

II. ETUDE COMPAREE A LA BIBLIOGRAPHIE

Les études expérimentales réalisées à ce jour portent toutes sur des modèles d'ostéo-arthrose induite, aucune n'ayant été réalisée sur des cas d'ostéo-arthrose spontanée comme c'est le cas dans l'étude ici présente. Les lésions induites ont l'avantage d'être relativement identiques les unes par rapport aux autres mais ne sont pas pour autant le reflet de la réalité, les lésions spontanées pouvant être complexes et prendre des formes variables.

A. ETUDE DE FRISBIE *et al.* (2007) : traitement par l'IRAP de lésions induites sur les articulations médio-carpiennes.

1. Matériels et méthodes

L'une de ses études a été réalisée par FRISBIE D. *et al.* (2007) seize chevaux de 2 à 3 ans, en bonne santé ont été sélectionnés et répartis en deux groupes. Huit d'entre eux ont constitué le groupe placebo, les huit autres le groupe traité. Avant leur inclusion dans l'étude, ils ont tous été soumis à un examen locomoteur, un test physique, des radiographies du carpe et tout épanchement synovial a été relevé.

A J0, tous les chevaux ont subi une arthroscopie bilatérale des articulations médio-carpiennes afin de s'assurer qu'il ne préexistait aucune anomalie. Durant cette opération, un fragment ostéochondral a été créé dans une des deux articulations, choisie au hasard ; il est réalisé de telle sorte qu'il peut adhérer à la capsule articulaire qui lui fait front. L'autre articulation sert d'articulation contrôle.

Pendant toute la durée de l'étude, les chevaux sont soumis à un entraînement identique : une course sur tapis roulant à grande vitesse, cinq jours sur sept par semaine.

A J7, du sang veineux est prélevé à la jugulaire de tous les chevaux : il sera utilisé pour préparer l'ACS du groupe traité, et mesurer les taux basaux d'IL1Ra chez tous les chevaux de l'étude.

Le premier groupe était injecté à J14, J21, J28, J35 avec 6mL de sérum physiologique dans l'articulation présentant de l'ostéo-arthrose. Le groupe traité recevait quant à lui 6mL de

sérum autologue. Les articulations controlatérales reçoivent dans les deux cas 6mL de sérum physiologique.

L'efficacité du traitement a été étudiée à différents niveaux : évaluation clinique de la boiterie (deux fois par semaine, la boiterie étant graduée de 0=absence de boiterie à 5=boiterie sévère), palpation des articulations pour mettre en évidence d'éventuelles synovites et analyse du liquide synovial de l'ensemble des articulations une fois par semaine (protéines totales, cytologies, taux de globules blancs, aspect macroscopique...), radiographies avant l'inclusion dans l'étude, après induction de l'ostéo-arthrose et à la fin du traitement (classement selon une échelle de 0 à 3, 0=aucune anomalie décelable, 3=modifications sévères), étude macroscopique et histologique d'échantillons de cartilage, de membrane synoviale et de capsules articulaires à l'autopsie.

2. Résultats

L'étude montre que les chevaux traités avec le sérum autologue présentent une nette amélioration de la boiterie, contrairement au groupe placebo. D'autre part le sérum autologue réduit de manière significative l'hyperplasie de la membrane synoviale et le taux d'IL1Ra dans le liquide synovial augmente durant le traitement. Enfin, même si les valeurs n'étaient pas significatives, il semble que les articulations traitées avec le sérum autologue présentent un cartilage moins fibrillé ainsi que des hémorragies de la membrane synoviale moindres. Les qualités macroscopiques du liquide synovial semblent ne pas être touchées.

3. Conclusion

Les auteurs concluent donc à une amélioration clinique et histologique des lésions lorsque le patient suit un traitement au sérum autologue par comparaison au groupe placebo. Il est important de noter qu'il n'y a eu aucun effet indésirable causé par le traitement, ce qui confirme l'innocuité du produit, à court terme du moins. Un seul cheval a présenté une augmentation du pourcentage relatif de neutrophiles.

B. ETUDE DE FRISBIE *et al.* (2002): Efficacité d'une thérapie génique à base d'IL1Ra dans le traitement de lésions d'ostéo-arthrose induites au niveau de l'articulation médiocarpienne

Une autre étude réalisée par FRISBIE *et al.* (2002) a cherché à mettre en évidence l'intérêt d'une thérapie génique, visant à introduire le gène codant pour l'IL1Ra dans l'articulation, pour le traitement de l'ostéo-arthrose. Leur choix s'est porté sur un adénovirus comme vecteur, car cela permet de bons résultats de transduction ; avec une séquence de gène homologue pour réduire les réponses immunitaires qui avaient eu lieu avec des séquences hétérologues dans les précédentes études réalisées. De nombreux gènes ont un effet en cas d'ostéo-arthrose : gènes codant pour les récepteurs à l'IL1 et au TNF, ou pour IL10, ou IL4 ; dans cette étude il a été choisi d'étudier l'influence d'un transfert de gène codant pour l'IL1Ra.

