (2022). TGF-1 biomarker level evaluation on fracture healing in a murine model with a bone defect after stromal vascular fraction application. *Medicinski Glasnik*, *19*(1).

Sandrow-Feinberg, H. R., Izzi, J., Shumsky, J. S., Zhukareva, V., & Houle, J. D. (2009). Forced Exercise as a Rehabilitation Strategy after Unilateral Cervical Spinal Cord Contusion Injury. *Journal of Neurotrauma*, *26*(5), 721-731. https://doi.org/10.1089/neu.2008.0750

Santillan, A., Nacarino, V., Greenberg, E., Riina, H. A., Gobin, Y. P., & Patsalides, A. (2012). Vascular anatomy of the spinal cord. *Journal of NeuroInterventional Surgery*, *4*(1), 67-74. https://doi.org/10.1136/neurintsurg-2011-010018

Santo, S. D., Seiler, S., Guzman, R., & Widmer, H. R. (2020). Endothelial Progenitor Cell-Derived Factors Exert Neuroprotection in Cultured Cortical Neuronal Progenitor Cells. *Cell Transplantation*, *29*, 0963689720912689. https://doi.org/10.1177/0963689720912689

Sarveazad, A., Babahajian, A., Bakhtiari, M., Soleimani, M., Behnam, B., Yari, A., Akbari, A., Yousefifard, M., Janzadeh, A., Amini, N., Agah, S., Fallah, A., & Joghataei, M. T. (2017). The combined application of human adipose derived stem cells and Chondroitinase ABC in treatment of a spinal cord injury model. *Neuropeptides*, *61*, 39-47. https://doi.org/10.1016/j.npep.2016.07.004

Satti, H. S., Waheed, A., Ahmed, P., Ahmed, K., Akram, Z., Aziz, T., Satti, T. M., Shahbaz, N., Khan, M. A., & Malik, S. A. (2016). Autologous mesenchymal stromal cell transplantation for spinal cord injury : A Phase I pilot study. *Cytotherapy*, *18*(4), 518-522. https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2016.01.004

Schafer, D. P., Lehrman, E. K., & Stevens, B. (2013). The "quad-partite" synapse : Microglia-synapse interactions in the developing and mature CNS [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/glia.22389]. *Glia*, *61*(1), 24-36. https://doi.org/10.1002/glia.22389

Schaffran, B., & Bradke, F. (2019). Reproducibility – The key towards clinical implementation of spinal cord injury treatments ? *Experimental Neurology*, *313*, 135-136. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2018.12.010

Scheff, S. W., Rabchevsky, A. G., Fugaccia, I., Main, J. A., & Lumpp, J. E. (2003). Experimental Modeling of Spinal Cord Injury : Characterization of a Force-Defined Injury Device. *Journal of Neurotrauma*, *20*(2), 179-193. https://doi.org/10.1089/08977150360547099

Schwab, M. E., & Strittmatter, S. M. (2014). Nogo limits neural plasticity and recovery from injury. *Current opinion in neurobiology*, *0*, 53-60. https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.02.011

Scremin, O. U. (2009, janvier). Chapter 5 - The Spinal Cord Blood Vessels. In C. Watson, G. Paxinos & G. Kayalioglu (éd.), *The Spinal Cord* (p. 57-63). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374247-6.50009-2

Sebbagh, A. C., Rosenbaum, B., Péré, G., Alric, H., Berger, A., Wilhelm, C., Gazeau, F., Mathieu, N., Rahmi, G., & Silva, A. K. A. (2021). Regenerative medicine for digestive fistulae therapy : Benefits, challenges and promises of stem/stromal cells and emergent perspectives via their extracellular vesicles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *179*, 113841. https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113841

Seblani, M., Decherchi, P., & Brezun, J.-M. (2023). Edema after CNS Trauma : A Focus on Spinal Cord Injury. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(8), 7159. https://doi.org/10.3390/ijms24087159

Seblani, M., Ertlen, C., Coyle, T., Decherchi, P., & Brezun, J.-M. (2024). Combined effect of trifluoperazine and sodium cromoglycate on reducing acute edema and limiting lasting functional impairments after spinal cord injury in rats. *Experimental Neurology*, *372*, 114612. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2023.114612

Sehgal, I., & M Das, J. (2024). Anatomy, Back, Spinal Meninges. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 20, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547755/

Semler, J., Wellmann, K., Wirth, F., Stein, G., Angelova, S., Ashrafi, M., Schempf, G., Ankerne, J., Ozsoy, O., Ozsoy, U., Schönau, E., Angelov, D. N., & Irintchev, A. (2011). Objective Measures of Motor Dysfunction after Compression Spinal Cord Injury in Adult Rats : Correlations with Locomotor Rating Scores. *Journal of Neurotrauma*, *28*(7), 1247-1258. https://doi.org/10.1089/neu.2010.1737

Senesi, L., De Francesco, F., Marchesini, A., Pangrazi, P. P., Bertolini, M., Riccio, V., & Riccio, M. (2023). Efficacy of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Stromal Vascular Fraction Alone and Combined to Biomaterials in Tendinopathy or Tendon Injury : Systematic Review of Current Concepts. *Medicina*, *59*(2), 273. https://doi.org/10.3390/medicina59020273

Sengul, G., & Watson, C. (2015). Ascending and Descending Pathways in the Spinal Cord. In *The Rat Nervous System* (p. 115-130). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00008-5

Sezer, N. (2015). Chronic complications of spinal cord injury. *World Journal of Orthopedics*, *6*(1), 24. https://doi.org/10.5312/wjo.v6.i1.24

Shah, P. K., Garcia-Alias, G., Choe, J., Gad, P., Gerasimenko, Y., Tillakaratne, N., Zhong, H., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (2013). Use of quadrupedal step training to re-engage spinal interneuronal networks and improve locomotor function after spinal cord injury. *Brain*, *136*(11), 3362-3377. https://doi.org/10.1093/brain/awt265

Shank, C., Walters, B., & Hadley, M. (2017). Management of acute traumatic spinal cord injuries. In *Handbook of Clinical Neurology* (p. 275-298, T. 140). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63600-3.00015-5

