

III. NOUVEAUX TRAITEMENTS EN DEVELOPPEMENT

A. VOIES DE RECHERCHE

A l'heure actuelle les recherches orientent vers de nouveaux traitements : traitements systémiques [FORTIER L. (2005)], greffes, médiation immune, thérapie génique ... [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)].

1. Traitements systémiques

a) *Pentose polysulfate de sodium (NaPPS) et de calcium (CaPPS)*

Le Pentose polysulfate de sodium ou de calcium sont des produits semi-synthétiques qui favorisent la synthèse de protéoglycanes de grande taille, inhibent les enzymes responsables de la dégradation des protéoglycanes et du collagène et augmentent la synthèse de molécules inhibant les métalloprotéases. Sur les modèles animaux d'ostéo-arthrose, GLOSH P. (1999) [FORTIER L. (2005)] a montré que le CaPPS préservait l'intégrité du cartilage, augmentait le flux sanguin dans l'os sous chondral, et restaurait la visco-élasticité du liquide synovial. Ce produit est disponible sous forme de préparations orales et IM [FORTIER L. (2005)].

b) *Biphosphonates*

Les biphosphonates inhibent la résorption osseuse médiée par les ostéoclastes ce qui peut leur voir attribuer un rôle dans le traitement des affections telles que l'arthrose où les remaniements osseux sont importants. DENOIX J.M. et al (2003) ont montré qu'une administration quotidienne de tiludronate biphosphonate ou TILDRENND par voie IV améliorerait les lésions associées à une maladie naviculaire [FORTIER L. (2005)].

c) *Tétracyclines et tétracyclines synthétiques*

Les tétracyclines et tétracyclines synthétiques réduisent la douleur au niveau des articulations et arrêtent la progression de l'érosion du cartilage [FORTIER L. (2005)]. L'efficacité de molécules telles que la doxycycline et la minocycline administrées par voie orale dans le traitement de l'ostéo-arthrose peut être attribuée au moins en partie au fait que

les tétracyclines inhibent les métalloprotéases. L'utilisation de molécules synthétiques paraît plus avantageuse puisqu'elle permet une action plus ciblée et évite ainsi le développement de lignées bactériennes résistantes [FORTIER L. (2005)].

2. Thérapie génique

Dans le cas des arthropathies, les gènes et leurs vecteurs peuvent être injectés en IA ou IV avec pour rôle d'augmenter les activités de synthèse ou diminuer les activités cataboliques au sein de l'articulation [FORTIER L. (2005)]. Ce type de thérapie se situe donc à la charnière entre les traitements systémiques et les traitements locaux.

Des études réalisées par FRISBIE D. *et al.* (2002) notamment, sont actuellement en cours pour déterminer l'efficacité chez le cheval du transfert d'un gène augmentant la synthèse de la matrice cartilagineuse ou diminuant les phénomènes cataboliques [FORTIER L. (2005)]. Parallèlement, d'autres recherches sont nécessaires pour améliorer les techniques de transfert génique.

3. Traitements locaux de l'articulation

a) Stimulation de cellules souches

La stimulation des cellules souches par micro-piqûres augmente la quantité de tissu néoformé mais celui-ci est moins différencié. L'exécution facile de l'acte et son faible coût en font néanmoins un des nouveaux traitements très prisés [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)].

b) Greffes

Des greffes de périoste ou de périchondre ont été tentées mais les cellules qui survivent à la greffe sont incapables de maintenir un cartilage hyalin fonctionnel [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)]. Les résultats étant décevants dans les essais chez le cheval, cette voie de recherche est actuellement abandonnée [FRISBIE D. (2005)]. Les greffes ostéochondrales ont donné de bons résultats chez l'homme mais ceux-ci sont plus mitigés chez le cheval : réussite à court-terme mais échecs à long terme.

La transplantation de chondrocytes a été un domaine de recherche important au cours de la dernière décennie. Les résultats étaient assez prometteurs mais le coût et la durée du

traitement, les installations nécessaires à sa réalisation et le défi technique en font une technique inutilisable en clinique [FRISBIE D. (2005)].

c) Méthodes chirurgicales

Chez l'homme, lorsqu'il existe des lésions focales du cartilage, deux méthodes chirurgicales sont utilisables : des micro-fractures de l'os sous-chondral et la transplantation de chondrocytes autologues [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)].