1. Matériels et méthodes

a) Analyses préliminaires

Après création du vecteur *in vitro*, une première manipulation a eu pour but de déterminer la dose thérapeutique idéale. Pour cela, ont été utilisés 6 chevaux âgés de 2 à 5 ans. Différentes doses de virus (0 ; 0,1 ; 1 ; 10 ; 20 ou $50 \cdot 10^{10}$ particules par articulation) ont été injectées dans les articulations : médio-carpiennes sur un membre et articulations métacarpo-phalangienne sur l'autre membre.

Une analyse du liquide synovial a été réalisée à 3 et 7 jours post traitement, et une fois par semaine jusqu'à ce que l'IL1Ra ne soit plus détectable. La couleur, la transparence du liquide synovial ainsi que la quantité de protéines totales, de globules blancs et le taux d'IL1Ra ont été étudiées.

Enfin, la sévérité de la synovite a été évaluée avant les ponctions de liquide synovial (échelle de 0 à 4), ainsi que la boiterie et le test de flexion.

b) Effectif et caractéristiques

Pour étudier l'efficacité du traitement, 16 chevaux de 2 à 5 ans, sains, ont été sélectionnés et répartis en deux groupes : un groupe traité et un groupe placebo. Tous les

chevaux ont subi une arthroscopie des deux étages médio-carpiens, au cours de laquelle les chirurgiens ont créé un fragment ostéochondral de 8 mm dans une des deux articulations choisie au hasard. L'os sous-chondral mis à jour a été débridé. Après la chirurgie, les chevaux ont été placés dans des box de taille identique : 3,65*3,65m. 14 jours après cette opération, les chevaux du groupe traités ont reçu une injection de 20×10^{10} d'Ad-Eq-IL1Ra (dans un volume total de 1 ml) dans l'articulation atteinte, et 1 ml de sérum neutre dans l'articulation contro-latérale. L'Ad-Eq-IL1Ra est le vecteur viral créé pour le gène codant pour l'IL1Ra. Les chevaux du groupe placebo ont reçu une double injection de sérum neutre. Ce même jour, l'entraînement a commencé (course sur tapis roulant) et a continué 5 jours par semaine jusqu'au 70^{ème} jour afin de simuler les conditions d'entraînement des chevaux présentant ce type de lésion.

c) Tests réalisés

Les épanchements de synovie, la boiterie et les tests de flexions ont été évalués à J14 et J70, après la chirurgie. Des radiographies des carpes ont été réalisées, avant la chirurgie et à la fin de l'étude à J70. Elles ont été notées en aveugle sur une échelle par un radiologiste (échelle de 0 = pas de changements significatifs à 3 = lyse profonde de l'os sous-chondral avec ou non fragmentation).

La synovie a été prélevée 9 fois à intervalles réguliers, entre la chirurgie et la fin de l'étude (J70 après la chirurgie). Elle a été analysée en routine et les taux d'IL1Ra et de PGE2 ont été quantifiés.

Les chevaux ont été abattus après J70. Les études post-mortem ont porté sur l'étendue et la localisation de l'érosion du cartilage, l'évaluation histologique de la membrane synoviale (infiltration cellulaire, hyperplasie de l'intima, œdème de la sub-intima ainsi que sa vascularisation et sa fibrose : chaque paramètre étant gradué sur une échelle de 0 à 4), l'évaluation histologique du cartilage (fibrillation, nécrose des chondrocytes, formation de chondrose, et pertes de cellules focalement ; graduation de 0 à 4) et l'évaluation biochimique de la matrice cartilagineuse (quantité de GAG, métabolisme du cartilage).

2. Résultats

L'étude *in vitro* a montré une augmentation des doses d'IL1Ra produites par les synoviocytes, parallèlement à l'augmentation des doses vectorielles injectées. L'activité

biologique de l'IL1Ra a été prouvée par sa capacité à inhiber la formation de PGE2 après une stimulation par de l'IL1 α humaine.

D'autre part, l'injection du vecteur Ad-EqIL-1Ra dans une articulation normale conduit à l'augmentation du taux d'IL1Ra dans le liquide synovial. La durée de production maximale d'IL1Ra (28 jours) est obtenue avec une transduction de 10 et 20*10¹⁰ particules par articulation. Les taux d'IL1Ra les plus importants sont obtenus avec la dose maximale de particules transduites (50*10¹⁰).

