



Thibault Scrive est vétérinaire associé à la Clinique Equine de la Madelaine, dans le Calvados.

Diplômé en 2003 de l'école nationale vétérinaire de Lyon, Thibaut rejoint directement la Clinique de la Madelaine en 2004 et multiplie les stages à l'étranger pour parfaire sa formation. Responsable des projets de recherche et développement depuis 2007, il partage son temps entre le suivi orthopédique des chevaux athlètes, les chirurgies orthopédique et abdominale à la clinique et différents projets de recherche montés en partenariat avec le CNRS et l'INSERM.

Publication récente :

- MARTEAU L., COUSTY M., MARETTE J., TRICAUD C., MONTERO-MENEI C., ROUSSEL S., PETIT E., BERNAUDIN M., MARETTE N., SCRIVE T. : Effects of mesenchymal stem cells associated with pharmacologically active microcarriers on cartilage healing in horses. Current Tissue Engineering, 2015, In Press



Mathieu Cousty est docteur vétérinaire, diplômé ECVS (European College of Veterinary Surgeons) et spécialisé dans la chirurgie équine.

Aujourd'hui vétérinaire à la clinique de Livet (14), Mathieu est diplômé de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes en 2009, après avoir été interne à la Faculté de Médecine Vétérinaire de Saint-Hyacinthe (Canada). Son activité principale tourne autour de la chirurgie, l'IRM et la scintigraphie.

Publication récente :

- DAVID F., STEELE E., STACK J.D., WALSHE K., COUSTY M., LECHARTIER A. : Synovial Serum Amyloid a point of care test: a valuable aid to immediate diagnosis of synovial sepsis in horses. AAEP, 2015, Las Vegas, USA.

Actualités des médecines régénératives pour les pathologies de pied

Dr Matthieu COUSTY, dipl. ECVS¹, Dr Thibaut SCRIVE²

¹ Spécialiste en chirurgie équine, Clinique Equine de livet, Cour Samson, 14140 ST MICHEL DE LIVET, cousty@celivet.com

² Clinique Equine de la Madelaine, La Madelaine, 14400 CUSSY

Introduction

L'objectif de la médecine régénérative est de restaurer ou établir une fonction normale en

plaçant ou en régénérant les tissus lésés et d'améliorer la qualité du tissu cicatriciel.

Trois catégories de traitement sont principalement utilisées chez le cheval actuellement :

- l'IRAP qui possède un effet anti-catabolique,
- le PRP qui possède un effet anabolique,
- les cellules souches qui possèdent un effet anabolique.

Des études sont disponibles sur l'efficacité de ces différents traitements mais peu d'études existent sur le pied en particulier. En conséquence, leur utilisation repose sur une extrapolation des études expérimentales et des études cliniques sur les autres régions.

L'objectif de la présentation est de définir ces différents traitements et de donner les résultats et les indications.

IRAP

Il s'agit d'une protéine antagoniste du récepteur de l'interleukine-1 (Interleukine-1 Receptor Antagonist Protein) qui agit en bloquant la cascade inflammatoire générée par l'interleukine-1. La protéine est produite par le cheval lui-même, on parle alors de traitement autologue ou de sérum autologue conditionné.

Une incubation de sang veineux pendant 24 heures au contact de petites billes de verre permet de faire produire aux cellules sanguines un antagoniste de l'interleukine 1. Le sérum est préparé puis congelé. Il est ensuite décongelé avant l'infiltration.

Deux systèmes sont disponibles sur le marché :

- IRAP (Interleukine-1 Receptor Antagonist Protein) : fabriqué par ORTHOKINE (société allemande)
- ABPS (Autologous Blood Processing System) ou IRAP II : fabriqué par ARTHREX (société américaine)

Lors d'une étude expérimentale sur 16 chevaux sur modèle d'arthrose induite de l'articulation médio-carpienne (Frisbie et al, 2007), l'IRAP permettait une diminution de la boiterie ainsi qu'une diminution de l'hyperplasie de la membrane synoviale.

Une étude expérimentale sur la comparaison IRAP 1/IRAP 2 (Hraha et al., 2011) a mis en évidence que l'IRAP 2 contient significativement plus d'IL1ra (substance anti-inflammatoire) que l'IRAP (environ 1,5 fois) et que l'IRAP contient significativement plus de

TNF-alpha (substance pro-inflammatoire) comparé au contrôle à 24 h. Le rapport IL1ra/IL1-beta est plus élevé avec l'IRAP 2 que l'IRAP mais la différence n'est pas significative. En résumé, le profil des cytokines obtenu avec l'IRAP 2 est légèrement meilleur qu'avec l'IRAP 1.

Dans une étude sur 202 Trotteurs français (604 infiltrations) (Harlé, 2014), l'articulation interphalangienne distale antérieure était traitée dans 20 % des cas et la bourse naviculaire dans 0,5 % des cas. Dans cette même étude, sur 77 Selle français (211 infiltrations), l'articulation interphalangienne distale antérieure était traitée dans 40,7 % des cas et la bourse naviculaire dans 0,9 % des cas.