Les micro-fractures présentent l'avantage de produire une réparation intrinsèque des dommages du cartilage. De plus, cette technique est simple à réaliser et peu chère [FRISBIE D. (2005)]. En effet, la moelle osseuse contient de nombreuses cellules souches et facteurs de croissance qui sont impliqués dans la santé et la réparation du cartilage. Les chercheurs pensent qu'en créant une communication directe entre la lésion cartilagineuse et la moelle osseuse, le cartilage pourrait bénéficier de facteurs positifs pour sa réparation tels que : les facteurs de croissance comme l'IGF-1, le TGF- β et les protéines osseuses morphogéniques 2 et 7 ... Pour cela, les micro-fractures de l'os sous-chondral, ne sont pas la seule méthode : un débridement du cartilage jusqu'à l'os sous-chondral, ou jusqu'à l'os spongieux (toutefois non conseillé car trop destructurant et interdisant ainsi une biomécanique normale de l'articulation), des forages dans la profondeur de l'os spongieux localisés aux zones lésées du cartilage existent aussi. Il est en général recommandé d'associer un débridement jusqu'à l'os sous-chondral et des micro-fractures de celui-ci pour obtenir une réparation optimale [FRISBIE D. (2005)].

Les micro-fractures osseuses entraîneraient aussi la formation de spicules osseuses qui favorisent l'attache des tissus de réparation [FRISBIE D. (2005)], augmenteraient la quantité de tissus de réparation, et favoriseraient la production d'un collagène II de meilleure qualité [FRISBIE *et al.* (1998) et (2003)]. Elles doivent être espacées de 2 à 3mm et pénétrer sur 2mm dans l'os.

d) Thérapie basée sur la médiation immunitaire

Le but principal de ces thérapies est de trouver des molécules capables d'antagoniser les médiateurs de l'inflammation eux-mêmes ou d'en inhiber la synthèse comme nous le verrons dans la partie suivante.

B. NOUVEAUX TRAITEMENTS BASES SUR LA MEDIATION IMMUNE

1. Amélioration du délai de détection des arthropathies

a) Biomarqueurs macromoléculaires : biomarqueurs protéiques

Ces biomarqueurs sont les paramètres mesurés dans un liquide biologique ou un tissu qui sont corrélés à un changement de ce tissu. Actuellement des études au sujet des médiateurs de l'immunité sont menées dans le but de les utiliser pour marquer la présence ou non de la maladie articulaire, en particulier l'ostéo-arthrose. Dans son étude, FRISBIE (2005) considère que l'IL1 est un biomarqueur indirect dans le sens où l'IL1 joue un rôle primordial dans la dégradation d'éléments structuraux essentiels mais n'est pas elle-même un composant structural. Il a montré que lorsque les taux d'IL1 étaient élevés dans l'articulation, les risques de destruction d'éléments structuraux étaient très importants [FRISBIE D. (2005)].

b) Biomarqueurs moléculaires

De la même manière, on peut utiliser des biomarqueurs moléculaires. Il est par exemple possible de mesurer la quantité d'ARNm codant pour l'IL1 dans les tissus. Ces dosages sont plus rapides que le dosage de la protéine en elle-même. On a pu actuellement définir une séquence de gènes qui s'expriment en cas d'ostéoarthrite induite. Il reste à prouver que les gènes s'exprimant en cas d'ostéoarthrite réelle sont les mêmes ou non. Ceci constituerait alors une voie essentielle dans la détection précoce de l'ostéoarthrite avant l'apparition des signes cliniques [FRISBIE D. (2005)].

2. Principes des traitements basés sur la médiation immune

a) Généralités

Dans le futur, le traitement médical paraît être mis en valeur pour le traitement des ostéoarthrites généralisées. Durant ces dix dernières années les recherches ont permis de mieux comprendre les processus pathologiques, et l'identification des principaux médiateurs intervenant dans la maladie, l'IL1 et le TNF notamment, ce qui laisse entrevoir de nouveaux horizons dans les traitements. La découverte d'antagonistes naturels à ces molécules ou

d'analogues synthétiques ayant un effet bloquant sur les récepteurs sont d'importance égale [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008), FRISBIE D. (2005), GOLDRING MB. (2001)]. D'autres recherches portent sur les acteurs directs du catabolisme intra-articulaire (métalloprotéases...) [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)].