Sharif-Alhoseini, M., Khormali, M., Rezaei, M., Safdarian, M., Hajighadery, A., Khalatbari, M. M., Safdarian, M., Meknatkhah, S., Rezvan, M., Chalangari, M., Derakhshan, P., & Rahimi-Movaghar, V. (2017). Animal models of spinal cord injury : a systematic review. *Spinal Cord*, *55*(8), 714-721. https://doi.org/10.1038/sc.2016.187

Shavelle, R. M., DeVivo, M. J., Brooks, J. C., Strauss, D. J., & Paculdo, D. R. (2015). Improvements in long-term survival after spinal cord injury ? *Archives of Physical*

Medicine and Rehabilitation, *96*(4), 645-651. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2014.11.003

Sherrington, C. S. (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. *The Journal of Physiology*, *40*(1-2), 28-121. Récupérée mars 14, 2024, à partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1533734/

Sherrington, C. S. (1913). Further observations on the production of reflex stepping by combination of reflex excitation with reflex inhibition. *The Journal of Physiology*, *47*(3), 196-214. Récupérée mars 21, 2024, à partir de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1420464/

Shibata, R., Ouchi, N., Kihara, S., Sato, K., Funahashi, T., & Walsh, K. (2004). Adiponectin Stimulates Angiogenesis in Response to Tissue Ischemia through Stimulation of AMP-activated Protein Kinase Signaling. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(27), 28670-28674. https://doi.org/10.1074/jbc.M402558200

Shigematsu, K., Takeda, T., Komori, N., Urushihata, N., Oki, K., Tahara, K., & Yamagishi, H. (2021). Long-term survival of a patient with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) who received autologous adipose-derived mesenchymal stem cells. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *25*(11), 4086-4090. https://doi.org/10.26355/eurrev_202106_26050

Shigematsu, K., Komori, N., Tahara, K., & Yamagishi, H. (2022). Repeated infusion of autologous adipose tissue-derived stem cells for Parkinson's disease [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/ane.13547]. *Acta Neurologica Scandinavica*, *145*(1), 119-122. https://doi.org/10.1111/ane.13547

Silva, N. A., Sousa, N., Reis, R. L., & Salgado, A. J. (2014). From basics to clinical : A comprehensive review on spinal cord injury. *Progress in Neurobiology*, *114*, 25-57. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.11.002

Silver, J. R. (2005). History of the treatment of spinal injuries. *Postgraduate Medical Journal*, *81*(952), 108-114. https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.019992

Silver, J., & Miller, J. H. (2004). Regeneration beyond the glial scar. *Nature Reviews Neuroscience*, *5*(2), 146-156. https://doi.org/10.1038/nrn1326

Simis, M., Fregni, F., & Battistella, L. R. (2021). Transcranial direct current stimulation combined with robotic training in incomplete spinal cord injury : a randomized, sham-controlled clinical trial. *Spinal Cord Series and Cases*, *7*, 87. https://doi.org/10.1038/s41394-021-00448-9

Simons, P. J., van den Pangaart, P. S., van Roomen, C. P. A. A., Aerts, J. M. F. G., & Boon, L. (2005). Cytokine-mediated modulation of leptin and adiponectin secretion during in vitro adipogenesis : Evidence that tumor necrosis factor- - and interleukin-1 -treated human preadipocytes are potent leptin producers. *Cytokine*, *32*(2), 94-103. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2005.08.003

Singh, A., Tetreault, L., Kalsi-Ryan, S., Nouri, A., & Fehlings, M. (2014). Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury. *Clinical Epidemiology*, 309. https://doi.org/10.2147/CLEP.S68889

Skaper, S. D., Giusti, P., & Facci, L. (2012). Microglia and mast cells : two tracks on the road to neuroinflammation. *The FASEB Journal*, *26*(8), 3103-3117. https://doi.org/10.1096/fj.11-197194

Skinner, B. F. (1931). The Concept of the Reflex in the Description of Behavior [Publisher : Routledge _eprint : https://doi.org/10.1080/00221309.1931.9918416]. *The Journal of General Psychology*, *5*(4), 427-458. https://doi.org/10.1080/00221309.1931.9918416

Skinner, R. D., Houle, J. D., Reese, N. B., Berry, C. L., & Garcia-Rill, E. (1996). Effects of exercise and fetal spinal cord implants on the H-reflex in chronically spinalized adult rats. *Brain Research*, *729*(1), 127-131.

Smithm, C. L., & Hollyday, M. (1983). The development and postnatal organization of motor nuclei in the rat thoracic spinal cord [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cne.902200104]. *Journal of Comparative Neurology*, *220*(1), 16-28. https://doi.org/10.1002/cne.902200104

Sofroniew, M. V. (2009). Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends in Neurosciences*, *32*(12), 638-647. https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.08.002

Sofroniew, M. V. (2018). Dissecting spinal cord regeneration [Number : 7705 Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature*, *557*(7705), 343-350. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0068-4

Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes : biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, *119*(1), 7-35. https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8

Solodeev, I., Meilik, B., Gur, E., & Shani, N. (2023). A Closed-system Technology for Mechanical Isolation of High Quantities of Stromal Vascular Fraction from Fat for Immediate Clinical Use. *Plastic and Reconstructive Surgery Global Open*, *11*(6), e5096. https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000005096

Song, J., Kang, S. M., Kim, E., Kim, C.-H., Song, H.-T., & Lee, J. E. (2015). Adiponectin receptor-mediated signaling ameliorates cerebral cell damage and regulates the neurogenesis of neural stem cells at high glucose concentrations : an in vivo and in vitro study. *Cell Death & Disease*, *6*(8), e1844-e1844. https://doi.org/10.1038/cddis.2015.220

Spiess, M. R., Müller, R. M., Rupp, R., Schuld, C., & van Hedel, H. J. (2009). Conversion in ASIA Impairment Scale during the First Year after Traumatic Spinal Cord Injury [Publisher : Mary Ann Liebert, Inc., publishers]. *Journal of Neurotrauma*, *26*(11), 2027-2036. https://doi.org/10.1089/neu.2008.0760

Strauss, D. J., DeVivo, M. J., Paculdo, D. R., & Shavelle, R. M. (2006). Trends in Life Expectancy After Spinal Cord Injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, *87*(8), 1079-1085. https://doi.org/10.1016/j.apmr.2006.04.022