En résumé, les indications de l'IRAP sont :

- synovite / arthropathie dégénérative débutante sur l'articulation interphalangienne distale et la bourse naviculaire

PRP

Le plasma enrichi en plaquettes (Platelet Rich Plasma) contient de nombreux facteurs de croissance. Il se prépare après une centrifugation et s'utilise immédiatement. Il ne se congèle pas a priori.

Sur un modèle chirurgical de tendinite (Bosch et al., 2011), le PRP possède des effets sur la néovascularisation. Sur 9 trotteurs atteints de desmrite du corps du ligament suspenseur du boulet (Waselau et al., 2008), 100 % sont retournés en course. Sur une étude sur l'association PRP et cellules souches adipeuses sur 19 chevaux de sport traités pour une tendinite du tendon fléchisseur superficiel du doigt (Ricco et al., 2013), 89,5 % sont retournés en compétition et 10 % ont récidivés.

De nombreux systèmes de production de PRP sont disponibles. Deux grandes catégories sont distinguables :

- systèmes « buffy-coat based » (GPS 3 Biomet, Harvest SmartPrep, E-pet) : l'objectif principal est d'augmenter la concentration plaquettaire

- systèmes « plasma based » (ACP Arthrex) : l'objectif principal est d'augmenter le ratio plaquettes/leucocytes

Le traitement pour une lésion tendineuse ou ligamentaire a lieu en général 8 à 12 jours après l'accident.

Une étude comparant les systèmes GPS Biomet et ACP Arthrex sur du sang humain (Sundman et al., 2011) montrait que des concentrations augmentées en plaquettes provoquait une augmentation des facteurs anaboliques et des concentrations augmentées en leucocytes provoquait une augmentation des facteurs cataboliques.

Sur un modèle expérimental sur des ténocytes provenant d'une lésion de tendinite du tendon fléchisseur superficiel du doigt (Boswell et al. 2014), augmenter le ratio plaquettes/leucocytes sans avoir des hautes concentrations de plaquettes peuvent permettre d'obtenir une plus haute concentration de facteurs anaboliques. Le ratio optimal était de 2000/1 et la concentration de plaquettes : $500-200.10^3/\mu\text{L}$ (en comparaison, les systèmes « plasma-based » permettent d'obtenir un ratio 800 : 1 et les systèmes « buffy-coat-based » un ratio 60 : 1 ; la norme sanguine chez le cheval est de $100-300.10^3/\mu\text{L}$). Il existe cependant une grande variabilité individuelle.

En thérapeutique articulaire, l'injection de PRP induit une réponse inflammatoire et une augmentation de la concentration en leucocytes et du pourcentage de neutrophile (Textor et Tablin, 2013). Une analyse récente des différentes études humaines et équines conclut que le PRP est « sans danger et prometteur mais peu d'évidence sur l'efficacité » (Brossi et al. 2015).

Les indications du PRP sont donc a priori essentiellement « tendineuse et ligamentaire » :

- pour l'articulation interphalangienne, les desmites des ligaments collatéraux,
- pour la bourse naviculaire, les lésions de tendinite du tendon fléchisseur profond,
- pour le tendon fléchisseur profond, les injections intra-lésionnelles de lésions centrales.

Cellules souches

Les cellules souches sont des cellules primitives pouvant se diversifier en cellules spécifiques. Elles peuvent être utilisées à partir de trois origines majeures :

- moelle osseuse : il faut alors une culture de 2 à 3 semaines. Il est aussi possible de préparer un concentré de moelle osseuse moins riche en cellules souches mais pouvant être utilisé immédiatement.

- graisse : il faut également une culture de 2 à 3 semaines. L'extraction de la fraction vasculaire stromale ne prend que 2 à 3 jours mais est uniquement une technique de purification.

- sang ombilical : il faut également une culture de 2 à 3 semaines. Ces prélèvements sont congelés pour une utilisation ultérieure.

Pour le traitement des lésions tendineuses et ligamentaires, la moelle osseuse pure a d'abord été utilisée sur 100 desmites du ligament suspenseur du boulet (Herthel 2001) avec 84 % de retour à l'exercice. Ensuite, une injection de PRP et concentré de moelle osseuse sur 13 chevaux de sport atteints de tendinites du tendon fléchisseur superficiel du doigt et desmites du ligament suspenseur du boulet (Torricelli et al. 2011), 85% des chevaux sont retournés en compétition. Plus récemment, l'utilisation de cellules souches pures a été validée. Expérimentalement, l'injection de cellules souches mésenchymateuses sur un modèle de tendinite induite avec des collagénases améliore la cicatrisation tendineuse en histologie (Schnabel et al., 2009). Sur 113 chevaux atteints de tendinite du tendon fléchisseur superficiel du doigt traités avec des cellules souches dérivés de la moelle osseuse (Godwin et al. 2012), le taux de récurrences était de 27,4 %.

