

# TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES .....	1
TABLE DES FIGURES .....	3
TABLE DES ABREVIATIONS .....	5
Introduction .....	6
Partie 1 : L'ostéoarthrose du cheval, pathogénie et implication biochimique .....	8
1. Définition et classification .....	8
2. Facteurs prédisposants chez les équidés.....	10
2.1 Age .....	10
2.2 Traumatisme et stress mécanique.....	11
2.3 Poids et alimentation .....	11
2.4 Sexe et Race .....	12
3. Le cartilage et ses propriétés biomécaniques .....	12
3.1 Organisation macroscopique .....	12
3.2 Organisation microscopique.....	13
4. Dégradation du cartilage et bio marqueurs du métabolisme cartilagineux et osseux .....	16
5. La membrane synoviale : physiologie et dégénérescence.....	18
Partie 2 : Mise au point sur les traitements intra articulaires de routine et les nouvelles perspectives médicales .....	22
1. Intérêt et limite des molécules les plus utilisées .....	22
1.1 Triamcinolone acétonide .....	22
1.2 Acide Hyaluronique .....	25
1.3 Glycosaminoglycanes polysulfatés (PSGAGs).....	27
2. Technologies médicales .....	28
2.1 Cellulaire .....	28
2.2 L'IRAP et le RGTA .....	28
2.3 Les ondes de choc .....	30
Partie 3 : Les cellules souches issues de la moelle osseuse chez le cheval, utilisation clinique et intérêt dans la régénération articulaire .....	31
1. Caractéristiques des cellules souches issues de la moelle osseuse.....	31
2. Technique de prélèvement .....	33

3. Isolement des CSM .....	34
4. Application lors de tendinopathies .....	35
5. Application lors d'ostéoarthrose .....	37
6. Limites actuelles de leur utilisation.....	40
Partie 4 : Le concentré plaquettaire, quel rôle lui attribuer dans l'ostéoarthrose.....	41
1. Le concentré plaquettaire .....	41
2. Protocole de préparation du PRP .....	42
2.1 Technique de prélèvement .....	42
2.2 Protocole de préparation.....	42
3. Indications et protocole d'administration.....	44
4. Facteurs moléculaires mis en jeu.....	47
5. Intérêts et limites en thérapie articulaire .....	50
Partie 5 : Etude rétrospective de dix cas .....	52
1. Critères de choix des patients .....	52
2. Protocole expérimental.....	53
a) Diagnostic .....	53
b) Préparation du PRP .....	55
c) Fréquence du traitement.....	55
3. Résultats .....	56
a) Données épidémiologiques .....	56
b) Suivi clinique .....	57
c) Suivi des performances .....	57
4. Discussion .....	59
a) Limites inhérentes à l'effectif et au groupe d'étude.....	59
b) Intérêt et limite du protocole .....	60
c) Suivi du niveau de performance .....	61
Conclusion.....	63
Bibliographie.....	66

## TABLE DES FIGURES

Figure n°1 : Schéma de la diarthrose (McIlwraith 2001).....	8
Figure n°2 : Résumé des facteurs intra/extra articulaires prédisposant à la mise en place d'ostéoarthrose (Riggs 2006) .....	9
Figure n° 3 : Organisation du tissu cartilagineux (Frisbie 2006) .....	14
Figure n°4 : Structure de la matrice extracellulaire (Poole et al., 2001) .....	15
Figure n°5: Les différentes métalloprotéases engagées dans la dégradation du cartilage (Caron 2003).....	17
Figure n°6 : Résumé des changements pathologiques au sein d'une articulation arthrosique (Goodrich and Nixon, 2006) .....	20
Figure n°7 : Propriétés du liquide synovial dans différentes pathologies articulaires chez le cheval. OCD : Ostéochondrite disséquante; NS : Syndrome naviculaire; IA : Arthrite septique; OA : Ostéoarthrose. (Ticiania 2008) .....	21
Figure n°8 : Concentration et dose recommandée des corticostéroïdes couramment utilisés par voie intra articulaire (Caron 2005). .....	23
Figure n° 9 : Différentes formulations d'acide hyaluronique utilisées chez le cheval (Caron 2006).....	26
Figure n°10 : Seringue préconditionnée destinée au prélèvement IRAP (Marchat 2010) .....	29
Figure n°11 : Illustrations de trois lignées cellulaires obtenues à partir de cellules souches mésenchymateuses ; photo (A) CFU-fibroblaste ; photo (B) CFU-adipocytes ; photo (C) CFU-ostéoblastes (Vidal et al., 2006) .....	31
Figure n°12 : Schéma illustrant les différents lignages cellulaires possibles donné par une cellule souche mésenchymateuse (Caplan 2007) .....	32
Figure n° 13 : Marquage des espaces inter sternèbres préalablement à la ponction de moelle osseuse (Kasashima et al., 2011).....	33
Figure n°14 : Technique des microfractures appliquée à un condyle fémoral de cheval (McIlwraith et al., 2011) .....	38
Figure n°15 : Technique de mosaicplasty appliquée sur le condyle fémoral médial d'un cheval suite à un kyste de l'os sous chondral (Koch and Betts, 2007) .....	38
Figure n°16 : Concept de la double centrifugation pour l'obtention du PRP (Dohan et al., 2005).....	43

Figure n° 17 : Rôle des facteurs de croissance produits par les plaquettes et évaluation de leur concentration moyenne dans le PRP chez l'homme (Wroblewski et al.,2010). .....	49
Figure n° 18 : Présentation des 10 sujets sélectionnés dans l'étude.....	52
Figure n° 19 : Traitements réalisés sur les dix patients atteints d'ostéoarthrose avant l'essai du PRP.....	53
Figure n° 20 : Types et grades de boiterie observés initialement sur les 10 sujets de l'étude .	54
Figure n°21 : Protocoles de traitement et articulations traitées pour les dix sujets.....	55
Figure n°22 : Répartition des chevaux suivant leur âge lors de la réalisation du traitement à base de PRP.....	56
Figure n°23 : Articulations traitées par le PRP parmi la population étudiée. ....	57
Figure n°24 : Suivi des performances des 10 sujets à six mois et un an post traitement.....	58

## TABLE DES ABREVIATIONS

ACS	Sérum Autologue Conditionné
BMP	Bone morphogenetic protein
BSP	Bone sialoprotein
CFU	Unité de formation de colonies fibroblastiques
COMP	Cartilage oligomeric matrix protein
CS	Chondroïtine sulfate
CSM	Cellule souche mésenchymateuse
CTX-1	Carboxy-terminal cross linked telopeptides of type I collagen
EGF	Epidermal growth factor
FGF	Fibroblast Growth Factor
GAG	Glycosaminoglycane
GDF	Growth/differentiation factor
GFP	Green fluorescent protein
HA	Acide Hyaluronique
ICTP	Type I collagen nonhelical telopeptide
IGF	Insulin-like Growth Factor
Il-1	Interleukine 1
IL-1Ra	Interleukine-1 receptor antagonist protein
IRAP	Interleukin Receptor Antagonist Protein
IRM	Imagerie par résonance magnétique
KS	Kératane sulfate
MMPs	Métalloprotéases matricielles
NO	Oxide nitrique
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PGE2	Prostaglandine E2
PPP	Plasma pauvre en plaquettes
PRP	Platelet rich plasma
PSGAGs	Glycosaminoglycanes Polysulfatés
PGE2	Prostaglandine E2
RGTA	RéGéneraTing Agent
TA	Triamcinolone acétonide
TIMP	Tissus Inhibiteur de MétalloProtéinases
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumor Necrosis Factor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

## Introduction

L'ostéoarthrose, décrite comme une affection dégénérative progressive de l'articulation synoviale, est une entité pathologique couramment rencontrée en orthopédie équine. Elle est souvent la cause de boiterie et par conséquent de baisse de performance chez les chevaux de loisir et de sport (Kidd et al., 2001 ; Goodrich and Nixon, 2006).

Le mécanisme pathogénique de l'arthrose est complexe et une fois déclenché il devient difficile d'enrayer ce phénomène. C'est une pathologie frustrante pour le praticien car elle reste une maladie irréversible dont les effets fonctionnels sont difficiles à contrer (Caron 2005).

La médecine sportive dans le monde équin s'est beaucoup développée depuis une dizaine d'années et l'utilisation de la médecine régénératrice semble maintenant commune pour bon nombre de praticiens.

La thérapie qu'elle soit cellulaire ou moléculaire a déjà fait ses preuves en médecine humaine. En effet les premières greffes de moelle osseuse datent de 1959 tandis que l'utilisation du plasma riche en plaquettes faisait ses débuts en 1970 sous la forme de colle de fibrine (Dohan et al., 2005). Bénéficiant de ces avancées, la médecine vétérinaire équine les a mis à profit dans le traitement des tendinopathies (Waselau et al., 2008 ; Godwin et al., 2012) et les utilise aujourd'hui également dans la gestion des chevaux atteints d'ostéoarthrose (Carmona et al., 2005 ; Mokbel et al., 2011).

Le concept de médecine régénérative repose sur la découverte des cellules souches pluripotentes. En médecine équine courante, ce sont les cellules souches adultes qui sont le plus utilisées, la manipulation des cellules souches embryonnaires restant encore à l'état de recherche. Leur prélèvement reste accessible en clinique sous réserve de détenir un minimum de matériel. On s'intéressera particulièrement aux cellules souches mésenchymateuses autologues issues de la moelle osseuse. Douées d'auto renouvellement et de la capacité de différenciation en cellules fonctionnelles (Fortier 2005 ; Taylor and Clegg 2011), on s'attachera à définir leur rôle dans la régénération de l'os sous-chondral et du cartilage.