Strem, B. M., Hicok, K. C., Zhu, M., Wulur, I., Alfonso, Z., Schreiber, R. E., Fraser, J. K., & Hedrick, M. H. (2005). Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *The Keio Journal of Medicine*, *54*(3), 132-141. https://doi.org/10.2302/kjm.54.132

Sun, F., Park, K. K., Belin, S., Wang, D., Lu, T., Chen, G., Zhang, K., Yeung, C., Feng, G., Yankner, B. A., & He, Z. (2011). Sustained axon regeneration induced by co-deletion of PTEN and SOCS3. *Nature*, *480*(7377), 372-375. https://doi.org/10.1038/nature10594

Sun, L.-n., & Liu, X.-l. (2019). Functions of adiponectin signaling in regulating neural plasticity and its application as the therapeutic target to neurological and psychiatric diseases. *Reviews in the Neurosciences*, *30*(5), 485-495. https://doi.org/10.1515/revneuro-2018-0062

Sun, T., Ye, C., Wu, J., Zhang, Z., Cai, Y., & Yue, F. (2013). Treadmill step training promotes spinal cord neural plasticity after incomplete spinal cord injury. *Neural Regeneration Research*, *8*(27), 2540-2547. https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.27.005

Sun, X., Huang, L.-Y., Pan, H.-X., Li, L.-J., Wang, L., Pei, G.-Q., Wang, Y., Zhang, Q., Cheng, H.-X., He, C.-Q., & Wei, Q. (2023). Bone marrow mesenchymal stem cells and exercise restore motor function following spinal cord injury by activating PI3K/AKT/mTOR pathway. *Neural Regeneration Research*, *18*(5), 1067. https://doi.org/10.4103/1673-5374.355762

Surowiecka, A., Piekarski, M., & Pototschnig, H. (2021). Stromal vascular fraction and emulsified fat as regenerative tools in rejuvenation of the lower eyelid area. *Dermatologic Therapy*, *34*(3), e14937. https://doi.org/10.1111/dth.14937

Suzuki, K., Nakaji, S., Yamada, M., Totsuka, M., Sato, K., & Sugawara, K. (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exercise Immunology Review*, *8*, 6-48.

Sweis, R., & Biller, J. (2017). Systemic Complications of Spinal Cord Injury. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, *17*(1), 8. https://doi.org/10.1007/s11910-017-0715-4

Sysoeva, V. Y., Ageeva, L. V., Tyurin-Kuzmin, P. A., Sharonov, G. V., Dyikanov, D. T., Kalinina, N. I., & Tkachuk, V. A. (2017). Local angiotensin II promotes adipogenic differentiation of human adipose tissue mesenchymal stem cells through type 2 angiotensin receptor. *Stem Cell Research*, *25*, 115-122. https://doi.org/10.1016/j.scr.2017.10.022

Tada, K., Nakada, M., Matsuta, M., Murai, A., Hayashi, K., & Tsuchiya, H. (2021). Enhanced nerve autograft using stromal vascular fraction. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, *31*(1), 183-188. https://doi.org/10.1007/s00590-020-02758-4

Tada, M. N., & Kuratani, S. (2015). Evolutionary and developmental understanding of the spinal accessory nerve. *Zoological letters*, *1*, 4. https://doi.org/10.1186/s40851-014-0006-8

Takahashi, A., Nakajima, H., Kubota, A., Watanabe, S., & Matsumine, A. (2023). Adipose-Derived Mesenchymal Stromal Cell Transplantation for Severe Spinal Cord Injury : Functional Improvement Supported by Angiogenesis and Neuroprotection. *Cells*, *12*(11), 1470. https://doi.org/10.3390/cells12111470

Tamarat, R., Silvestre, J.-S., Durie, M., & Levy, B. I. (2002). Angiotensin II Angiogenic Effect In Vivo Involves Vascular Endothelial Growth Factor- and Inflammation-Related Pathways [Publisher : Nature Publishing Group]. *Laboratory Investigation*, *82*(6), 747-756. https://doi.org/10.1097/01.LAB.0000017372.76297.EB

Tan, P.-C., Chao, P.-C., Cheng, C., Chen, C.-H., Huang, R.-L., Zhou, S.-B., Xie, Y., & Li, Q.-F. (2021). A randomized, controlled clinical trial of autologous stromal vascular fraction cells transplantation to promote mechanical stretch-induced skin regeneration. *Stem Cell Research & Therapy*, *12*(1), 243. https://doi.org/10.1186/s13287-021-02318-5

Tan, R., Hu, X., Wang, X., Sun, M., Cai, Z., Zhang, Z., Fu, Y., Chen, X., An, J., & Lu, H. (2023). Leptin Promotes the Proliferation and Neuronal Differentiation of Neural Stem Cells through the Cooperative Action of MAPK/ERK1/2, JAK2/STAT3 and PI3K/AKT Signaling Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(20), 15151. https://doi.org/10.3390/ijms242015151

Tan, S., Faull, R. L. M., & Curtis, M. A. (2023). The tracts, cytoarchitecture, and neurochemistry of the spinal cord [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ar.25079]. *The Anatomical Record*, *306*(4), 777-819. https://doi.org/10.1002/ar.25079

Tang, D., Wang, X., Chen, Y., Yang, X., Hu, S., Song, N., Wang, J., Cheng, J., & Wu, S. (2022). Treadmill training improves respiratory function in rats after spinal cord injury by inhibiting the HMGB1/TLR-4/NF- B signaling pathway. *Neuroscience Letters*, *782*, 136686. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136686

Tang, L., Lu, X., Zhu, R., Qian, T., Tao, Y., Li, K., Zheng, J., Zhao, P., Li, S., Wang, X., & Li, L. (2016). Adipose-Derived Stem Cells Expressing the Neurogenin-2 Promote Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Rat. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *36*(5), 657-667. https://doi.org/10.1007/s10571-015-0246-y

Tang, Q., Zhao, X.-S., Guo, A., Cui, R.-T., Song, H.-L., Qi, Z.-Y., Pan, Y., Yang, Y., Zhang, F.-F., & Jin, L. (2022). Therapeutic applications of adipose-derived stromal vascular fractions in osteoarthritis. *World Journal of Stem Cells*, *14*(10), 744-755. https://doi.org/10.4252/wjsc.v14.i10.744

