



institut français
du **cheval**
et de l'**équitation**



40^{ème} Journée de la Recherche Équine

Mardi 18 mars 2014

Plasma Enrichi en Plaquettes comme traitement contre l'arthrose chez le cheval de sport

F. Pichereau¹, M. Decory², G. Cuevas-Ramos^{1 et 2}

¹ Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 chemin des Capelles, 31076 Toulouse, CEDEX 3, France

² USC 1043 INSERM INRA, Centre de physiopathologie de Purpan, 31024 Toulouse CEDEX 3, France

Résumé

L'ostéoarthrose (OA) est l'une des affections touchant l'appareil musculo-squelettique les plus courantes et entraînant l'arrêt de la carrière sportive chez le cheval. L'OA soulève de nombreux problèmes, notamment lorsque le cheval ne répond plus aux injections de corticostéroïdes ou au repos. De nouvelles thérapies mettent l'accent non seulement sur le contrôle de l'inflammation et de la douleur, mais également sur la cicatrisation et la réparation du tissu. Les facteurs de croissance contenus dans les plaquettes sont connus pour leurs propriétés favorisant la réparation du tissu et des vaisseaux sanguins, provoquant un effet bénéfique sur l'épithélium synovial (structure produisant le liquide articulaire), le cartilage et la douleur. Le but de cette nouvelle thérapie est de réaliser des injections de plasma autologue (= provenant du même animal) concentré en plaquettes afin d'apporter ces facteurs de croissance en grand nombre. Après un an de suivi, nous montrons que 80% des 20 chevaux traités avec cette unique solution autologue concentrée en plaquettes peuvent retourner au travail. Ce traitement est donc un choix sûr et peu coûteux pour le traitement d'OA réfractaire chez le cheval. Ces travaux ont été publiés dans le Journal of Equine Veterinary Science, dec-2013. DOI: 10.1016/j.jevs.2013.10.004

Mots clés : Plasma autologue concentré en plaquettes, Facteurs de croissance, Ostéoarthrose

Summary

Osteoarthritis (OA) is one of the most common musculoskeletal pathologies in horses, and is a disease capable of halting their athletic career. Clinically, OA can be a difficult problem to deal with, particularly when there is no longer a positive response to corticosteroids or rest.

In order to avoid further articular tissue degeneration, which could lead to the loss of the joint function, novel therapies are not only focusing on controlling inflammation and pain but also on tissue healing and repair. Autologous platelets concentrate (PC) growth factors are known to have anabolic and angiogenic properties having a positive effect on synovial epithelium, cartilage and pain.

We show here the evaluation approach and the outcome of 20 cases with refractory OA treated exclusively with autologous PC. After a one year follow up, 80% of patients were able to resume work. According to our results and observations, PC can be used as a safe and low cost intraarticular therapy for refractory OA in the horse. This scientific work has been published at the Journal of Equine Veterinary Science, dec-2013

DOI: 10.1016/j.jevs.2013.10.004

Key-words: Platelet rich plasma, Growth factors, Osteoarthritis



Introduction

L'ostéoarthrose (OA) chronique est l'une des affections les plus courantes chez le cheval de course causant une diminution de sa performance, voire un arrêt de sa carrière sportive. Lors d'OA, une induction des cytokines pro-inflammatoires a lieu, principalement l'IL-1 β (*Interleukin-1 β*). L'activation des facteurs cataboliques (destructeurs) va contrebalancer l'équilibre physiologique du cartilage. Ainsi, l'activité physiologique du maintien du cartilage n'est plus suffisante pour pallier les conséquences des facteurs cataboliques. Ainsi, en cas d'OA, l'équilibre physiologique permettant la fonction articulaire est rompu. Un processus de dégénération chronique des structures articulaires est donc initié. Un traitement efficace apparaît donc comme un réel challenge afin de rétablir l'équilibre métabolique du cartilage.