Bien connu par la communauté des dentistes qui l'utilisaient dans la reconstruction maxillofaciale (Matras 1985 ; Whitman et al., 1997), le plasma riche en plaquettes (PRP) connaît un essor indéniable en orthopédie depuis une vingtaine d'années. Il est très apprécié par les praticiens vétérinaires car il est simple et peu coûteux à produire. Utilisé dans la gestion des tendinopathies et de l'ostéoarthrose, son action repose principalement sur la capacité de réparation-cicatrisation du contenu plaquettaire (Blair and Flaumenhaft, 2009). Il pourra être utilisé seul ou conjointement à l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses (Ricco S. and Peroni, 2011 ; Smith et al., 2003). Le recours à la médecine régénérative donne une alternative aux traitements médicaux de l'arthrose à base d'anti-inflammatoire stéroïdiens non dénués d'effets secondaires systémiques et locaux (Gerwin et al., 2006).

**Le but de cette étude est de présenter l'état actuel des connaissances concernant l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses et du plasma riche en plaquettes dans la gestion à long terme de l'ostéoarthrose équine.** Pour cela, on commencera par définir une articulation arthrosique et en particulier les mécanismes pathogéniques mis en place puis on reviendra sur la thérapie conventionnelle de l'ostéoarthrose par voie intra articulaire. On détaillera par la suite l'utilisation clinique et l'intérêt des cellules souches mésenchymateuses issues de moelle osseuse et du PRP dans la gestion de cette entité pathologique. Puis nous terminerons sur une application clinique via une étude rétrospective de dix cas présentés au cours des quatre dernières années à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et traités par de la médecine régénérative.

# Partie 1 : L'ostéoarthrose du cheval, pathogénie et implication biochimique

## 1. Définition et classification

L'ostéoarthrose est définie en 1982 par McIlwraith comme une maladie de la diarthrose entraînant une destruction du cartilage articulaire à différents degrés accompagnée d'une sclérose de l'os sous chondral et de la formation d'ostéophytes marginaux (McIlwraith 1982). Le processus physiopathologique n'implique pas seulement le cartilage articulaire mais englobe également la capsule articulaire, la membrane synoviale, le liquide synovial, l'os sous chondral, les ligaments et les muscles péri articulaires (cf. Figure n°1).

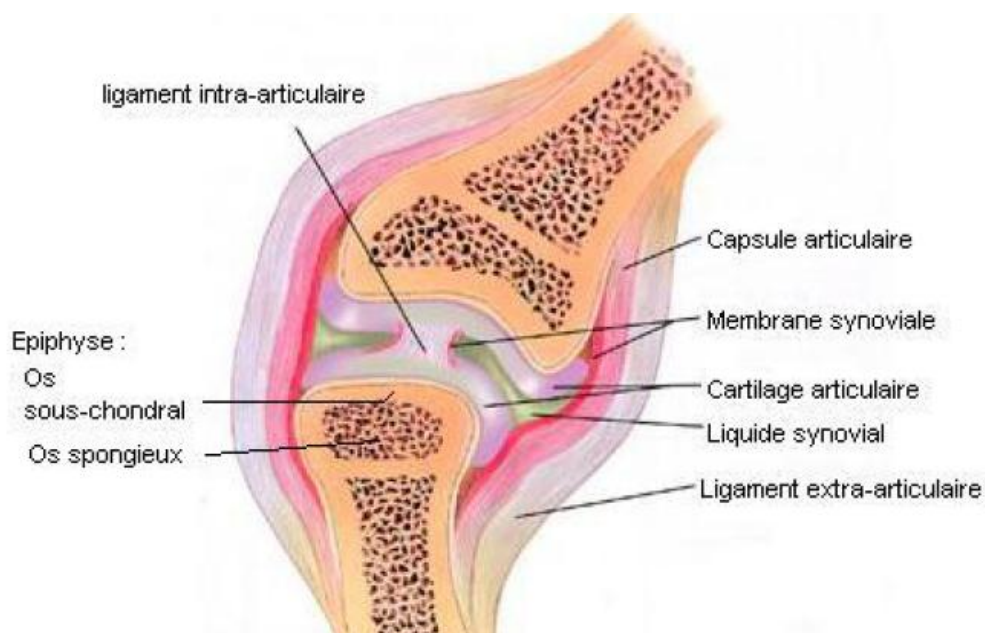


Figure n°1 : Schéma de la diarthrose (McIlwraith 2001).

Dans l'espèce humaine, l'ostéoarthrose a été définie comme la conséquence d'un déséquilibre dans la balance dégradation et régénération du cartilage articulaire et de l'os sous chondral ce qui s'applique également dans l'espèce équine où le déséquilibre catabolisme - anabolisme au sein de l'articulation est un facteur important à prendre en compte dans nos choix thérapeutiques (Lejeune et al., 2006).



La charge et le mouvement sont deux caractères essentiels à la survie et l'entretien du cartilage tandis que l'immobilisation et l'hyperpression lui sont néfastes. Ainsi l'induction de la dégradation du cartilage peut s'expliquer de manière dichotomique (Riggs 2006) (cf. Figure n°2):

L'arthrose "mécanique" (dite secondaire) où un cartilage sain va subir des contraintes anormalement fortes (hyperpression). C'est le cas lors de non congruence des surfaces articulaires (défaut de conformation: aplombs), d'instabilités articulaires ou périarticulaires (fracture, entorse, laxité...), de surcharges intempestives (poids excessif) ou de traumatismes qu'ils soient directs ou répétitifs (répétition des sauts dans certaines disciplines sportives) (Riggs 2006).

L'arthrose "structurale" (dite primaire), où une contrainte normale s'exerce sur un cartilage anormal dont la trame collagénique est déjà fragilisée. Cette fragilité peut s'instaurer suite à une lésion cartilagineuse (dégénérescence due à l'âge, contusion suite à un traumatisme, immobilisation de longue durée, ostéochondrose) ou lors de processus inflammatoire qu'il soit articulaire ou non (synovite, arthrite septique, toxicité iatrogène...) (McIlwraith 1996, Riggs 2006).

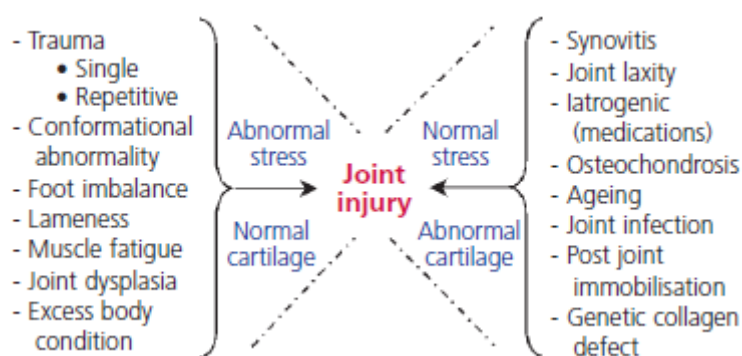


Figure n°2 : Résumé des facteurs intra/extra articulaires prédisposant à la mise en place d'ostéoarthrose (Riggs 2006)

Suite à l'avancée des connaissances dans l'approche de la pathogénie du processus arthrosique, une classification a été éditée en 1996 par le Dr Vet. McIlwraith, distinguant alors

trois catégories (McIlwraith 1996):

- le type 1 est dit primaire et associé à de la synovite et/ou capsulite. Il atteint le plus souvent le carpe, le boulet, les articulations du tarse et inter phalangiennes.
- le type 2 est associé et/ou secondaire à une atteinte articulaire tel qu'une fracture articulaire, une arthrite septique, des lésions kystiques sous chondrales, etc...
- le type 3 est une atteinte accidentelle ou non évolutive du cartilage articulaire.

Dans notre étude nous ne traiterons pas l'arthropathie dégénérative juvénile appelée aussi ostéochondrose du jeune et classée telle une ostéoarthrose de type 2.

## 2. Facteurs prédisposants chez les équidés

L'ostéoarthrose est un processus dynamique qui ne peut se limiter à une simple approche mécanique. Celle-ci est la résultante d'une combinaison de facteurs liés à l'individu lui-même mais aussi à son activité, son alimentation et son environnement (Lejeune et al., 2006).

### 2.1 Age

Comme dans l'espèce humaine, la sénescence du cartilage entraîne des modifications structurelles des tissus articulaires et péri articulaires altérant la résistance initiale aux contraintes biomécaniques favorisant ainsi l'apparition d'ostéoarthrose. Il a été reconnu que la prévalence de l'ostéoarthrose augmentait avec l'âge du cheval (McIlwraith 1996). La sénescence du cartilage intervient principalement au niveau de la matrice extracellulaire et de la phase cellulaire (chondrocytes). Une dégradation enzymatique accrue des protéoglycanes et du collagène est à l'origine de la fragilisation de la matrice extracellulaire notamment dans sa couche superficielle. La phase cellulaire subit quant à elle deux phénomènes : une réduction de la densité cellulaire ainsi qu'une prolifération et différenciation de cellules anormales (Platt et al., 1998 ; Lotz and Loeser, 2012). Ces modifications structurales et par conséquent fonctionnelles altèrent la biomécanique de l'articulation et favorisent l'apparition de lésions d'ostéoarthrose.