Tashiro, S., Shinozaki, M., Mukaino, M., Renault-Mihara, F., Toyama, Y., Liu, M., Nakamura, M., & Okano, H. (2015). BDNF Induced by Treadmill Training Contributes to the Suppression of Spasticity and Allodynia After Spinal Cord Injury via

Upregulation of KCC2 [Publisher : SAGE Publications Inc STM]. *Neurorehabilitation and Neural Repair*, *29*(7), 677-689. https://doi.org/10.1177/1545968314562110

Tashiro, S., Tsuji, O., Shinozaki, M., Shibata, T., Yoshida, T., Tomioka, Y., Unai, K., Kondo, T., Itakura, G., Kobayashi, Y., Yasuda, A., Nori, S., Fujiyoshi, K., Nagoshi, N., Kawakami, M., Uemura, O., Yamada, S., Tsuji, T., Okano, H., & Nakamura, M. (2021). Current progress of rehabilitative strategies in stem cell therapy for spinal cord injury : a review [Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group]. *npj Regenerative Medicine*, *6*(1), 1-10. https://doi.org/10.1038/s41536-021-00191-7

Tator, C. H. (1995). Update on the Pathophysiology and Pathology of Acute Spinal Cord Injury. *Brain Pathology*, *5*(4), 407-413. https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1995.tb00619.x

Tauer, J. T., Al-Jallad, H., Umebayashi, M., Bakhsh, D., Rauch, D., Tran, S. D., Rauch, F., & Hamdy, R. (2022). Characterization and functional analysis of the adipose tissue-derived stromal vascular fraction of pediatric patients with osteogenesis imperfecta [Number : 1 Publisher : Nature Publishing Group]. *Scientific Reports*, *12*(1), 2414. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06063-4

Thomas, S. L., & Gorassini, M. A. (2005). Increases in Corticospinal Tract Function by Treadmill Training After Incomplete Spinal Cord Injury. *Journal of Neurophysiology*, *94*(4), 2844-2855. https://doi.org/10.1152/jn.00532.2005

Thorogood, N. P., Noonan, V. K., Chen, X., Fallah, N., Humphreys, S., Dea, N., Kwon, B. K., & Dvorak, M. F. (2023). Incidence and prevalence of traumatic spinal cord injury in Canada using health administrative data. *Frontiers in Neurology*, *14*, 1201025. https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1201025

Tien, N. L. B., Hoa, N. D., Thanh, V. V., Van Thach, N., Ngoc, V. T. N., Dinh, T. C., Phuong, T. N. T., Toi, P. L., & Chu, D. T. (2019). Autologous Transplantation of Adipose-Derived Stem Cells to Treat Acute Spinal Cord Injury : Evaluation of Clinical Signs, Mental Signs, and Quality of Life. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *7*(24), 4399-4405. https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.843

Toossi, A., Bergin, B., Marefatallah, M., Parhizi, B., Tyreman, N., Everaert, D. G., Rezaei, S., Seres, P., Gatenby, J. C., Perlmutter, S. I., & Mushahwar, V. K. (2021). Comparative neuroanatomy of the lumbosacral spinal cord of the rat, cat, pig, monkey, and human. *Scientific Reports*, *11*, 1955. https://doi.org/10.1038/s41598-021-81371-9

Toplu, G., Ozcelik, D., Serin, M., Erdem, H., & Topacoglu, A. T. (2017). Adipose Tissue-Derived Stromal Vascular Fraction Increases Osteogenesis in an Experimental Design Zygomatic Bone Defect Model. *Journal of Craniofacial Surgery*, *28*(8), 2179. https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000003980

Traktuev, D. O., Merfeld-Clauss, S., Li, J., Kolonin, M., Arap, W., Pasqualini, R., Johnstone, B. H., & March, K. L. (2008). A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside

in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circulation Research*, *102*(1), 77-85. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.159475

Traktuev, D. O., Prater, D. N., Merfeld-Clauss, S., Sanjeevaiah, A. R., Saadatzadeh, M. R., Murphy, M., Johnstone, B. H., Ingram, D. A., & March, K. L. (2009). Robust functional vascular network formation in vivo by cooperation of adipose progenitor and endothelial cells. *Circulation Research*, *104*(12), 1410-1420. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.190926

Trevor, L. V., Riches-Suman, K., Mahajan, A. L., & Thornton, M. J. (2020). Adipose Tissue : A Source of Stem Cells with Potential for Regenerative Therapies for Wound Healing. *Journal of Clinical Medicine*, *9*(7), 2161. https://doi.org/10.3390/jcm9072161

Tripathi, D., Kant, S., Pandey, S., & Ehtesham, N. Z. (2020). Resistin in metabolism, inflammation, and disease [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/febs.15322]. *The FEBS Journal*, *287*(15), 3141-3149. https://doi.org/10.1111/febs.15322

Trzeciak-Ryczek, A., Tokarz-Deptuła, B., & Deptuła, W. (2011). *Review paper*
Adipocytokines affecting the immune system – selected data [Publisher : Termedia]. *Central European Journal of Immunology*, *36*(2), 92-94. Récupérée mars 4, 2024, à partir de https://www.termedia.pl/-Review-paper-Adipocytokines-affecting-the-immune-system-selected-data,10,16860,1,1.html

Trzyna, A., & Banaś-Ząbczyk, A. (2021). Adipose-Derived Stem Cells Secretome and Its Potential Application in "Stem Cell-Free Therapy". *Biomolecules*, *11*(6), 878. https://doi.org/10.3390/biom11060878

Tsekouras, A., Mantas, D., Tsilimigras, I. D., Moris, D., Kontos, M., & Zografos, C. G. (2017). Comparison of the Viability and Yield of Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas [Publisher : International Institute of Anticancer Research]. *In Vivo*, *31*(6), 1229. https://doi.org/10.21873/invivo.11196

Tsuji, W., Rubin, J. P., & Marra, K. G. (2014). Adipose-derived stem cells : Implications in tissue regeneration. *World Journal of Stem Cells*, *6*(3), 312-321. https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i3.312