Lors de l'étude *in vivo* de l'efficacité du traitement, il a été montré une nette amélioration de la boiterie dans le groupe traité par opposition au groupe placebo. Les épanchements synoviaux sont aussi réduits dans le groupe traité. Les clichés radiographiques ont montré des lésions importantes pour les articulations présentant de l'ostéo-arthrose ; un peu moindre pour le groupe traité mais la différence n'est pas significative. L'étude du liquide synovial n'a pas révélé de changement concernant son aspect ou ses concentrations cellulaires. Cependant, les taux d'IL1Ra étaient fortement augmentés dans les articulations traitées et ce 7, 14 et 21 jours après transduction (soit 21, 28 et 35 jours après création de la lésion).

Les analyses post-mortem ont révélé que les lésions anatomiques correspondaient à la formation d'une ostéo-arthrose dans une zone adjacente au fragment ostéo-chondral (cela suggère que la lésion est secondaire à la lésion chirurgicale créée initialement). L'infiltration de la membrane synoviale par les lymphocytes est plus importante en présence du transfert. L'hyperplasie de l'intima et l'œdème de la sub-intima augmentent en présence des lésions d'ostéo-arthrite ; ils sont beaucoup plus importants que dans une articulation saine. La formation de chondroïtine-sulfate est bien supérieure en cas d'ostéoarthrite, de même que la production de GAG. On note une production de GAG supérieure dans les articulations traitées mais la différence n'est pas significative.

3. Conclusion

L'étude citée ici n'utilise pas des lésions spontanées d'ostéo-arthrose. Cependant c'est la première étude qui utilise un gène autologue vectorisé par un adénovirus. L'injection du traitement a lieu 14 jours après la création de la lésion ce qui diffère des autres études réalisées dans lesquelles on administrait le traitement 48h après la chirurgie. Compte tenu des résultats favorables obtenus, un tel traitement semble intéressant pour maintenir des articulations saines même après un traumatisme de ce type.

C. COMPARAISON AVEC LES RESULTATS DE L'ETUDE

L'étude présentée dans ce travail ne présente pas la même rigueur scientifique que les études expérimentales qui viennent d'être évoquées, et ce, car elle ne dispose pas de groupe témoin.

1. Effectif

Concernant l'effectif étudié, il faut remarquer que les groupes utilisés dans les études expérimentales sont de taille limitée. Dans les deux cas, les études portent sur 16 chevaux divisés en deux groupes. Notre travail porte sur un nombre supérieur de chevaux (presque le double). Plusieurs articulations étaient de plus traitées dans la majorité de nos cas, augmentant encore le nombre d'articulations soignées par rapport à la bibliographie. Cependant les études expérimentales présentent l'avantage de se limiter à une seule articulation ce qui apporte une plus grande précision dans les résultats obtenus, tant pour la réalisation de l'examen locomoteur que pour l'évaluation de l'efficacité du traitement.

2. Lésions

D'autre part les lésions étant spontanées, elles sont plus variables et ne sont pas parfaitement soumises aux mêmes contraintes, à la fois physiologiques et celles dues à l'entraînement, alors que ces deux paramètres sont standardisés dans les études expérimentales : chevaux « identiques », avec induction de lésions similaires dans une articulation donnée et qui sont ensuite soumis à un programme d'entraînement type (ce programme mimant plus les contraintes existant chez les chevaux de courses que celles qui peuvent être rencontrées chez les chevaux de CSO). Cependant, la répétabilité des actes chirurgicaux effectués par la main de l'homme n'est pas certaine.

En revanche l'étude menée ici à l'avantage de présenter des lésions spontanées, sièges des véritables processus physio-pathologiques délétères. En effet les arthropathies spontanées ne sont pas en majorité causées initialement par un fragment d'OCD comme c'est le cas dans ces études expérimentales (on a par exemple dans notre étude un seul cas présentant des fragments d'OCD sur 28 cas au total). Le rythme de travail imposé aux chevaux est variable selon le cheval lui-même et l'écurie dans laquelle il se trouve. Cela introduit bien sur des biais

dans l'étude, comme nous l'avons déjà évoqué auparavant, mais cela reproduit les conditions réelles d'emploi du produit sur le terrain.

3. Complexité des cas

Les études expérimentales ont pour avantage de porter sur des lésions uniques garantissant l'implication totale de la lésion dans le tableau clinique. D'autre part cela permet aussi de traiter uniquement cette lésion, et donc de n'utiliser pendant la période d'étude que le traitement dont on veut évaluer l'efficacité. Dans notre étude, plusieurs articulations sont souvent touchées chez un même cheval, ne permettant qu'une évaluation plus globale du traitement. D'autre part les lésions associées, en particulier les dorsalgies, bénéficient d'une médication appliquée simultanément, ce qui peut brouiller les résultats. Dans le cas de la mésothérapie, le traitement est relativement local ce qui limite les interférences possible avec le traitement intra-articulaire. En revanche les interactions possibles entre le TILDREN et l'IRAP ne sont pas négligeables et il n'est pas possibles d'évaluer distinctement dans quelle mesure les deux traitements peuvent interférer : synergie d'action, action différente ? Quel traitement a pu avoir la meilleure efficacité ? ...