## 2.2 Traumatisme et stress mécanique

Le stress mécanique répétitif est un facteur prédisposant tout aussi important sur des sujets de tout âge. Le cheval en tant qu'athlète subit des contraintes mécaniques de différentes amplitudes suivant les terrains pratiqués, le type d'exercice et son intensité (saut, travail de rassemblement, endurance...) (Caron 2003). Ces contraintes mécaniques deviennent néfastes quand celles-ci sont d'une intensité trop importante, d'une durée trop longue ou d'une fréquence trop élevée (Riggs 2006 ; Pool 1996). Les contraintes imposées sur les structures articulaires d'un quadrupède de plus de cinq cent kilogrammes sont fortes, ainsi la conformation originelle (aplombs) et le parage (et/ou ferrure) des pieds jouent un rôle essentiel dans la répartition des forces (Lejeune 2006) tout comme les stabilisateurs externes représentés par les tendons, les ligaments et les muscles (McIlwraith 1996).

## 2.3 Poids et alimentation

Le surpoids est un facteur de risque reconnu chez l'Homme pour favoriser la mise en place d'ostéoarthrose sur les articulations portantes telles que le genou ou la hanche (Nevitt and Lane 1999). Chez le cheval, l'influence d'un poids excédentaire sur l'apparition d'ostéoarthrose reste encore hypothétique étant donné le peu d'études rapportées. Le surpoids et l'augmentation des contraintes sur les surfaces articulaires ne semblent pas être le seul facteur de risque. En effet, le surpoids est concomitant à l'accumulation de tissus adipeux qui est reconnu pour être métaboliquement actif et pro inflammatoire (Greenberg and Obin, 2006).

Le rôle de l'alimentation a principalement été étudié dans le cadre des pathologies orthopédiques de développement telles que l'ostéochondrose. Le taux protéique et les équilibres minéraux des rations semblent jouer un rôle dans la formation de lésions au sein des cartilages de croissance. Les pathologies ostéo-articulaires juvéniles mises à part, l'alimentation est implicitement liée au poids quant à son influence sur le développement d'ostéoarthrose (Kane 2012).

## 2.4 Sexe et Race

Dans l'espèce Humaine, l'incidence de l'ostéoarthrose chez la femme âgée de plus de 50 ans est supérieure à celle de l'homme. Le statut hormonal des femmes, déficient en oestrogènes suite à la ménopause, serait une des explications quant à la diminution de densité osseuse (Felson et al., 2000). Plusieurs études ont été réalisées sur l'ostéoarthrose du genou et de la hanche en comparant les images radiographiques de différentes ethnies (Afro-américaine, Américaine...). Les résultats sont variables d'une étude à l'autre et ne permettent pas de conclure quant à une différence de prévalence entre les différentes populations (Jordan et al., 1997 ; Tepper and Hochberg, 1993).

L'implication du sexe de l'individu dans l'apparition d'osteoarthrose chez le cheval est variable selon les populations étudiées et les études réalisées (Lejeune et al., 2006). Il existe un biais apporté par la sélection faite en amont par les éleveurs. Les meilleures femelles peuvent être écartées des terrains de compétition afin d'entamer une carrière de reproductrice. De plus, le cadre de la compétition en particulier dans les Courses, sectorise la participation des chevaux par classe d'âge et de sexe.

La Race est un facteur déterminant dans la localisation des lésions d'ostéoarthrose (Lejeune et al., 2006). Les populations étudiées sont des chevaux pré sélectionnés pour la compétition. Qu'ils soient Pur sang, Trotteur ou Cheval de Selle, chacun d'entre eux pratique une discipline phare (course de plat, dressage, saut d'obstacles,...) qui n'a pas les mêmes répercussions sur la fonction ostéoarticulaire. Ainsi les différentes articulations ne subissent pas le même stress mécanique selon la discipline pratiquée. L'implication de la Race dans la prévalence de l'ostéoarthrose est donc fortement liée à l'activité pratiquée.

## 3. Le cartilage et ses propriétés biomécaniques

### 3.1 Organisation macroscopique

Au sein de la diarthrose, le cartilage articulaire est un tissu conjonctif spécialisé assurant trois fonctions essentielles à la locomotion : transmettre les forces d'un os à l'autre, distribuer celles-ci sur une grande surface afin de réduire les contraintes et permettre le mouvement entre les surfaces articulaires en assurant une friction minimale (Frisbie 2006).

Macroscopiquement, le cartilage apparaît lisse, d'un blanc opaque et d'une épaisseur variant de 1 à 4 mm suivant l'articulation et l'âge du cheval. En tant que tissu conjonctif spécialisé, le cartilage se compose d'un seul type de cellule appelé chondrocyte, de fibres de collagène et de substance fondamentale à base de protéoglycanes, d'acide hyaluronique et de glycoprotéines (Frisbie 2006).

Peu innervé et vascularisé, le cartilage assure sa nutrition par imbibition à partir du liquide synovial et par l'intermédiaire des pressions et mouvements de l'articulation (Caron 2003).

### 3.2 Organisation microscopique

L'organisation microscopique du cartilage en quatre zones lui permet d'assurer sa fonction tout en résistant aux forces de compression et de cisaillement. Les quatre zones observées sont respectivement de la surface articulaire à l'os sous chondral (cf. Figure n°3) (Frisbie 2006) :

- La zone superficielle (ou tangentielle)

En contact avec le liquide synovial, elle constitue la surface de glissement de l'articulation. Sa densité cellulaire est la plus élevée avec des chondrocytes orientés parallèlement à la surface du cartilage. La trame collagénique est dense à fibrilles de faible diamètre (31 nm). La tangentialité des fibres s'oppose aux frottements et assure la résistance aux forces de cisaillement.

- La zone intermédiaire (ou de transition)

Les fibrilles de collagène sont orientées de manière oblique mais de façon plus aléatoire avec un diamètre plus important de 40 à 100 nm de diamètre.

- La zone profonde (ou radiée)

Les fibrilles de collagène ont le diamètre le plus élevé avec une orientation perpendiculaire à la surface s'opposant aux forces de compression. Les chondrocytes ont une forme arrondie de taille augmentée également orientés perpendiculairement. A cette profondeur la teneur en eau diminue tandis que le taux de protéoglycanes augmente.

- La zone calcifiée

Elle se différencie des trois zones précédentes par la présence de cartilage minéralisé et de chondrocytes hypertrophiés. Cette interface permet l'ancrage du cartilage hyalin à l'os sous chondral.

Cette succession des différentes couches pourvues chacune d'une organisation spécifique a pour but de répondre aux diverses contraintes que rencontre le cartilage articulaire dans sa fonction statique et dynamique.

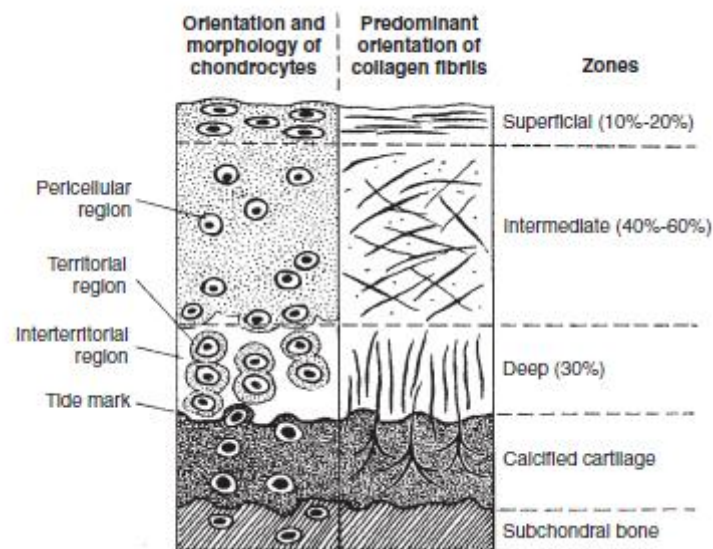


Figure n° 3 : Organisation du tissu cartilagineux (Frisbie 2006)

D'origine mésenchymateuse, le chondrocyte a pour fonction la synthèse du collagène et de la substance fondamentale. De forme arrondie à aplatie, il représente 1 à 12% du volume du cartilage. A sa surface, le chondrocyte exprime des récepteurs de type intégrine qui lui permettent d'interagir avec son environnement en particulier les constituants de la matrice extracellulaire. Les nutriments diffusent à travers ce feutrage fait de collagène et de protéoglycanes pour arriver jusqu'aux cellules. La morphologie ainsi que le métabolisme diffèrent à travers l'épaisseur du cartilage comme décrit dans la Figure n°3. Le phénotype non hypertrophique, métaboliquement très actif, est présent de la zone superficielle à la zone profonde tandis que le chondrocyte présent en zone calcifiée dit hypertrophique perd sa capacité de division et assure uniquement la minéralisation de la substance fondamentale. Lors de stress mécanique modéré, le chondrocyte privilégie un métabolisme de type

catabolique tandis qu'au soutien celui-ci devient anabolique. Cette adaptation permet un bon équilibre du métabolisme au sein du cartilage (Frisbie 2006).