Tyurin-Kuzmin, P. A., Kalinina, N. I., Kulebyakin, K. Y., Balatskiy, A. V., Sysoeva, V. Y., & Tkachuk, V. A. (2020). Angiotensin receptor subtypes regulate adipose tissue renewal and remodelling [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/febs.152 *The FEBS Journal*, *287*(6), 1076-1087. https://doi.org/10.1111/febs.15200

Uribe-Querol, E., & Rosales, C. (2022). Neutrophils Actively Contribute to Obesity-Associated Inflammation and Pathological Complications. *Cells*, *11*(12), 1883. https://doi.org/10.3390/cells11121883

Usuelli, F. G., Grassi, M., Maccario, C., Vigano', M., Lanfranchi, L., Alfieri Montrasio, U., & de Girolamo, L. (2018). Intratendinous adipose-derived stromal vascular fraction (SVF) injection provides a safe, efficacious treatment for Achilles tendinopathy : results of a randomized controlled clinical trial at a 6-month follow-up.

Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA, *26*(7), 2000-2010. https://doi.org/10.1007/s00167-017-4479-9

Van Den Brand, R., Heutschi, J., Barraud, Q., DiGiovanna, J., Bartholdi, K., Huerlimann, M., Friedli, L., Vollenweider, I., Moraud, E. M., Duis, S., Dominici, N., Micera, S., Musienko, P., & Courtine, G. (2012). Restoring Voluntary Control of Locomotion after Paralyzing Spinal Cord Injury. *Science*, *336*(6085), 1182-1185. https://doi.org/10.1126/science.1217416

van den Berg, M., Castellote, J., Mahillo-Fernandez, I., & de Pedro-Cuesta, J. (2010). Incidence of Spinal Cord Injury Worldwide : A Systematic Review. *Neuroepidemiology*, *34*(3), 184-192. https://doi.org/10.1159/000279335

Van Pham, P., Vu, N. B., Nguyen, H. T., & Phan, N. K. (2016). Isolation of endothelial progenitor cells from human adipose tissue. *Biomedical Research and Therapy*, *3*(5), 19. https://doi.org/10.7603/s40730-016-0024-6

van Dongen, J. A., van Boxtel, J., Uguten, M., Brouwer, L. A., Vermeulen, K. M., Melenhorst, W. B., Niessen, F. B., Harmsen, M. C., Stevens, H. P., & van der Lei, B. (2022). Tissue Stromal Vascular Fraction Improves Early Scar Healing : A Prospective Randomized Multicenter Clinical Trial. *Aesthetic Surgery Journal*, *42*(7), NP477-NP488. https://doi.org/10.1093/asj/sjab431

van Middendorp, J. J., Goss, B., Urquhart, S., Atresh, S., Williams, R. P., & Schuetz, M. (2011). Diagnosis and Prognosis of Traumatic Spinal Cord Injury. *Global Spine Journal*, *1*(1), 1-8. https://doi.org/10.1055/s-0031-1296049

Varela-Lasheras, I., Bakker, A. J., van der Mije, S. D., Metz, J. A., van Alphen, J., & Galis, F. (2011). Breaking evolutionary and pleiotropic constraints in mammals : On sloths, manatees and homeotic mutations. *EvoDevo*, *2*(1), 11. https://doi.org/10.1186/2041-9139-2-11

Varga, I., & Mravec, B. (2015). Nerve Fiber Types. In *Nerves and Nerve Injuries* (p. 107-113). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410390-0.00008-1

Varghese, J., Griffin, M., Mosahebi, A., & Butler, P. (2017). Systematic review of patient factors affecting adipose stem cell viability and function : implications for regenerative therapy [Publisher : BMC]. *Stem Cell Research & Therapy*, *8*. https://doi.org/10.1186/s13287-017-0483-8

Verma, R., Virdi, J. K., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2019). Animals models of spinal cord contusion injury. *The Korean Journal of Pain*, *32*(1), 12-21. https://doi.org/10.3344/kjp.2019.32.1.12

Verseijden, F., Posthumus-van Sluijs, S. J., Pavljasevic, P., Hofer, S. O. P., van Osch, G. J. V. M., & Farrell, E. (2010). Adult human bone marrow- and adipose tissue-derived stromal cells support the formation of prevascular-like structures from endothelial cells in vitro. *Tissue Engineering. Part A*, *16*(1), 101-114. https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2009.0106

Vialle, E. N., Fracaro, L., Barchiki, F., Dominguez, A. C., Arruda, A. D. O., Olandoski, M., Brofman, P. R. S., & Kuniyoshi Rebelatto, C. L. (2023). Human Adipose-Derived Stem Cells Reduce Cellular Damage after Experimental Spinal Cord Injury in Rats. *Biomedicines*, *11*(5), 1394. https://doi.org/10.3390/biomedicines11051394

Vij, R., Kim, H., Park, H., Cheng, T., Lotfi, D., & Chang, D. (2023). Functional recovery of a 41-year-old quadriplegic spinal cord injury patient following multiple intravenous infusions of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells : a case report [Publisher : Frontiers]. *Frontiers in Transplantation*, *2*. https://doi.org/10.3389/frtra.2023.1287508

Vogel, V., & Sheetz, M. (2006). Local force and geometry sensing regulate cell functions [Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *7*(4), 265-275. https://doi.org/10.1038/nrm1890

Vriend, L., van Dongen, J. A., Pijpe, A., Nieuwenhuis, M. K., Jongen, S. J. M., Harmsen, M. C., van Zuijlen, P. P. M., & van der Lei, B. (2022). Stromal vascular fraction-enriched fat grafting as treatment of adherent scars : study design of a non-randomized early phase trial. *Trials*, *23*(1), 575. https://doi.org/10.1186/s13063-022-06514-3

Vuerich, R., Groppa, E., Vodret, S., Ring, N., Stocco, C., Bossi, F., Agostinis, C., Colliva, A., Simoncello, F., Benvenuti, F., Agnelli, A., Dore, F., Bulla, R., Papa, G., & Zacchigna, S. (2022). Effective revascularization of non-healing wounds by the human Stromal Vascular Fraction relies on direct cell integration and paracrine signals. *Cardiovascular Research*, *118*(Supplement_1), cvac066.239. https://doi.org/10.1093/cvr/cvac066.239