Récemment, se développent aussi des traitements dont le rôle est d'augmenter au sein de l'articulation la quantité de molécules naturellement présentes et ayant un rôle anabolique. Il s'agit notamment des facteurs de croissance tels que le TGF β 1 (transforming growth factor β 1), l'IGF1 (insulin-like growth factor 1) ou le PDGF (platelet derived growth factor). Ils sont augmentés par incubation de cellules sanguines dans des tubes contenant du citrate de sodium. On récupère ensuite un sérum autologue enrichi dit « platelet rich plasma ». Ce sérum connaît un succès croissant en médecine humaine : il est utilisé en chirurgie plastique notamment, ou sur des avulsions de cartilage, ainsi que pour favoriser la cicatrisation cutanée. Il présente donc un intérêt non négligeable en médecine équine mais nécessite des études prouvant son efficacité [CARMONA J.U. *et al.* (2005)].

b) Inhibition des médiateurs de l'inflammation

Deux méthodes peuvent être utilisées pour inhiber l'IL1. La première vise à utiliser l'antagoniste naturel de la molécule : « l'interleukin-1 receptor antagonist » ou IL1Ra.

Cette protéine de 22 KDa est produite par de nombreux types cellulaires dont les monocytes, les synoviocytes, les chondrocytes... [CARON JP. *et al.* (1996 b)]. L'IL1Ra se lie aux récepteurs membranaires mais n'engendre pas de réponse cellulaire ; elle empêche ainsi l'IL1 de se lier à son récepteur par compétitivité [DINARELLO CA. et THOMPSON RC. (1991), FRISBIE D. (2005), MEIJER H. *et al.* (2003), PELLETIER *et al.* (1997)].

Il est à noter que l'IL1 existe sous deux formes IL1 α et IL1 β [DINARELLO CA. et THOMPSON RC. (1991), GRANOWITZ EV. *et al.* (1991)] qui se fixent préférentiellement sur le récepteur de type I et II respectivement (notés par la suite R1 et R2). R1 se retrouve sur les lymphocytes T, les fibroblastes et les kératinocytes tandis que R2 se situe sur les lymphocytes B et les polynucléaires [DINARELLO CA. et THOMPSON RC. (1991), GRANOWITZ EV. *et al.* (1991)]. L'IL1Ra possède naturellement une plus grande affinité pour les R2 [CARON JP. *et al.* (1996 b)] mais Granowitz *et al.* [GRANOWITZ EV. *et al.* (1991)] ont montré dans leur étude que l'IL1Ra avait la capacité de se lier aux deux types de récepteurs de manière compétitive, inhibant ainsi totalement l'IL1.

Une seconde approche consiste à utiliser des récepteurs solubles. Dans ce cas, les récepteurs ne sont pas liés à la membrane et le complexe IL1/Récepteur ne peut pas engendrer de réponse cellulaire lorsqu'il est formé ; la formation de ce complexe évite de plus la liaison de l'IL1 à un récepteur membranaire (et donc son activation) [FRISBIE D. (2005), MEIJER H. *et al.* (2003), PELLETIER *et al.* (1997)].

Il est aussi possible d'utiliser des récepteurs solubles pour inhiber le TNF ainsi que des anticorps qui ont la propriété de se lier spécifiquement au TNF [FRISBIE D. (2005)]. Enfin, on peut aussi injecter en IA de l'IL4 : cette cytokine est « bloquante » dans la mesure où elle a une action antagoniste à celle de l'IL1 et du TNF [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008), MEIJER H. *et al.* (2003)].

Ces molécules peuvent être produites ex-vivo et introduites dans l'articulation ou être produites directement dans l'organisme grâce aux thérapies géniques [CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008), FRISBIE D. (2005)]. Il semble cependant que la demi-vie de la molécule injectée directement soit très courte : quelques heures à peine, ce qui nécessite des injections répétées. La thérapie génique semble être une alternative intéressante à ce problème puisqu'elle permet une production plus importante et dans la durée d'IL1Ra [HUNG *et al.* (1994), PELLETIER *et al.* (1997)]. Cette production étant localisée à l'articulation, elle limite les effets secondaires et l'exposition de tous les organes à la molécule.

c) Conséquences de l'inhibition du principal médiateur de l'inflammation : l'IL1.

L'administration d'IL1Ra par thérapie génique améliorerait les signes cliniques, la morphologie du cartilage articulaire, et les anomalies radiographiques observés lors d'ostéoarthrose induite, et ce, de manière plus significative que les traitements usuels, à savoir : les corticoïdes, le hyaluronate, les psGAGs ou le pentose polysulfate [FRISBIE D. (2005), HUNG *et al.* (1994), SMITH R.J. *et al.* (1991)].

Ceci s'explique bien entendu par l'inhibition des activités métaboliques normales de l'IL1 comme par exemple son effet stimulant sur le relargage des MMP de la matrice induit par sa liaison aux récepteurs cellulaires. Lorsque l'IL1Ra se lie compétitivement aux récepteurs, le processus est bloqué : cela réduit donc la progression de l'ostéoarthrose

[CARON J.P. et GENOVESE R.L (2008)]. L'IL1Ra réduit aussi la synthèse de PGE2 et de NO, ainsi que l'expression de nombreuses cytokines. [CARON JP. *et al.* (1996 b)].