Les fibres de collagène (de type II, VI, IX, X, XI, XII et XIV) groupées en faisceaux parallèles forment un feutrage offrant une grande résistance à la traction. Le collagène de type II constitue 90 à 95% du collagène total. La structure de sa fibrille en triple hélice par l'association de trois chaînes alpha 1 lui confère une grande résistance. L'orientation des fibres est variable dans l'épaisseur du cartilage : parallèles en surface, puis tangentielles en zone intermédiaire et enfin perpendiculaire en zone profonde. Deux collagènes minoritaires (type IX et XI) viennent consolider le réseau majoritaire de type II (McIlwraith 1996).

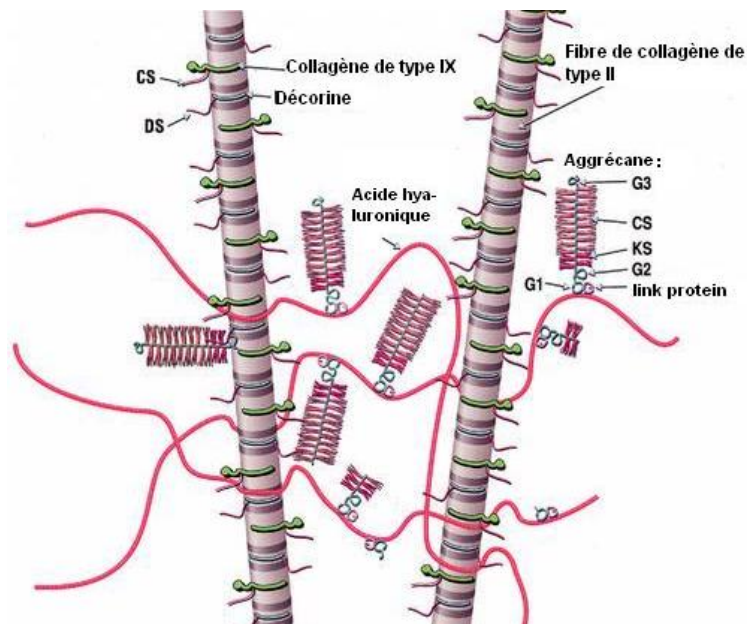


Figure n°4 : Structure de la matrice extracellulaire (Poole et al., 2001)

Le protéoglycane constitue 35% de la matière sèche de la matrice extracellulaire. Il est composé d'une protéine axiale sur laquelle se fixent des glycosaminoglycannes (GAG) type chondroïtine sulfate (CS) ou kératine sulfate (KS) (cf. Figure n°4). Les groupements sulfatés des GAG fixent des molécules d'eau et confère un caractère hygrophile aux protéoglycannes participant à la formation d'un gel au sein de la matrice extracellulaire. Les GAG qu'ils soient sulfatés (CK et KS) ou non (acide hyaluronique) stabilisent par leur liaison la trame collagénique (Poole et al., 2001).

Ce feutrage collagénique rigide et déformable associé à la viscosité du gel de protéoglycanes confère au cartilage à la fois rigidité et souplesse grâce à sa capacité d'amortissement, d'élasticité, et de compression. Lors de la mise en charge en fonction statique, la matrice extracellulaire répond à la contrainte en redistribuant les fluides vers des espaces de moindre pression par l'intermédiaire du réseau poreux de la zone superficielle. Au niveau de la couche intermédiaire et profonde, la pression hydrostatique augmente et les forces de compression s'atténuent grâce à la densité de protéoglycanes de ces deux couches. La force de cisaillement reste néanmoins présente dans la zone calcifiée, couche tissulaire moins souple que les trois sus jacents (Yun Wang 2007).

#### 4. Dégradation du cartilage et bio marqueurs du métabolisme cartilagineux et osseux

La dégradation du cartilage est la conséquence d'une perte d'équilibre entre le stress mécanique délétère imposé quotidiennement aux articulations et la capacité régénératrice de ces mêmes tissus articulaires. Trois hypothèses ont été décrites afin d'expliquer le mécanisme physiopathologique de l'arthrose. L'hypothèse la plus populaire se base sur l'altération d'un cartilage structuralement et fonctionnellement sain par l'adjonction de forces mécaniques. La lésion créée qu'elle soit matricielle ou cellulaire provoque alors un dysfonctionnement métabolique du chondrocyte à l'origine de la libération d'enzymes protéolytiques responsables de l'altération du réseau de protéoglycanes et de l'apparition de fibrillations (cf. Figure n°5) (Caron 2006).

Cette destruction enzymatique de la matrice cartilagineuse est principalement orchestrée par des cytokines, en particulier l'interleukine I (IL-1) et le Tumor necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) (McIlwraith 1996). Sécrétée par les macrophages et synoviocytes, l'IL-1 induit la libération de métalloprotéases par les chondrocytes. De plus, le TNF $\alpha$  a la capacité d'induire un grand nombre de médiateurs tels que les leucotriènes, la PGE2, d'autres interleukines dont IL-1, et des radicaux libres. Les métalloprotéases matricielles (ou MMPs) sont les principales médiatrices de l'altération du cartilage. Chez le cheval, on peut les catégoriser en trois groupes : les stromélysines, les collagénases, et les gélatinases (cf Figure n°5).



Ces enzymes protéolytiques sont retrouvées en grande quantité dans les articulations arthrosiques et exacerbent le déséquilibre métabolique en soutenant les réactions cataboliques. Elles sont capables de dégrader le collagène de type II ainsi que les protéoglycanes. Les déchets produits à l'issue de ce démantèlement se retrouvent dans le liquide synovial et vont être phagocytés par les synoviocytes qui activent à leur tour une cascade inflammatoire. Un cercle vicieux s'installe et l'inflammation s'auto-entretient par une boucle synovio-cartilagineuse contribuant à la perte de matrice cartilagineuse (Lejeune et al., 2006).

<i>Matrix Metalloproteinases Implicated In Cartilage Matrix Degradation</i>		
PROTEINASE*	MMP	CARTILAGE SUBSTRATES
<b>Collagenases</b>		
Interstitial collagenase (collagenase) <sup>†</sup>	MMP-1 <sup>†</sup>	Collagens II and X (not IX and XI), denatured type II, aggrecan, link protein
Neutrophil collagenase <sup>†</sup>	MMP-8	Collagen II, aggrecan, link protein
Collagenase 3 <sup>†§</sup>	MMP-13 <sup>†</sup>	Collagens II, IV, IX, X; aggrecan; fibronectin
<b>Stromelysins</b>		
Stromelysin 1 <sup>†</sup>	MMP-3 <sup>†</sup>	Aggrecan, fibronectin; denatured collagen II; collagens IV, IX, X, XI; procollagens; link protein; decorin; elastin; laminin
Stromelysin 2 <sup>†</sup>	MMP-10	Same as for stromelysin 1
<b>Gelatinases</b>		
Gelatinase A (72 kD) <sup>†</sup>	MMP-2 <sup>†</sup>	Denatured collagen II, collagens X and XI, elastin
Gelatinase B (92 kD) <sup>†</sup>	MMP-9 <sup>†</sup>	Aggrecan, fibronectin, collagens IX and XI, procollagens, link protein, decorin, elastin
<b>MT-MMPs</b>		
MT1-MMP <sup>†</sup>	MMP-14	Aggrecan, collagen II, denatured collagen II, fibronectin, laminin
<b>Others</b>		
Matrilysin (PUMP) <sup>†</sup>	MMP-7	Aggrecan
Stromelysin-3	MMP-11	Proteoglycan, denatured collagen II, fibronectin, laminin
Macrophage metalloelastase	MMP-12	Elastin
Novel MMP	MMP-19	Denatured collagen II, collagen IV, aggrecan, fibronectin, laminin

Figure n°5: Les différentes métalloprotéases engagées dans la dégradation du cartilage (Caron 2003)

Deux théories s'affrontent sur le rôle de l'os sous chondral dans la dégradation du cartilage (Kawcak et al., 2001). La première soutient le rôle primaire de l'os sous chondral qui en se densifiant et en se durcissant augmente les contraintes sur le cartilage. La seconde tient pour responsable un fibrocartilage néoformé qui, par son manque d'amortissement, entraîne une surcharge de l'os sous chondral. Que son rôle soit primaire ou secondaire, une boucle ostéo-cartilagineuse se met en place et entretient le catabolisme au sein de l'articulation (Lejeune et al., 2006).

L'analyse des biomarqueurs du métabolisme cartilagineux et osseux est une voie d'approche pour détecter les stades précoces d'ostéarthrose et suivre son évolution. Les biomarqueurs qu'ils soient directs ou indirects sont des indicateurs d'un turnover anormal d'un tissu squelettique. Dans le cas de pathologies ostéoarticulaires, ces molécules sont recherchées dans le liquide synovial mais aussi dans la circulation sanguine lorsque l'os sous chondral est atteint (McIlwraith 2005).

Les biomarqueurs directs du processus catabolique du cartilage sont issus de la dégradation des constituants de la matrice. La mesure des fragments de collagène de type II par l'intermédiaire d'anticorps (Garvican et al., 2010) permet de quantifier la dégradation du cartilage. En revanche, la mesure des glycosaminoglycanes, des chondroitines et keratane sulfate et de la COMP (ou cartilage oligomeric matrix protein) semble être remis en question (McIlwraith 2005).