Wagner, F. B., Mignardot, J.-B., Le Goff-Mignardot, C. G., Demesmaeker, R., Komi, S., Capogrosso, M., Rowald, A., Seáñez, I., Caban, M., Pirondini, E., Vat, M., McCracken, L. A., Heimgartner, R., Fodor, I., Watrin, A., Seguin, P., Paoles, E., Van Den Keybus, K., Eberle, G., … Courtine, G. (2018). Targeted neurotechnology restores walking in humans with spinal cord injury [Number : 7729 Publisher : Nature Publishing Group]. *Nature*, *563*(7729), 65-71. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0649-2

Wakabayashi, T., Naito, H., Suehiro, J.-i., Lin, Y., Kawaji, H., Iba, T., Kouno, T., Ishikawa-Kato, S., Furuno, M., Takara, K., Muramatsu, F., Weizhen, J., Kidoya, H., Ishihara, K., Hayashizaki, Y., Nishida, K., Yoder, M. C., & Takakura, N. (2018). CD157 Marks Tissue-Resident Endothelial Stem Cells with Homeostatic and Regenerative Properties [Publisher : Elsevier]. *Cell Stem Cell*, *22*(3), 384-397.e6. https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.01.010

Walker, L. M., Publicover, S. J., Preston, M. R., Said Ahmed, M. a. A., & El Haj, A. J. (2000). Calcium-channel activation and matrix protein upregula-

tion in bone cells in response to mechanical strain [_eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/1097-4644%2820001215%2979%3A4%3C648%3A%3AAID-JCB130%3E3.0.Q]. *Journal of Cellular Biochemistry*, *79*(4), 648-661. https://doi.org/10.1002/1097-4644(20001215)79:4<648::AID-JCB130>3.0.CO;2-Q

Walker, M. J., Walker, C. L., Zhang, Y. P., Shields, L. B. E., Shields, C. B., & Xu, X.-M. (2015). A Novel Vertebral Stabilization Method for Producing Contusive Spinal Cord Injury. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (95), e50149. https://doi.org/10.3791/50149

Walsh, C. M., Gull, K., & Dooley, D. (2023). Motor rehabilitation as a therapeutic tool for spinal cord injury : New perspectives in immunomodulation. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, *69*, 80-89. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2022.08.005

Wang, G., Ao, Q., Gong, K., Zuo, H., Gong, Y., & Zhang, X. (2010). Synergistic effect of neural stem cells and olfactory ensheathing cells on repair of adult rat spinal cord injury. *Cell Transplantation*, *19*(10), 1325-1337. https://doi.org/10.3727/096368910X505855

Wang, S., Yao, Q., Wan, Y., Wang, J., Huang, C., Li, D., & Yang, B. (2020). Adiponectin reduces brain injury after intracerebral hemorrhage by reducing NLRP3 inflammasome expression. *The International Journal of Neuroscience*, *130*(3), 301-308. https://doi.org/10.1080/00207454.2019.1679810

Wang, X., Kuang, N., Chen, Y., Liu, G., Wang, N., Kong, F., Yue, S., & Zheng, Z. (2021). Transplantation of olfactory ensheathing cells promotes the therapeutic effect of neural stem cells on spinal cord injury by inhibiting necrioptosis [Publisher : Impact Journals, LLC]. *Aging (Albany NY)*, *13*(6), 9056. https://doi.org/10.18632/aging.202758

Wathen, C. A., Ghenbot, Y. G., Ozturk, A. K., Cullen, D. K., O'Donnell, J. C., & Petrov, D. (2023). Porcine Models of Spinal Cord Injury. *Biomedicines*, *11*(8), 2202. https://doi.org/10.3390/biomedicines11082202

Weidner, N., Ner, A., Salimi, N., & Tuszynski, M. H. (2001). Spontaneous corticospinal axonal plasticity and functional recovery after adult central nervous system injury [Publisher : Proceedings of the National Academy of Sciences]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(6), 3513-3518. https://doi.org/10.1073/pnas.051626798

Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, *112*(12), 1796-1808. https://doi.org/10.1172/JCI200319246

Weller, R. (2005). Microscopic morphology and histology of the human meninges. *Morphologie*, *89*(284), 22-34. https://doi.org/10.1016/S1286-0115(05)83235-7

Wernig, A., Nanassy, A., & Müller, S. (1998). Maintenance of locomotor abilities following Laufband (treadmill) therapy in para- and tetraplegic persons : follow-up studies. *Spinal Cord*, *36*(11), 744-749. https://doi.org/10.1038/sj.sc.3100670

Wernig, A., Nanassy, A., & Müller, S. (2000). Laufband (LB) therapy in spinal cord lesioned persons. In *Progress in Brain Research* (p. 89-97, T. 128). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)28009-6

Wichmann, T. O., Damkier, H. H., & Pedersen, M. (2022). A Brief Overview of the Cerebrospinal Fluid System and Its Implications for Brain and Spinal Cord Diseases [Publisher : Frontiers]. *Frontiers in Human Neuroscience*, *15*. https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.737217

Wiest, M. J., Gargaro, J., Bayley, M. T., & Neurotrauma Care Pathways Steering Committee. (2023). What Is the Pathway to the Best Model of Care for Traumatic Spinal Cord Injury ? Evidence-Based Guidance. *Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation*, *29*(Suppl), 103-111. https://doi.org/10.46292/sci23-00059S

Wyskida, K., Franik, G., Wikarek, T., Owczarek, A., Delroba, A., Chudek, J., Sikora, J., & Olszanecka-Glinianowicz, M. (2017). The levels of adipokines in relation to hormonal changes during the menstrual cycle in young, normal-weight women. *Endocrine Connections*, *6*(8), 892-900. https://doi.org/10.1530/EC-17-0186

Xia, Y., Zhu, J., Yang, R., Wang, H., Li, Y., & Fu, C. (2023). Mesenchymal stem cells in the treatment of spinal cord injury : Mechanisms, current advances and future challenges. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1141601. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1141601