4. Administration du traitement

Dans les études expérimentales, les lésions sont créées de manière brutale et sont de taille importante. De plus les chevaux sont soumis immédiatement à un entraînement intensif. Ceci diffère fortement des lésions chroniques d'apparition très progressive et associées à un travail variable. D'autre part, le traitement est administré dans ces études expérimentales, très rapidement après la création de la lésion. Bien que l'évolution de celles-ci soit accélérée compte tenu des paramètres évoqués ci-dessus, les conditions physiopathologiques ne peuvent pas être les mêmes que celles rencontrées dans une articulation où les modifications s'effectuent à bas bruit. Le traitement n'agit donc clairement pas sur le même stade d'évolution des lésions que celui qu'on peut retrouver dans la réalité.

De plus, l'utilisation du membre controlatéral de chaque cheval comme base de comparaison pour l'évaluation des lésions et des signes locaux peut présenter un biais important. En effet, il a été montré dans de nombreuses études de ce type, que les traitements mêmes locaux (et à fortiori les traitements par voie générale) avaient la capacité de diffuser

dans l'organisme et donc dans le membre controlatéral. Dans le groupe traité, les caractéristiques du membre considéré sain pourraient donc être modifiées par une imprégnation même minime par l'IRAP.

5. Critères d'étude

Les paramètres étudiés pour poser le diagnostic et évaluer l'efficacité du traitement sont semblables : examen locomoteur complet, examen d'imagerie, détection d'une éventuelle synovite ou chaleur, avant et après traitement. Les études expérimentales permettent l'exploitation de données supplémentaires car elles disposent de plus de temps et de moyen, et les chevaux sont systématiquement abattus pour des analyses histologiques de l'articulation. Cela permet donc d'obtenir une évaluation plus globale de l'efficacité du traitement et pas seulement d'un point de vue clinique (symptômes et résultats en compétition).

Cependant, les études expérimentales négligent l'aspect purement fonctionnel dans l'évaluation de l'efficacité du traitement : elles analysent les degrés de boiterie mais n'évaluent pas les performances réalisables par le cheval après le traitement. L'étude ici présentée prend en compte cet aspect, qui est sans doute le plus important aux yeux des propriétaires, en exploitant les résultats en concours pré et post-traitement IRAP.

6. Résultats

Les études expérimentales ou l'étude menée ici apportent des résultats très similaires : dans tous les cas, des améliorations très nettes de la boiterie, une diminution des signes locaux, des lésions radiographiques moins évoluées et plus stable ont été observées. Dans le cas des études bibliographiques, des améliorations histologiques et biochimiques, et dans le cas de notre étude une augmentation globale des performances des chevaux en compétition avec des propriétaires et des vétérinaires majoritairement contents ont aussi été mis en évidence.

Une des limites des études présentées dans la bibliographie est le peu de recul qu'elles ont par rapport au traitement, puisque les chevaux sont abattus au maximum 2 mois après le début du traitement. Il est donc impossible d'évaluer la durée d'action de l'IRAP à plus long terme et l'éventuelle nécessité de traitements ultérieurs. Inversement l'étude ici menée a montré qu'une des limites du traitement par l'IRAP était sa durée d'action limitée dans le

temps, puisque la majorité des chevaux ont du être traités plusieurs fois. Il serait donc intéressant de pouvoir évaluer expérimentalement les modifications histologiques et biochimiques qui interviennent après 2 mois et qui pourraient expliquer les raisons d'une efficacité de courte durée ainsi que d'objectiver par une approche expérimentale les effets d'injections répétées d'IRAP.

CONCLUSION

Cette étude est la première réalisée à ce jour en clinique pour définir l'intérêt du traitement par l'IRAP, ce qui lui donne toute son originalité. Bien que présentant des similitudes avec les études expérimentales, elle tient toutefois une place importante par le rôle complémentaire qu'elle occupe.

Les résultats au sujet de la technique sont plutôt encourageants avec de très bonnes améliorations des examens locomoteurs et des signes locaux, ainsi que des utilisateurs satisfaits. De part son mode d'action très ciblé sur l'inhibition des mécanismes pathologiques articulaires, l'utilisation de l'IRAP présente un intérêt non négligeable par rapport aux traitements articulaires couramment utilisés à ce jour qui ont une action anti-inflammatoire plus globale mais ne bloquent pas réellement les processus pathologiques à leur origine.

Il est évident que l'étude aurait plus de poids si elle avait pu être menée en double aveugle, et sur un effectif de chevaux plus important ; cela constituera certainement un autre travail sur le sujet.



MCours.com