Les résultats obtenus par thérapie génique sur des articulations de chien sont intéressants : PELLETIER *et al.* (1997) ont montré dans leur étude qu'après avoir injecté en IA des fibroblastes autologues portant le gène codant pour l'IL1Ra :

- la production d'IL1Ra était fortement augmentée à T0 et T0+2 semaines mais diminuait de manière très importante à T0+4 semaines, sans que les chercheurs puissent expliquer ce phénomène. Deux hypothèses sont cependant présentées : une durée d'expression du gène limitée ou un mécanisme immunitaire qui se mettrait en place inhibant progressivement l'expression du gène. Cependant, même après ce délai de 4 semaines, les cultures de fibroblastes ont montré une production persistante d'IL1Ra à des taux détectables.
- Les lésions cartilagineuses observées en cas d'arthrose induite étaient moins importantes : réduction de la sévérité des lésions, de leur taille et de leur répartition et réduction des changements morphologiques observés microscopiquement.

Il faut néanmoins garder à l'esprit que ces résultats sont obtenus lors de traitement précoce d'une ostéo-arthrose induite, ce qui n'est pas le cas en pratique équine puisque les découvertes sont souvent relativement tardives.

D'autre part, CARON JP. *et al.* (1996 b) ont cherché à montrer s'il existait ou non un effet dose dépendant lors de l'injection intra-articulaire d'IL1Ra. Pour cela ils ont créé des ostéo-arthroses sur les genoux de chiens et défini : un groupe placebo, un groupe traité avec une dose de 2mg d'IL1Ra injecté par articulation, et un troisième groupe traité avec une dose de 4mg et ce, 2 fois par semaine pendant un mois. Les résultats obtenus sont que :

- les taux d'IL1Ra mesurés augmentent avec les doses injectées ;
- l'incidence et la taille des ostéophytes formés décroît avec les doses injectées ;
- les lésions condyliques macroscopiques, structurales et histologiques décroissent avec les doses injectées ;
- le liquide synovial des articulations traitées présente un taux plus important de cellules mononuclées.

En conclusion, un effet positif sur l'évolution d'une ostéoarthrite est donc observé suite à des injections IA d'IL1Ra et cet effet est d'autant plus important que les quantités injectées le sont : il y a donc une action dose-dépendante de l'IL1Ra [CARON JP. *et al.* (1996 b)]. Ceci sera évoqué par la suite avec les ratios d'activité IL1/IL1Ra explicités dans l'étude de GRANOWITZ EV. *et al.* (1991).

d) Disponibilité en médecine vétérinaire

Le premier laboratoire à commercialiser le produit pour le marché équin fut laboratoire Orthogen : il distribua tout d'abord le produit en Allemagne sous le nom d'ORTHOKINEND ou ACS (Sérum Autologue Conditionné). Il est ensuite apparu sur le marché aux Etats-Unis pendant le dernier trimestre de 2004 [FRISBIE D. (2005)]. En France, il est commercialisé sous le nom d'IRAP (Interleukine-1 Receptor Antagonist Protein).

Ce produit a montré qu'il pouvait augmenter jusqu'à 140 fois la production d'antagoniste du récepteur à l'IL1, à partir de culture de sang humain. Une étude de FRISBIE D. (2005) menée à l'aveugle sur des chevaux pour lesquels une arthrose a été expérimentalement créée, avec un groupe traité avec un placebo et un groupe traité par l'ACS, de manière identique, a montré que l'utilisation d'ACS réduisait sensiblement le degré de la boiterie, ainsi que les modifications articulaires (synovie, membrane synoviale ...) [FRISBIE D. *et al.* (2005)].

En Europe, ce produit est disponible en médecine humaine et a déjà été administré à plus de 30000 patients avec de très bons résultats. Son utilisation en médecine vétérinaire équine est en développement à l'heure actuelle. [FRISBIE D. (2005)].

En Avril 2008, 80 chevaux avaient été traités en France par cette technique. Le traitement est actuellement utilisé dans une trentaine de cliniques en Allemagne. De nouvelles installations sont en cours en Suède. En Allemagne, il ne nécessite pas d'AMM puisqu'aucune médication exogène n'est introduite dans l'organisme du cheval. Ce protocole s'apparente plus à une technique chirurgicale et le recueillement du consentement éclairé du propriétaire suffit à couvrir le praticien.