Xiaoying, L., Li, T., Yu, S., Jiusheng, J., Jilin, Z., Jiayi, W., Dongxin, L., Wengang, F., Xinyue, Z., Hao, Y., Yuhua, C., & Deshu, S. (2019). Resistin-Inhibited Neural Stem Cell-Derived Astrocyte Differentiation Contributes to Permeability Destruction of the Blood–Brain Barrier. *Neurochemical Research*, *44*(4), 905-916. https://doi.org/10.1007/s11064-019-02726-3

Xu, J., Ji, J., Wang, Z., & Xu, T. (2021). Effects of minocycline on motor function recovery and expression of glial fibrillary acidic protein and brain-derived neurotrophic factor after spinal cord injury in rats. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *73*(3), 332-337. https://doi.org/10.1093/jpp/rgaa041

Xu, X., Du, H.-Y., Talifu, Z., Zhang, C.-J., Li, Z.-H., Liu, W.-B., Liang, Y.-X., Xu, X.-L., Zhang, J.-M., Yang, D.-G., Gao, F., Du, L.-J., Yu, Y., Jing, Y.-L., & Li, J.-J. (2023). Glycine and N-Acetylcysteine (GlyNAC) Combined with Body Weight Support Treadmill Training Improved Spinal Cord and Skeletal Muscle Structure and Function in Rats with Spinal Cord Injury. *Nutrients*, *15*(21), 4578. https://doi.org/10.3390/nu15214578

Yan, Y., Ma, T., Gong, K., Ao, Q., Zhang, X., & Gong, Y. (2014). Adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes adult neurogenesis in the brains of

Alzheimer's disease mice. *Neural Regeneration Research*, *9*(8), 798. https://doi.org/10.4103/1673-5374.131596

Yang, W.-T., Ke, C.-Y., Yeh, K.-T., Huang, S.-G., Lin, Z.-Y., Wu, W.-T., & Lee, R.-P. (2022). Stromal-vascular fraction and adipose-derived stem cell therapies improve cartilage regeneration in osteoarthritis-induced rats. *Scientific Reports*, *12*, 2828. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06892-3

Yasti, A. Ç., Akgün, A. E., & Akin, M. (2022). Use of stromal vascular fraction stem cell therapy for functional and cosmetic outcomes in a young female patient with deep dermal flame burns on the face. *Burns Open*, *6*(3), 116-119. https://doi.org/10.1016/j.burnso.2022.03.005

Yates, C. C., Charlesworth, A., Reese, N. B., Skinner, R. D., & Garcia-Rill, E. (2008). The effects of passive exercise therapy initiated prior to or after the development of hyperreflexia following spinal transection. *Experimental Neurology*, *213*(2), 405-409. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.07.002

Yeung, E. H., Zhang, C., Albert, P. S., Mumford, S. L., Ye, A., Perkins, N. J., Wactawski-Wende, J., & Schisterman, E. F. (2013). Adiposity and sex hormones across the menstrual cycle : the BioCycle Study. *International journal of obesity (2005)*, *37*(2), 237-243. https://doi.org/10.1038/ijo.2012.9

Ying, Z., Roy, R. R., Edgerton, V. R., & Gómez-Pinilla, F. (2005). Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury. *Experimental Neurology*, *193*(2), 411-419. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2005.01.015

You, D., Jang, M. J., Kim, B. H., Song, G., Lee, C., Suh, N., Jeong, I. G., Ahn, T. Y., & Kim, C.-S. (2015). Comparative Study of Autologous Stromal Vascular Fraction and Adipose-Derived Stem Cells for Erectile Function Recovery in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury. *Stem Cells Translational Medicine*, *4*(4), 351-358. https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0161

You, H.-J., & Han, S.-K. (2014). Cell Therapy for Wound Healing [Publisher : The Korean Academy of Medical Sciences]. *Journal of Korean Medical Science*, *29*(3), 311-319. https://doi.org/10.3346/jkms.2014.29.3.311

Younsi, A., Zheng, G., Scherer, M., Riemann, L., Zhang, H., Tail, M., Hatami, M., Skutella, T., Unterberg, A., & Zweckberger, K. (2020). Treadmill training improves survival and differentiation of transplanted neural precursor cells after cervical spinal cord injury. *Stem Cell Research*, *45*, 101812. https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.101812

Zamani, H., Soufizomorrod, M., Oraee-Yazdani, S., Naviafar, D., Akhlaghpasand, M., Seddighi, A., & Soleimani, M. (2022). Safety and feasibility of autologous olfactory ensheathing cell and bone marrow mesenchymal stem cell co-transplantation in chronic human spinal cord injury : a clinical trial. *Spinal Cord*, *60*(1), 63-70. https://doi.org/10.1038/s41393-021-00687-5

Zeng, C.-W. (2023). Advancing Spinal Cord Injury Treatment through Stem Cell Therapy : A Comprehensive Review of Cell Types, Challenges, and Emerging Technologies in Regenerative Medicine [Number : 18 Publisher : Multidisciplinary Digital Publishing Institute]. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(18), 14349. https://doi.org/10.3390/ijms241814349

Zhang, F., Hao, G., Shao, M., Nham, K., An, Y., Wang, Q., Zhu, Y., Kusminski, C. M., Hassan, G., Gupta, R. K., Zhai, Q., Sun, X., Scherer, P. E., & Oz, O. K. (2018). An Adipose Tissue Atlas : An Image-Guided Identification of Human-like BAT and Beige Depots in Rodents [Publisher : Elsevier]. *Cell Metabolism*, *27*(1), 252-262.e3. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.12.004

Zhao, X., Guo, J., Zhang, F., Zhang, J., Liu, D., Hu, W., Yin, H., & Jin, L. (2020). Therapeutic application of adipose-derived stromal vascular fraction in diabetic foot. *Stem Cell Research & Therapy*, *11*(1), 394. https://doi.org/10.1186/s13287-020-01825-1

Zhou, R., Li, J., Wang, R., Chen, Z., & Zhou, F. (2023). The neurovascular unit in healthy and injured spinal cord. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *43*(9), 1437-1455. https://doi.org/10.1177/0271678X231172008