Les cellules souches sont également utilisées pour les traitements articulaires. Une étude expérimentale sur 10 chevaux âgés avec défauts de 1 cm^2 en arthroscopie sur les 2 condyles fémoraux médiaux ayant reçu une injection de cellules souches 30 jours après l'arthroscopie a montré une densité

augmentée du tissu de réparation, une tendance à une meilleure qualité du tissu de réparation (score arthroscopique et macroscopique) et une plus grande quantité d'aggrégat dans le tissu de réparation sur les articulations traitées avec des cellules souches.

Par ailleurs, sur un modèle d'arthrose induite de l'articulation médio-carpienne (Frisbie et al., 2009), l'injection de cellules souches n'a pas montré d'effets cliniques, radiographiques, histologiques mais a montré une diminution de la concentration en PGE2. Sur un modèle d'arthropathie dégénérative induite sur un modèle expérimental chez l'âne (Mokbel et al. 2011), les cellules marquées ont participé au processus de réparation du cartilage endommagé et ont intégré le cartilage existant.

Une étude a évalué le bénéfice d'associer les cellules souches mésenchymateuses (CSM) soit à des biomolécules soit à des microsoutports tridimensionnels dans le traitement des lésions cartilagineuses (Marteau et al. 2015). Toutes les expériences ont été randomisées et les mesures réalisées par des vétérinaires ou des scientifiques aveugles vis-à-vis des groupes de traitement. Elles ont impliquées 20 trotteurs âgés de 3 à 4 ans et ont permis de comparer les effets sur la régénération du cartilage des traitements suivants :

- CSM (10 millions)
- CSM + Il1ra
- CSM + TGF
- CSM + PRP (obtenu par centrifugation)
- CSM + NB 10 (microsoutport des CSM, biodégradable)
- CSM + NB 14 (microsoutport activé des CSM, biodégradable)
- Solution contrôle (sérum physiologique)

Toutes les coupes ont été évaluées microscopiquement (Wilke et al., 2007). Des coupes centrées sur la lésion ont été analysées sur différents critères dans le but d'évaluer si le tissu néoformé présentait les mêmes propriétés que le cartilage sain environnant. Avec la méthode de notation utilisée, un score faible reflète une meilleure réparation. Pour tous ces critères analysés

ensemble, il a été observé que les articulations traitées avec CSM+NB10 et CSM+NB14 étaient significativement mieux réparées, avec un tissu présentant dans l'ensemble des propriétés proches du cartilage sain. En conclusion, l'association des CSM avec le NB14 pourrait constituer une nouvelle stratégie thérapeutique pour la réparation du cartilage chez le cheval athlète.

D'autre part, une étude clinique multicentrique visant à recruter principalement des lésions de ménisques modérées à sévères (Ferris et al. 2014), ne répondant pas aux autres traitements et reposant sur une injection de cellules souches et d'acide hyaluronique a permis de regrouper 39 cas avec un suivi moyen sur une période de 21 mois. 77 % des chevaux ont repris une activité (36 % ont au même niveau et 36 % à moindre niveau). Des lésions du grasset étaient présentes sur 29 cas sur 39 dont 20 avaient une lésion méniscale primaire. Une réaction inflammatoire aigüe a été objectivée dans 8 % des cas (en comparaison, un pourcentage de réaction inflammatoire de 12 % a été rapporté avec l'acide hyaluronique seul). Des différences notables ont été remarquées en comparaison avec les études publiées sur les lésions méniscales objectivées lors d'arthroscopie exploratrice. En effet, le pronostic était favorable pour 60 % des lésions méniscales de grade 3 (les plus sévères). Avec la chirurgie uniquement, les lésions méniscales de grade 3 avaient un taux de succès de 0 % et 6 %.

L'utilisation hétérologue permettrait de limiter le délai d'attente due à la culture mais le problème de l'efficacité et de l'innocuité se pose. Une étude expérimentale a prouvé que les cellules souches mésenchymateuses hétérologues immunogènes in vitro génèrent une forte expression du complexe majeur d'histocompatibilité 2 sous la stimulation de marqueurs inflammatoires (Schnabel et al., 2014).

L'utilisation des cellules souches a été suggérée pour le traitement de la fourbure. En effet, une diminution de l'expression du p63

(régulateur des cellules souches épidermiques) sur le tissu lamellaire en particulier en région distale en comparaison avec des chevaux sains a été observée (Carter et al., 2011). Une injection sous-garrot de cellules souches en phase aigüe et 14 jours après l'apparition des symptômes. Le p63 étant d'origine épidermique, le choix de la source ainsi que d'une origine autologue ou hétérologue se pose.

- Les indications des cellules souches sont :
- pour l'articulation interphalangienne, les lésions sous-chondrales (en injection intra-synoviale ou en comblement lésionnel), les desmites des ligaments collatéraux,
 - pour la bourse naviculaire, les lésions de tendinite du tendon fléchisseur profond,

- pour le tendon fléchisseur profond, les injections intra-lésionnelles de lésions centrales,
- la fourbure.

Conclusion

La médecine régénérative offre des possibilités thérapeutiques intéressantes. Pour la région de pied, il existe malheureusement un manque d'évaluation des résultats. Il convient donc de rester objectif face aux différents « produits » proposés et de vérifier l'innocuité et l'efficacité.

Prise de notes

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....