Les injections intra-articulaires de corticostéroïdes associées à un repos est le traitement de choix à l'heure actuelle. Cependant, il a été montré que lors d'administrations répétées de corticostéroïdes, des effets secondaires apparaissent : nécrose ou encore dégénérescence supplémentaire du cartilage. Afin d'éviter ces administrations répétées, mais aussi de permettre une cicatrisation du tissu, de nouvelles approches sont avancées. Des traitements alternatifs à base de facteurs de croissance contenus dans une solution à base de plasma autologue (issu du même cheval) concentré en plaquettes sont mis en place et montrent de meilleurs résultats un an après injection (Carmona *et al.*, 2009, Carter *et al.*, 2003, Peerbooms *et al.*, 2010).

Sont rapportées ici les données de 20 cas d'OA réfractaire du boulet traités avec une solution à base de plasma autologue concentré en plaquettes comme unique thérapie. En s'attachant aux données de l'analyse du fluide synovial, à l'évaluation du degré de boiterie ainsi qu'à la perception du propriétaire nous avons observé que le plasma concentré en plaquettes est un choix thérapeutique fiable et efficace lors d'échec thérapeutique suite à une administration de corticostéroïdes ou de repos.

1 Matériels et Méthodes

1.1 Plasma enrichi en plaquettes

La solution de plasma concentré en plaquettes a été préparée selon des méthodes définies au préalable (Carmona *et al.*, 2009, Arguelles *et al.*, 2006), auxquelles nous avons fait quelques modifications. 80ml de sang sont récupérés à la veine jugulaire, puis trois centrifugations successives sont réalisées en ne conservant qu'une partie du plasma. A la suite de ces centrifugations, une solution de plasma concentré en plaquettes est obtenue. Les plaquettes sont alors dénombrées et la qualité de ce plasma concentré en plaquette est évaluée avec la quantification d'un des facteurs de croissance par une méthode d'ELISA.

1.2 Plan thérapeutique

Le plan thérapeutique repose sur trois injections intra-articulaires de plasma enrichi en plaquettes à 15 jours d'intervalle. Au moment des injections de plasma concentré en plaquettes, un échantillon de fluide synovial est prélevé puis congelé immédiatement afin de procéder aux analyses nécessaires à l'étude. Pendant la première quinzaine, le cheval doit être sorti deux fois par jour au pas, non monté. Puis, 15 jours avant la dernière injection, le cheval peut retrouver une activité progressive jusqu'à un travail monté complet. Aucun effet secondaire n'a été décrit après les injections de plasma enrichi en plaquettes.

1.3 ELISA pour l'analyse de la qualité du plasma concentré en plaquettes, du liquide synovial, et analyses statistiques

Cette analyse de la qualité du plasma concentré en plaquettes repose sur l'évaluation de la concentration en PDGF-BB (*Platelet Derived Growth Factor isoform BB*) (Ce facteur de croissance, est un agent mitotique sérique majeur à l'origine de la migration et la prolifération cellulaire et il représente un événement clé dans la réparation tissulaire (Oefner *et al.*, 1992)) ainsi que la quantité d'IL-1 β (principal marqueur de l'inflammation au niveau du liquide synovial) avant chaque injection grâce à une méthode ELISA. La concentration de PDGF-BB a été comparée entre le plasma concentré en plaquettes après les deux centrifugations et le plasma restant (appauvris donc en plaquettes).

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel Graph Pad Prisme : ANOVA, non paramétrique Man-Whitney et corrélation (Tableau 1).