Dans le cas du catabolisme osseux, les biomarqueurs sont des témoins de la résorption osseuse. L'ICTP (type I collagen nonhelical telopeptide) et le CTX-1 (carboxy-terminal cross linked telopeptides of type I collagen) décrits dans l'espèce humaine sont difficilement interprétables chez le cheval puisqu'ils varient en fonction de l'âge. Néanmoins il existe une protéine spécifique de l'interface os-cartilage appelée BSP (bone sialoprotein) dont la concentration synoviale et sérique augmente lors de lésion (McIlwraith 2005).

Les biomarqueurs indirects sont également source d'information. Ils ne sont pas issus des tissus ostéoarticulaires mais sont capables d'influencer le métabolisme cartilagineux et osseux. Ils incluent les enzymes protéolytiques et leurs inhibiteurs, les facteurs de croissance, et les cytokines proinflammatoires. Selon une étude, la concentration synoviale de TNF $\alpha$  ne semble pas être corrélée avec le degré de lésions articulaires observées (Jouglin et al., 2000). En revanche les concentrations de métalloprotéases et de PGE2 (prostaglandine E2) sont de bons marqueurs de pathologie articulaire (McIlwraith 2005).

## 5. La membrane synoviale : physiologie et dégénérescence

La membrane synoviale est un tissu conjonctif lâche tapissant la cavité articulaire excepté le cartilage et les ménisques. Elle est constituée de deux couches : l'intima et la subintima

(Frisbie 2006).

Dotée d'une épaisseur d'une à quatre couches cellulaires, l'intima n'est pas pourvue de membrane basale. Elle assure ses deux fonctions principales de phagocytose et d'activité sécrétoire protéique via l'activité respective des synoviocytes de type A et B. Il existe un troisième type cellulaire dit « de type C » représentant un intermédiaire entre les deux types précédemment cités. Le synoviocyte de type B représente la population cellulaire la plus abondante et synthétise plusieurs macromolécules dont le collagène et l'acide hyaluronique. Les synoviocytes permettent ainsi l'élaboration du liquide synovial par la sécrétion de diverses protéines (Caron 2003). L'intima recouvre la seconde couche composant la membrane synoviale appelée subintima. Cette couche la plus proche de la capsule articulaire est un tissu fibreux plus ou moins adipeux selon les articulations, richement innervé et vascularisé par des capillaires fenestrés lui valant le nom de tissu aérolé (Frisbie 2006). Son organisation sous la forme de villosités lui permet d'assurer sa fonction d'échange entre la circulation sanguine et le liquide synovial.

Décrit tel un ultra-filtrat de plasma, le liquide synovial articulaire dans des conditions physiologiques se présente tel un liquide non coagulable de couleur jaune clair et de composition visqueuse (Steel 2008). Issu d'un processus de filtration et de sécrétion de la membrane synoviale, il assure deux fonctions principales que sont l'apport d'éléments nutritifs nécessaires au cartilage et la lubrification de l'articulation. Ce dialysat modifié a une composition proche de celle du plasma sanguin mise à part un taux de protéines plus faible (de l'ordre de 25 à 35% des concentrations plasmatiques du cheval), une composition cellulaire diminuée et une concentration élevée en acide hyaluronique. Les polymères d'acide hyaluronique et la lubricine confèrent au liquide synovial sa viscosité et sa pression oncotique élevée. De part ses fonctions, le liquide synovial est le reflet du métabolisme au sein de l'articulation qu'il soit anabolique ou catabolique. L'élimination des déchets est permise par l'activité phagocytaire de la membrane synoviale (Frisbie 2006).

Lorsque l'ostéoarthrose est initiée au sein d'une articulation, le cartilage subit des dommages entraînant la libération de débris cartilagineux et de médiateurs pro inflammatoires dans le liquide synovial. Il s'en suit une synovite responsable de l'altération des capacités fonctionnelles de la membrane synoviale et par conséquent un changement de composition du

liquide synovial (cf Figure n°6). Dans le cas d'ostéoarthrose, la membrane synoviale se dégrade : elle devient congestionnée, se décolore puis s'amincit (Goodrich and Nixon, 2006). Les synoviocytes sont capables de sécréter une multitude d'enzymes qu'elles soient cataboliques ou anaboliques telles que les métalloprotéases, les prostaglandines et les cytokines (Frisbie 2006). Les anomalies histologiques retrouvées sont de l'œdème, une hyperplasie de l'intima, une infiltration par des cellules inflammatoires, une fibrose de la subintima et une hypervascularité (Frisbie 2006). Si le processus inflammatoire n'est pas contrôlé des changements histologiques irréversibles peuvent alors s'installer (Goodrich and Nixon, 2006).

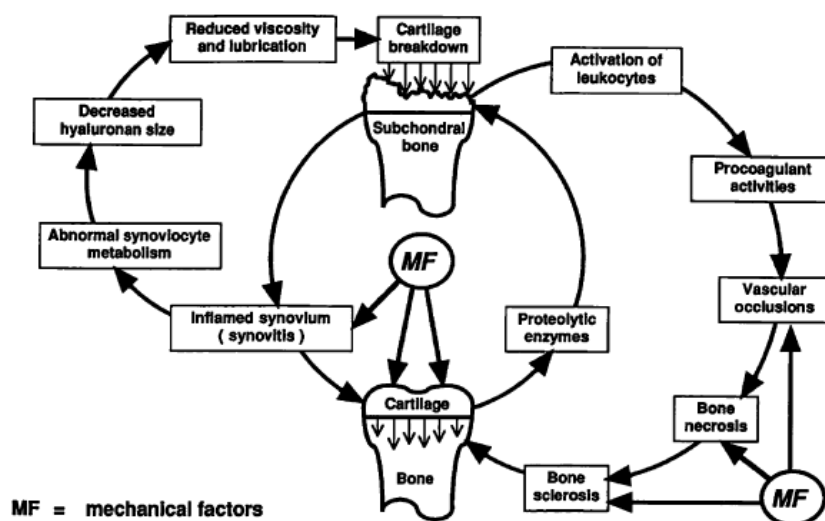


Figure n°6 : Résumé des changements pathologiques au sein d'une articulation arthrosique (Goodrich and Nixon, 2006)

L'aspect macroscopique du liquide synovial peut s'évaluer par sa couleur, sa turbidité, son volume et sa viscosité. Lors de pathologie dégénérative, la couleur est variable entre un jaune clair et opaque contenant ou non du matériel suivant la sévérité de la synovite. La viscosité est

normale à diminuée suivant le degré d'atteinte de la membrane synoviale à l'origine de la synthèse d'acide hyaluronique (cf Figure n°7).

Diagnosis	Appearance	Viscosity	Total protein g/dL	Mucin	Leukocytes cells/ $\mu$ L
Normal	Pale yellow; clear	High	1.81 $\pm$ 0.26	good	167 $\pm$ 21
OCD	Colourless to yellow	High Low	2.1 $\pm$ 1.2	Good to fair	$\leq$ 1000
NS	Colourless, yellow, Bloody	Low	1.7 $\pm$ 0.8	Fair to poor	$\leq$ 1000
IA	Pale yellow to dark yellow; Turbid	Low	3.95 $\pm$ 0.79	Very poor	105 775 $\pm$ 25520
OA	Pale yellow; clear; opaque; some flocculent material	Low	1.84 $\pm$ 0.27	Good to fair	5000 -10000

Figure n°7 : Propriétés du liquide synovial dans différentes pathologies articulaires chez le cheval. OCD : Ostéochondrite disséquante; NS : Syndrome naviculaire; IA : Arthrite septique; OA : Ostéoarthrose. (Ticiano 2008)

Une viscosité standard permet de produire à partir du liquide synovial recueilli un filament d'au moins 2,5 cm de long avant de se rompre (Trotter and McIlwraith, 1996). Le volume du liquide synovial est souvent augmenté lors de synovite active. L'augmentation de la perméabilité vasculaire et une diminution du drainage lymphatique entraîne l'apparition d'effusion synoviale. Celle-ci crée une gêne mécanique et sensorielle à l'origine d'une réduction de la mobilité articulaire qui contribue à l'altération de la membrane synoviale mais aussi de la capsule articulaire (Goodrich and Nixon, 2006). Lors de troubles inflammatoires chroniques, la membrane synoviale n'a plus la capacité de filtrer de manière adéquate et laisse passer certaines protéines telles que les globulines. La concentration de protéines totales dans le liquide synoviale témoigne d'une inflammation lorsque celle-ci dépasse 2,5g/dL. Le comptage cellulaire des leucocytes dans un liquide synovial sain peut varier selon les auteurs de 87 à 167 cellules/ $\mu$ L (Trotter and McIlwraith, 1996). Contrairement à l'Homme, l'espèce

équine présente des taux cellulaires plus élevés lors d'ostéoarthrose comme décrit dans la Figure n°7.

Ainsi lors de pathologie ostéoarticulaire, l'analyse du liquide synovial fait partie intégrante de l'examen locomoteur. Les paramètres relatifs à son apparence et à son évaluation biochimique procurent des indications quant au degré d'inflammation au sein de l'articulation (McIlwraith et al., 2001) et permettent d'évaluer plus finement la réponse aux traitements effectués par la suite.