Zhou, Z., Tian, X., Mo, B., Xu, H., Zhang, L., Huang, L., Yao, S., Huang, Z., Wang, Y., Xie, H., Xu, L., & Zhang, H. (2020). Adipose mesenchymal stem cell transplantation alleviates spinal cord injury-induced neuroinflammation partly by suppressing the Jagged1/Notch pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, *11*, 212. https://doi.org/10.1186/s13287-020-01724-5

Zhu, J., Wu, D., Zhao, C., Luo, M., Hamdy, R. C., Chua, B. H. L., Xu, X., & Miao, Z. (2017). Exogenous Adipokine Peptide Resistin Protects Against Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. *Neurochemical Research*, *42*(10), 2949-2957. https://doi.org/10.1007/s11064-017-2326-5

Zhu, M., Dong, Z., Gao, J., Liao, Y., Xue, J., Yuan, Y., Liu, L., Chang, Q., & Lu, F. (2015). Adipocyte Regeneration after Free Fat Transplantation : Promotion by Stromal Vascular Fraction Cells [Publisher : SAGE Publications Inc]. *Cell Transplantation*, *24*(1), 49-62. https://doi.org/10.3727/096368913X675133

Zhu, M., Xue, J., Lu, S., Yuan, Y., Liao, Y., Qiu, J., Liu, C., & Liao, Q. (2019). Anti-inflammatory effect of stromal vascular fraction cells in fat transplantation. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *17*(2), 1435-1439. https://doi.org/10.3892/etm.2018.7082

Zieriacks, A., Aach, M., Brinkemper, A., Koller, D., Schildhauer, T. A., & Grasmücke, D. (2021). Rehabilitation of Acute Vs. Chronic Patients With Spinal Cord Injury With a Neurologically Controlled Hybrid Assistive Limb Exoskeleton : Is There a Difference in Outcome ? *Frontiers in Neurorobotics*, *15*, 728327. https://doi.org/10.3389/fnbot.2021.728327

Ziu, E., & Mesfin, F. B. (2024). Spinal Shock. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Récupérée mars 26, 2024, à partir de http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448163/

Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I., Mizuno, H., Alfonso, Z. C., Fraser, J. K., Benhaim, P., & Hedrick, M. H. (2002). Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells [Publisher : American Society for Cell Biology (mboc)]. *Molecular Biology of the Cell*, *13*(12), 4279-4295. https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0105

Zuk, P. A., Zhu, M., Mizuno, H., Huang, J., Futrell, J. W., Katz, A. J., Benhaim, P., Lorenz, H. P., & Hedrick, M. H. (2001). Multilineage Cells from Human Adipose Tissue : Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Engineering*, *7*(2), 211-228. https://doi.org/10.1089/107632701300062859

Zwick, R. K., Guerrero-Juarez, C. F., Horsley, V., & Plikus, M. V. (2018). Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue [Publisher : Elsevier]. *Cell Metabolism*, *27*(1), 68-83. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.12.002

Résumé vulgarisé

« ALLEZ UNE, DEUX ! ON LE VEUT CE SUMMER BODY ! CA FAIT MAL HEIN ? ET BIEN ON CONTINUE, IL FAUT L'ELIMINER TOUT CE GRAS !!! »

Ca ? C'est mon coach Hadrien ! Et je ne suis pas tout à d'accord avec lui ! Parce qu'en vrai le gras, bah c'est pas si mal. Et dans certains cas, ça peut même aider à soigner les gens !

D'ailleurs, des chercheurs américains ont prélevé du gras d'une personne, l'ont réinjecté dans son cerveau, pour atténuer sa maladie d'Alzheimer ! Et vous savez quoi ?! Et bah ça marche ! Apparemment ce serait dû à la composition du gras! Des cellules souches, des cellules immunitaires et des facteurs métaboliques, qui boosteraient la régénérescence !

Mais du coup, au labo on s'est dit, si ça marche sur le cerveau, ça peut aussi marcher sur la moelle épinière ! Vous savez, c'est ce cordon de fibres nerveuses logé dans notre colonne vertébrale, qui transfère les informations électriques de notre cerveau, et qui nous permet de réaliser tous nos mouvements.

Par contre, s'il y a une lésion au niveau de cette moelle épinière, la personne peut rester paralysée ! Et encore aujourd'hui, on ne sait toujours pas comment faire remarcher ces personnes !

Donc dans un premier temps, mon objectif va être d'utiliser du gras, pour faire remarcher des rats ! Enfin, je regarde si injecter du gras dans une moelle épinière de rat après une lésion peut la réparer, et de leur permettre de remarcher. Puis si ça marche, on fera pareil chez l'Homme !

Mais avant ça, il me faut du gras !

Alors cet hiver, avec les copines on s'est fait plaisir : des galettes, des raclettes, des galettes à la raclette! On a fait du gras ! Mais voilà, à la rentrée, bonnes résolutions obligent, il faut l'éliminer. Donc je suis retournée voir mes copines : « Coucou les copines ! Une p'tite liposuccion gratuite, ça vous tente ? » Et elles ont dit oui !

Une fois tout le gras collecté, j'en isole les cellules d'intérêt, que je réinjecte dans la moelle épinière, au niveau de la lésion. Après ça, une fois par semaine pendant 3 mois, je vais voir mes rats, et je regarde s'il y a une amélioration dans leur locomotion. Est-ce qu'ils sont capables de soutenir leur poids ? De faire des mouvements amples de leurs chevilles ou de leurs hanches ? Est-ce qu'il y a une bonne coordination entre les pattes ?

Et à la fin de ces 3 mois, avec des électrodes, je vérifie si l'information électrique repasse bien au travers de la lésion.

Et vous savez quoi ? Eh bien ça marche ! Enfin, ils remarchent ! De quoi redonner espoir aux personnes paralysées.

Maintenant, je veux savoir pourquoi ça marche ! Ma prochaine étape, sera donc d'aller voir directement dans la moelle épinière ce qu'il s'est passé au niveau cellulaire.

Bon, du gras on en a tous hein ! Mais finalement, il pourrait peut-être devenir notre meilleur allié pour nous sauver ! Alors la prochaine fois que vous critiquerez vos poignées d'amour là, bah dites-vous bien qu'un jour, elles pourraient vous porter secours.

Puis de toute façon, comme on dit, le gras… C'EST LA VIE !

Ma thèse en 180 secondes, Aix-Marseille Université, Edition 2024.