1.4 Sélection des cas

Entre 2009 et 2012, 20 chevaux d'endurance –Arabes ou Anglo-Arabes – ont été sélectionnés pour participer à cette étude. La moyenne d'âge est de 9,5 ans \pm 1,67 ans et la population cible est composée de 15 hongres et 5 femelles (Tableau 1). En plus de l'activité sportive commune pour le choix de la population cible, ces chevaux présentaient tous une boiterie chronique due à une OA chronique du boulet d'un antérieur. Tous ont reçu antérieurement un traitement conventionnel, notamment à base d'injections intra-articulaire de corticostéroïdes, sans résolution de la boiterie. Il a été choisi de laisser un temps d'attente d'au moins 6 semaines entre la dernière injection de corticostéroïdes et le traitement à base d'injection d'une solution concentrée en plaquettes. Les chevaux ayant reçu un autre traitement en complément, ceux dont nous n'avons pas pu avoir le suivi sur une durée supérieure ou égale à un an ou encore ceux dont la récolte du liquide synovial n'a pas été réalisée ont été écartés de l'étude.

Tableau 1 : Cas sélectionnés et analyses biostatistiques
Table 1: Cases selection and biostatistics analysis

N°	Boulet antérieur	Age	Évaluation de la boiterie (échelle sur 5)			Indice WOMAC modifié (%)		
			1 ^{ère} injection	2 ^{ème} injection	3 ^{ème} injection	1 ^{ère} injection	2 ^{ème} injection	3 ^{ème} injection
1	Gauche	9	3	2	0	82	70	30
2	Gauche	8	3	2	0	73	51	21
3	Droit	9	3	2	1	70	44	25
4	Gauche	11	3	0	0	86	40	33
5	Gauche	10	3	2	0	90	66	15
6	Droit	7	3	1	1	78	42	31
7	Droit	10	4	3	2	97	80	60
8	Gauche	12	2	0	0	60	10	10
9	Gauche	9	3	2	0	92	70	33
10	Droit	8	3	0	1	84	59	50
11	Gauche	7	3	2	0	88	54	25
12	Gauche	13	2	0	0	70	10	12
13	Droit	10	3	2	1	93	61	34
14	Gauche	11	3	2	0	86	70	27
15	Droit	9	4	2	1	87	68	26
16	Droit	10	2	0	0	90	48	15
17	Gauche	8	3	1	0	76	61	22
18	Gauche	8	3	2	1	81	62	26
19	Gauche	10	2	0	0	84	45	16
20	Gauche	9	3	1	0	91	57	18
Moyenne		9,5	2,9	1,3	0,4	82,9	53,4	26,45
Ecart type		1,67	0,55	0,97	0,59	9,30	18,37	12,21
Erreur type			0,12	0,21	0,13	2,08	4,1	2,73
			ANOVA	Significatif	P value	ANOVA	Significatif	P value
Comparaison 1 ^{ère} et 2 ^{ème} injection				****	<0,0001		****	<0,0001
Comparaison 1 ^{ère} et 3 ^{ème} injection				****	<0,0001		****	<0,0001
Comparaison 2 ^{ème} et 3 ^{ème} injection				****	<0,0001		****	<0,0001
Coefficient de corrélation								P value
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 1 ^{ère} injection							0,469	0,037
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 2 ^{ème} injection							0,713	0,0004
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 3 ^{ème} injection							0,723	0,0003

L'indice WOMAC repose sur une évaluation du propriétaire comme indiqué dans le paragraphe 2.2

2 Résultats

2.1 Injection de plasma enrichi en plaquettes et amélioration de la qualité du liquide synovial

Parmi les 20 cas de cette étude, 7 ont été traités pour le boulet de l'antérieur droit et 13 pour l'antérieur gauche (Tableau 1). La concentration moyenne de plaquettes contenues dans la solution de concentré de plasma est de $560.10^3/\mu\text{l} \pm 62.10^3/\mu\text{l}$. La concentration moyenne en PDGF-BB dans le concentré de plasma est évaluée à $1280 \pm 70,91$ pg/ml. L'analyse de la concentration synoviale articulaire d'IL-1 β avant chaque injection de concentré de plaquettes montre une diminution significative de cette cytokine catabolique (3 ng/ml avant traitement contre 1.9 ng/ml après, $P = .0001$ (ANOVA)), associée à l'amélioration clinique de la boiterie, évalué par le clinicien mais aussi par le propriétaire (Tableau 1).