## Partie 2 : Mise au point sur les traitements intra articulaires de routine et les nouvelles perspectives médicales

De nombreux médicaments sont disponibles sur le marché pour la gestion de l'ostéoarthrose que se soit par voie systémique ou par voie locale sous forme d'intra articulaire. Afin de contrer ce processus dégénératif complexe, le traitement idéal devra arrêter la cascade inflammatoire mise en jeu, supprimer la douleur associée et restaurer le cartilage dégradé en ayant le moins d'effets secondaires possibles. Aucune thérapeutique répondant à ces critères n'est pour l'instant disponible. La thérapie médicale par voie locale est couramment utilisée parmi les praticiens notamment par l'utilisation d'anti-inflammatoires stéroïdiens, de chondroprotecteurs et d'inhibiteurs d'Il-1 (interleukine I) (Caron 2006).

### 1. Intérêt et limite des molécules les plus utilisées

#### 1.1 Triamcinolone acétonide

La triamcinolone acétonide (TA) est un anti-inflammatoire stéroïdien utilisé couramment par voie intra articulaire dans le cadre du traitement de l'ostéoarthrose. Ce stéroïde de synthèse est un puissant anti inflammatoire utilisé principalement dans les articulations à haute mobilité (Ferris et al., 2009). L'action des corticostéroïdes est centrée sur le contrôle de la douleur et

de l'inflammation par l'inhibition de la synthèse de prostaglandines notamment en bloquant deux enzymes appelées phospholipase A2 et cyclooxygénase 2 (Caron 2005). Ils interviennent également dans la cascade inflammatoire comme inhibiteurs de cytokines dont l'interleukine I et le TNF $\alpha$  (Tumor Nécrosis Factor alpha), médiateurs engagés dans la dégradation du cartilage (Laufer et al., 2002).

Dans la gestion médicale d'une articulation arthrosique, le praticien est confronté à plusieurs choix : le corticostéroïde à utiliser, la dose et le temps de repos associé. Les trois principaux corticostéroïdes disponibles pour les vétérinaires équins sont l'acétate de méthylprednisolone, l'acétonide de triamcinolone et la bétaméthasone (Frisbie 2012). Le choix de la molécule repose sur son efficacité anti-inflammatoire, sa durée d'action, l'articulation à traiter et les effets secondaires associés. La dose administrée dans une articulation dépend quant à elle du volume articulaire, de la sévérité des lésions et des éventuelles autres articulations à traiter. Les doses classiquement employées sont répertoriées sur la figure n°8. Concernant l'acétonide de triamcinolone, il est recommandé de pratiquer 6 à 12 mg par articulation avec un maximum de 18 mg (Frisbie 2012 ; Caron 2005).

Generic name	Trade name (manufacturer)	Concentration (mg/mL)	Potency		Duration of action <sup>b</sup>	Recommended maximum total dose (mg) <sup>c</sup>
			Dose range <sup>a</sup> (mg)	relative to hydro- cortisone		
Betamethasone acetate	Celestone Soluspan (Schering-Plough, Kenilworth, NJ)	6 <sup>d</sup>	3–18	30	Medium to long	30
Methyl- prednisolone acetate	DepoMedrol (Pfizer, Cambridge, MA)	40	40–120	5	Long	200
Triamcinolone acetonide	Vetalog (Solvay, Marietta, GA)	6	6–18	5	Medium	18

<sup>a</sup> Dose ranges are somewhat arbitrary and vary according to joint injected. Doses at lower end of range are generally recommended.

<sup>b</sup> Initial response and duration of clinical effects vary widely.

<sup>c</sup> Maximum total doses based on collective clinical experience.

<sup>d</sup> Each mL contains betamethasone acetate (3 mg) and betamethasone sodium phosphate (3 mg).

Figure n°8 : Concentration et dose recommandée des corticostéroïdes couramment utilisés par voie intra articulaire (Caron 2005).

L'usage de la voie locale sous forme intra articulaire permet de limiter la dilution au sein de l'organisme, d'obtenir une concentration élevée d'anti inflammatoire directement au sein de l'articulation lésée et de réduire les effets systémiques secondaires au médicament utilisé. Les effets délétères rapportés suite à l'usage de corticostéroïdes sont un hypocorticisme iatrogène par inhibition de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et l'induction éventuelle d'une fourbure en cas de surdosage. Il convient de préciser que le risque de fourbure associé aux injections intra articulaires de corticostéroïdes a été étudié et décrit comme minimal aux doses recommandées (McCluskey and Kavenagh, 2004). La voie intra articulaire n'est toutefois pas dénuée de risque. Chez le cheval, tout comme chez l'Homme, des cas de synovite réactionnelle sévère suite à l'injection de corticostéroïdes (aussi appelé steroid flare) ont déjà été rapportés. Il convient également de respecter une préparation chirurgicale soignée avant d'infiltrer l'articulation car celle-ci peut engendrer une arthrite septique si une bactérie est injectée de manière concomitante au corticostéroïde (Edwards 2011).

La réponse clinique au traitement est étroitement liée à son activité analgésique car souvent jugée à partir du grade de boiterie observé à court et à long terme. Chez l'Homme, les injections de corticoïdes intra articulaires dans un genou atteint d'ostéoarthrose procurent une amélioration temporaire de l'ordre de trois semaines seulement (Bellamy et al., 2002). La persistance des corticostéroïdes au sein de l'articulation a fait l'objet de plusieurs publications même s'il est difficile de corréler efficacité biologique et pharmacodynamie. Chen *et al.* en 1992 montrent, après une injection intra articulaire de 6 mg de TA dans trois articulations chez un cheval, que la persistance du glucocorticoïde au sein du liquide synovial n'est plus détectable quinze jours post injection. L'efficacité *in vivo* de la molécule est dépendante de multiples facteurs tels que la dose administrée, la solubilité du produit, le taux de conversion en métabolites actifs ainsi lorsque la molécule initiale n'est plus détectable au sein du liquide synovial ce sont les métabolites actifs fixés à des récepteurs cytoplasmiques qui représentent la véritable activité biologique (McIlwraith 2010).

Les principales limites du traitement à base de corticostéroïdes intra articulaires reposent sur la répétabilité et les effets secondaires potentiels. Chez l'Homme il est recommandé de ne pas dépasser deux à trois traitements par an (De Jaeger et Cherin, 2011). Il a été suggéré que la répétition des injections pourrait amener une toxicité vis-à-vis du cartilage, en particulier sur le métabolisme chondrocytaire (Céleste et al., 2005). A de fortes concentrations, les



corticostéroïdes inhibent la synthèse du collagène, des protéoglycanes et de l'acide hyaluronique jusqu'à provoquer la mort des chondrocytes au sein du cartilage (Todhunter et al., 1996). Cette toxicité est sujette à controverse car elle n'a été mise en évidence que pour certaines molécules et à des concentrations supérieures à celles utilisées en pratique courante. De plus, aux doses recommandées, il a été mis en évidence dans de récentes études que la triamcinolone acétonide possède des propriétés chondroprotectrices (Bolt et al., 2008) à l'inverse d'autres corticoïdes tels que la méthylprednisolone.

## 1.2 Acide Hyaluronique

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane non sulfaté présent dans l'articulation de manière physiologique. Produit par les synoviocytes, les fibroblastes et les chondrocytes, on le retrouve dans la matrice extracellulaire ainsi que dans le liquide synovial. Il confère sa viscoélasticité au liquide synovial permettant ainsi la lubrification des surfaces articulaires et tient un rôle important dans l'agencement des protéoglycanes au sein de la matrice extracellulaire (Iannitti et al., 2011). Lors d'ostéoarthrose, le poids moléculaire et la concentration d'acide hyaluronique diminuent suite à une augmentation de volume du liquide synovial et à une réduction de sa synthèse (Gerwin et al., 2006) contribuant ainsi à l'apparition de lésions mécaniques du cartilage articulaire.

Initialement utilisé sous le concept de viscosupplémentation dans le traitement des pathologies ostéoarticulaires, l'acide hyaluronique possède d'autres propriétés pharmacologiques participant au maintien de l'homéostasie articulaire (Caron 2005). Par l'intermédiaire du récepteur CD44 présent sur un large panel de cellules au sein de l'articulation dont le chondrocyte, l'acide hyaluronique est doté de divers effets biologiques. Il permet une diminution de la migration et de l'activation des leucocytes, l'élimination des radicaux libres, une régulation de la production de prostaglandine E2 par les synoviocytes et les chondrocytes, et l'inhibition de certaines métalloprotéases (Frean and Lees, 2000 ; Caron 2005 ; Iannitti et al., 2011). Il a également été rapporté que l'injection d'acide hyaluronique exogène dans l'articulation initie une augmentation de synthèse d'acide hyaluronique par les synoviocytes de type B et la production accrue des protéoglycanes par les chondrocytes (Caron 2005). Au-delà des propriétés anti inflammatoires et chondroprotectrices conférées à l'acide hyaluronique, il procure un effet analgésique cliniquement observable via son activité

antinociceptive (Gerwin et al.,2006).

Plusieurs formulations d'acide hyaluronique sont commercialisées avec des poids moléculaires variables (cf Figure n°9). L'utilisation d'acide hyaluronique de poids moléculaire élevé, c'est-à-dire supérieur à  $1.10^6$  Daltons, semble être plébiscité en terme de réponse clinique et d'activité chondroprotectrice (Phillips 1989). Toutefois, la corrélation entre l'efficacité de l'acide hyaluronique exogène utilisé et son poids moléculaire soulève de nombreuses oppositions dans la littérature et mériterait une étude clinique approfondie (Goodrich and Nixon 2006 ; Richardson and Ricardo, 2007).