2.2 Résultats cliniques

Un examen locomoteur a également été effectué juste avant les 2^{ème} et 3^{ème} injections du traitement. L'adaptation de l'indice de sévérité de l'arthrose des membres inférieurs réalisé par le WOMAC (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis) index a été réalisée en se reposant sur l'évaluation par les propriétaires de la douleur, de la raideur et de la fonction mécanique de l'articulation. En regard de l'évaluation par les propriétaires, mais aussi du degré de boiterie apprécié par le clinicien, nous avons mis en évidence une amélioration au niveau de l'articulation atteinte au fur et à mesure des injections (Tableau 1). Après un an de suivi, 80% des chevaux retournent à une activité équivalente à celle précédant leur arrêt, sans gêne à l'articulation traitée durant cette année de suivi. 4 chevaux ont cependant retrouvé une activité réduite et 2 d'entre eux présentaient une boiterie intermittente due à l'articulation traitée.

3 Discussion

Lors d'une inflammation, les plaquettes libèrent un grand nombre de facteurs de croissance, principalement les TGF β et les PDGF-BB, à l'origine de l'initiation et du maintien du processus de cicatrisation. Par conséquent, une solution concentrée en plaquettes permet d'apporter une quantité importante de ces facteurs de croissance. Bien que les plaquettes restent viables jusqu'au 7^{ème} jour après l'injection, les effets bénéfiques sont observables dès 4 semaines (Sun *et al.*, 2009).

Nous montrons dans cette étude que le plasma concentré en plaquettes est à l'origine d'une amélioration de la fonction de l'articulation touchée par de l'ostéoarthrose, principalement lorsque celle-ci ne répond plus aux injections intra-articulaires de corticostéroïdes ou au repos. Ce traitement est à l'origine d'un arrêt de l'évolution de l'ostéoarthrose avec retour au travail chez 80% des chevaux, sans effet secondaire.

Le cheval de sport est un modèle animal très prometteur afin d'évaluer le rôle du plasma concentré en plaquettes sur une OA réfractaire. En effet, qu'il s'agisse de la fréquence ou des caractéristiques de l'affection, nous pouvons retrouver des similitudes avec l'athlète humain, et par conséquent trouver de nouvelles solutions afin d'améliorer la fonction articulaire et de réduire la douleur.

Conclusion

Nous avons traité avec succès des cas d'ostéoarthrose ne répondant plus aux injections intra-articulaires de corticostéroïdes ou au repos. La solution concentrée en plaquettes se révèle comme étant un traitement alternatif fiable et peu invasif, traitement permettant à l'articulation de retrouver ses fonctions principales, et ce, même à long terme, sans effet secondaire. Ce plasma concentré en plaquettes peut donc être considéré comme un traitement par voie intra-articulaire sûr et à faible coût. Ces travaux ont été publiés dans le Journal of Equine Veterinary Science, dec-2013. DOI: 10.1016/j.jevs.2013.10.004

Remerciements

Nous tenons à remercier à l'USC-1043 INSERM/INRA pour son support technique.

Références

- Arguelles, D., et al., 2006, Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets. *Res Vet Sci.* 81(2): p. 237-45.
- Carmona, J.U. D.A., F. Climent and M. Prades, 2007, Autologous Platelet Concentrates as a Treatment of Horses with Osteoarthritis: A Preliminary Pilot Clinical Study. *Journal of Equine Veterinary Science.* 27(4): p. 167-170.
- Carter, C.A., et al., 2003, Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol.* 74(3): p. 244-55.
- Oefner, C., et al., 1992, Crystal structure of human platelet-derived growth factor BB. *EMBO J.* 11(11): p. 3921-6.
- Peerbooms, J.C., et al., 2010, Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med.* 38(2): p. 255-62.
- Sun, Y., et al., 2009, The regenerative effect of platelet-rich plasma on healing in large osteochondral defects. *Int Orthop.* 34(4): p. 589-97.