Trade name	Manufacturer	Molecular weight* (Daltons)	Concentration	Recommended dose <sup>†</sup>
Equron	Solvay Animal Health	$1.5-2.0 \times 10^6$	5 mg/mL	10 mg
Equiflex	Chesapeake Biological	$1 \times 10^6$	5 mg/mL	10 mg
HY-50	Bexco Pharma		17 mg/mL	51 mg
Hyalovet (Hyalovet-20)	Fort Dodge/Vetrepharm	$4-7 \times 10^5$	10 mg/mL	20 mg
Hycoat <sup>†</sup>	Neogen	$> 1.0 \times 10^5$	5 mg/mL	30 mg
Hylartin V (Hylartil Vet)	Pharmacia and Upjohn	$3.5 \times 10^5$	10 mg/mL	20 mg
Hyvisc	Vetmedica	$2.1 \times 10^5$	11 mg/mL	20 mg
Legend (Hyonate)	Bayer Corporation	$3 \times 10^5$	10 mg/mL	40 mg (IV)
MAP – 5 <sup>§</sup>	Vetrepharm	$7.5 \times 10^5$	10.3 mg/mL (2 mL) 5 mg/mL (10 mL)	20 mg
Synacid	Schering-Plough	$0.15-0.20 \times 10^6$	10 mg/mL	50 mg

Figure n° 9 : Différentes formulations d'acide hyaluronique utilisées chez le cheval (Caron 2006)

La dose à administrer par articulation varie le plus souvent de 20 à 40 mg selon l'articulation concernée et la sévérité des lésions observées. Plusieurs doses d'acide hyaluronique ont été testées sur un modèle d'ostéoarthrose équine et il a été mis en évidence qu'une dose de 20mg par articulation permettait une amélioration significative du degré de boiterie (Auer and Fackelman, 1981). Inspiré des études réalisées en Humaine, la fréquence recommandée est d'une injection intra articulaire d'acide hyaluronique par semaine et ce pendant trois semaines (Gerwin et al.,2006). Cette fréquence d'injection s'explique en partie par la demi-vie limitée de l'acide hyaluronique exogène au sein de l'articulation qui n'est que de quelques heures. Par analogisme avec l'Homme, il semblerait que ce traitement intra articulaire chez le cheval soit plus bénéfique à un stade débutant d'ostéoarthrose avec des lésions radiographiques discrètes plutôt que sur des cas chroniques (Caron 2005). Etant donné le coût prohibitif des différentes

formulations, cet argument joue un rôle essentiel dans le protocole de traitement choisi par le praticien.

La combinaison d'acide hyaluronique et d'un corticostéroïde par voie intra articulaire dans la gestion de l'ostéoarthrose est devenue une pratique courante. Cette association a déjà montré des effets synergiques chez l'Homme dans des cas d'ostéoarthrose du genou (Leardini et al.,1991). Chez le cheval, seules des études in vitro se sont intéressées à cette association. Toutefois, les praticiens en orthopédie équine reconnaissent de manière empirique les effets bénéfiques de cette combinaison (Howard and McIlwraith, 1993).

### 1.3 Glycosaminoglycanes polysulfatés (PSGAGs)

Le glycosaminoglycane polysulfaté est principalement constitué de chondroïtine sulfate. On le retrouve notamment dans l'architecture des protéoglycanes au sein du cartilage. Pourvu d'un poids moléculaire moyen de 6kDa, des propriétés chondroprotectrices et anti-inflammatoires lui sont conférées mais son mécanisme d'action reste encore inconnu (Caron 2005). Certaines études rapportent une action inhibitrice des PSGAGs sur des enzymes et des cytokines telles que l'interleukine-I, les métalloprotéases et la prostaglandine E2 (Todhunter and Lust,1994).

Commercialisés sous le nom déposé Adequan, les PSGAGs sont produits à partir d'une source animale bovine et leur formulation permet une administration intramusculaire ou intra articulaire. Les protocoles recommandés sont de 250mg par voie intra articulaire une fois par semaine pendant 3 à 5 semaines, ou 500mg par voie intramusculaire tous les 3 à 7 jours pour un minimum de 4 à 5 semaines (Malone 2002). En raison du risque d'arthrite septique secondaire, l'administration conjointe d'un aminoglycoside (125mg d'amikacine) est recommandée lors d'injection intra articulaire de PSGAGs (Caron 2005). Malgré les risques décrits ci-dessus, plusieurs auteurs plébiscitent la voie articulaire en terme de réponse clinique (Caron 2005, Frisbie 2012). Rarement utilisé seul de façon curative, son prix et sa fréquence d'administration limitent son utilisation en pratique courante au profit d'autres molécules.

## 2. Technologies médicales

Les thérapies médicales par voie intra articulaire couramment utilisées visent principalement à enrayer la cascade inflammatoire mise en place et atténuer la douleur mais celles-ci ne permettent pas la régénération du cartilage. De nouvelles technologies issues de la médecine sportive Humaine sont maintenant accessibles afin de réparer les dommages cellulaires engendrés par l'ostéoarthrose (Hannouche 2008 ; De Jaeger and Cherin,2011).

### 2.1 Cellulaire

La manipulation des cellules souches présente un grand intérêt en médecine Humaine et Animale pour ses capacités de différenciation et de régénération tissulaire. En orthopédie équine, ce sont les cellules souches adultes multipotentes les plus exploitées (Koch et al., 2009). Les sites de prélèvement de cellules souches mésenchymateuses couramment utilisés sont la moelle osseuse (sternum, tubérosité coxale,...) ou le tissu adipeux (à la base de la queue). D'autres sources de cellules souches sont également décrites comme le placenta, la membrane synoviale, le cordon ombilical ou le sang périphérique (Brehm et al., 2012).

Suivant le milieu de culture dans lequel les cellules souches mésenchymateuses seront placées, elles pourront donner naissance à différentes lignées telles que des ostéocytes, adipocytes, ou chondrocytes (Taylor et al., 2007). La culture de ces cellules a pour but la régénération du cartilage, de l'os ou du tendon (Stewart M.C. and Stewart A.A., 2011). Dans les cas d'ostéoarthrose, le traitement s'effectue par voie locale en intra articulaire sous forme de suspension et plus récemment sous forme de greffons. Il existe aujourd'hui des compagnies mettant à disposition des kits de prélèvement pour les vétérinaires en assurant la mise en culture et le renvoi d'un échantillon de cellules souches dans les trois semaines suivantes (Gutierrez-Nibeyro 2011).

### 2.2 L'IRAP et le RGTA

L'IRAP est un sérum autologue conditionné enrichi en protéines IL-1Ra (Interleukine-1 receptor antagonist protein) ayant pour but de bloquer l'interleukine I, cytokine reconnue comme principale médiatrice de l'inflammation au sein de l'articulation (Frisbie 2005). Les

protéines IL-1Ra présentes dans le sérum se fixent sur les récepteurs de l'interleukine I des chondrocytes mais n'entraînent aucune réponse cellulaire. Leur action est essentiellement mécanique en empêchant l'interleukine I de se fixer à son récepteur. Il a été montré que cette fixation des protéines IL-1Ra permettait d'inhiber la production de métalloprotéases et de réduire la synthèse de PGE2, de NO (oxyde nitrique) et l'expression d'autres cytokines coupant ainsi le processus de dégradation au sein du cartilage (Caron et al., 1996).

Commercialisé sous le nom Orthokine<sup>ND</sup>, ACS (sérum autologue conditionné) ou plus communément IRAP pour la France, le sérum est obtenu à partir d'un échantillon de sang total prélevé de manière aseptique. Sa réalisation nécessite plusieurs étapes incluant un temps d'incubation de 24 heures, une centrifugation puis une extraction et filtration du sérum obtenu. C'est la phase d'incubation, au contact des billes de verre et des leucocytes, qui permet la production des protéines IL-1Ra (Marchat 2010) (cf Figure n°10).



Figure n°10 : Seringue préconditionnée destinée au prélèvement IRAP (Marchat 2010)

Utilisé majoritairement dans les pathologies articulaires, il est indiqué lors d'inflammation articulaire aseptique aigue ou chronique. Le protocole d'administration couramment recommandé est de trois injections intra articulaires à dix jours d'intervalle et le volume injecté dépend de l'articulation traitée et des lésions observées. Vendu sous forme de kit, son prix et sa fréquence d'administration restent un frein à son utilisation même si celle-ci a prouvé une amélioration clinique et histologique sur des chevaux atteint d'ostéoarthrose (Frisbie et al., 2007).

impliqués dans l'homéostasie tissulaire. Ce sont des biopolymères de synthèse à base de glucose intervenant dans la reconstitution et la protection de la matrice extracellulaire (Guéneac 2003). Lors de lésions affectant la matrice extracellulaire cartilagineuse, les RGTA se substituent aux glycosaminoglycanes et notamment aux héparanes sulfates afin de protéger les signaux protéiques tels que les facteurs de croissance, les cytokines et les chimiokines contre les dégradations protéolytiques (Barritault and Caruelle, 2006). L'utilisation clinique des RGTA est très variée tout comme la composition de ses agents, différant chacun suivant le type de substitution et le dextran d'origine. En médecine Humaine, des essais cliniques sur les RGTA ont donné des résultats satisfaisants en terme de cicatrisation sur les tissus de surface tels que la peau et la cornée (Barritault et al., 2010). De plus, certains RGTA ont montré des capacités à accélérer les processus cicatriciels sur différents tissus ou organes lésés (muscle, os, nerf, cœur,...) (Colombier et al., 1999 ; Meddahi et al., 2002) . En médecine vétérinaire, les RGTA sont encore à l'état de recherche. Les résultats préliminaires de tolérance de ces agents par voie intra articulaire chez le cheval semblent prometteur mais nécessitent d'être validés sur un échantillon de chevaux plus large de même que sa posologie et sa toxicité à plus long terme (Guéneac 2003).

### 2.3 Les ondes de choc

Les ondes de choc sont utilisées depuis plusieurs années dans le traitement des tendinites et autres pathologies ligamentaires. Cette technologie est depuis également utilisée dans la gestion de l'ostéoarthrose comme technique non invasive et dépourvue d'effets secondaires (Revenaugh 2005). On lui prête des propriétés analgésiques par désensibilisation des terminaisons nerveuses que l'on retrouve au niveau de l'os sous chondral et de la membrane synoviale. Une étude récente sur un modèle d'ostéoarthrose induit au niveau de l'articulation inter carpienne a démontré une amélioration clinique de la boiterie mais aucune différence notable avec le groupe placebo n'a été mise en évidence après inspection du liquide synovial et des tissus articulaires (Frisbie et al., 2009). A l'inverse, une autre étude utilisant des rats comme modèle, met en évidence un effet chondroprotecteur associé à un remodelage de l'os sous chondral sur le groupe traité aux ondes de choc (Ching-Jen Wang et al., 2011). Plusieurs théories sont avancées afin d'expliquer leur mode d'action. De nombreuses propriétés leur sont conférées dans la littérature: l'induction de l'angiogénèse, l'augmentation des facteurs de croissance dans les tissus osseux, la réduction de l'oxyde nitrique... (Sablayrolles et al.,

2006). Le mécanisme reste malgré tout encore inconnu et a pour conséquence une utilisation empirique des machines à ondes de choc avec des protocoles d'administration et des périodes de repos associées très hétérogènes (Revenaugh 2005).

## Partie 3 : Les cellules souches issues de la moelle osseuse chez le cheval, utilisation clinique et intérêt dans la régénération articulaire

### 1. Caractéristiques des cellules souches issues de la moelle osseuse

On distingue au sein de la moelle osseuse d'une part les cellules souches hématopoïétiques responsables du renouvellement à long terme de l'ensemble des cellules sanguines, myéloïdes et lymphoïdes, et d'autre part les cellules souches mésenchymateuses disposées dans le stroma médullaire et responsables du renouvellement du tissu squelettique. Les cellules souches mésenchymateuses sont présentes en faible nombre et représenteraient 0.001–0.01% des cellules mononucléaires récoltées à l'issue d'une aspiration de moelle osseuse (Fortier 2005). Indifférenciées et douées d'auto renouvellement par nature, ces cellules souches dites « adultes » sont considérées comme multipotentes car elles ne peuvent se transformer qu'en un nombre restreint de lignages cellulaires (cf. Figure n°12). Ainsi une cellule souche mésenchymateuse a la capacité de se différencier en différentes cellules telles que les ostéoblastes, chondrocytes, ténocytes, adipocytes, myocytes et cellules stromales (Taylor et al., 2007) (cf. Figure n°11).

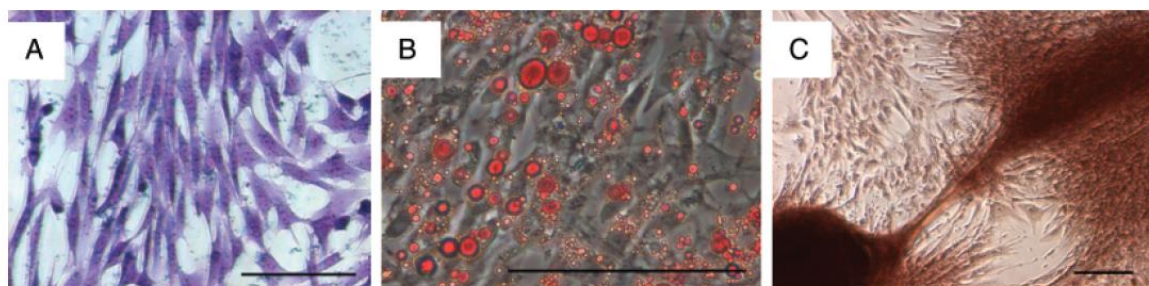


Figure n°11 : Illustrations de trois lignées cellulaires obtenues à partir de cellules souches

mésenchymateuses ; photo (A) CFU-fibroblaste ; photo (B) CFU-adipocytes ; photo (C) CFU-ostéoblastes (Vidal et al., 2006)

A l'état de quiescence au sein de sa niche représentée ici par la moelle osseuse, la cellule souche ne s'active qu'en présence d'un stimulus environnemental destiné à la régénération d'un tissu. Elles participent ainsi à l'homéostasie tissulaire en permettant un turn over cellulaire physiologique mais aussi en réparant les lésions occasionnées à l'organisme (Bismuth 2008).

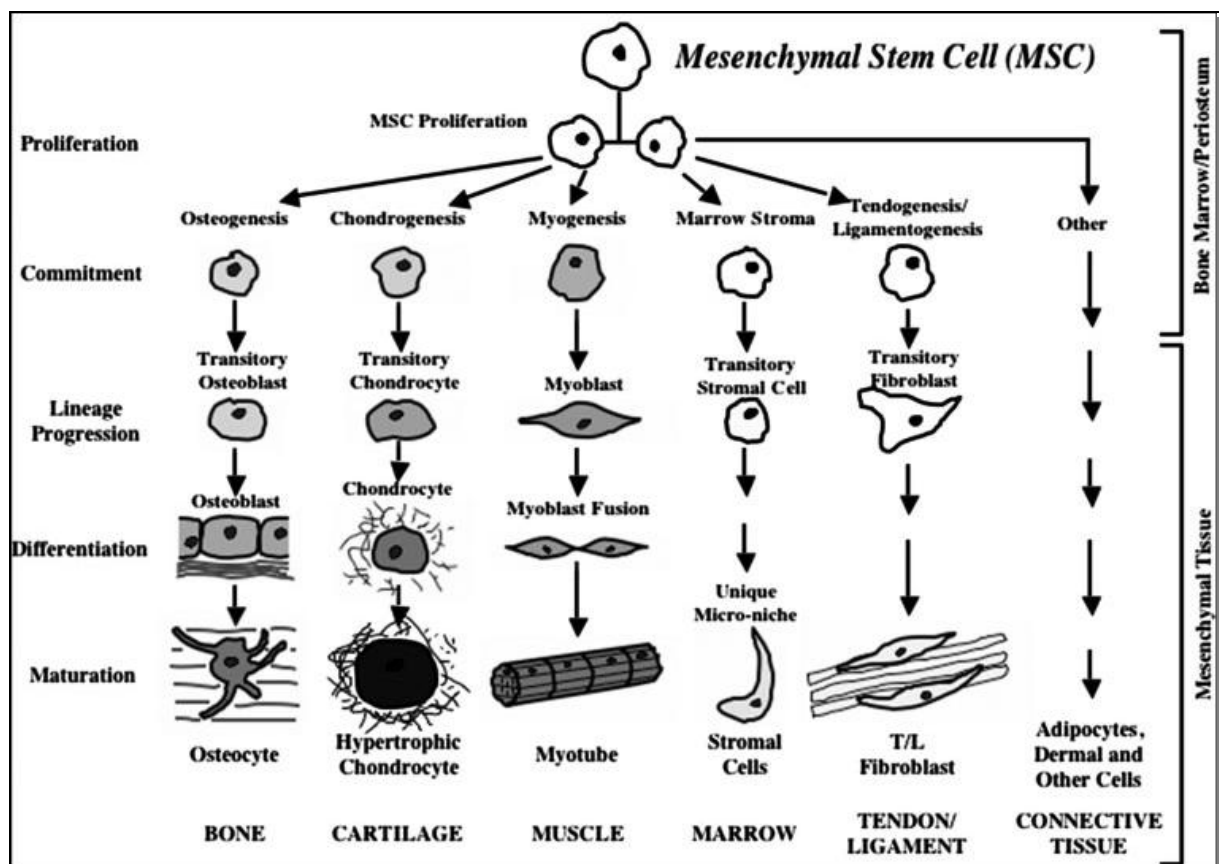


Figure n°12 : Schéma illustrant les différents lignages cellulaires possibles donnés par une cellule souche mésenchymateuse (Caplan 2007)

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) possèdent également d'autres propriétés que la prolifération ou la différenciation. Elles sont capables de migrer jusqu'au tissu endommagé et de sécréter des substances solubles afin de couper le cycle inflammatoire et d'initier la réparation tissulaire (Caplan 2007). Une étude menée sur le profil sécrétoire des CSM humaines suggère l'existence de facteurs paracrines impliqués dans divers mécanismes tels que la stimulation de l'angiogénèse, la répression de l'apoptose cellulaire, le « homing » vers



le tissu lésé, et le remodelage de la matrice extracellulaire (Crisostomo et al., 2008). A la différence des autres cellules, elles ont également la capacité d'inhiber la prolifération des cellules lymphoïdes T environnantes, et ainsi d'éviter tout rejet par l'organisme dans le cas d'utilisation de cellules souches allogéniques par exemple (Taylor et al., 2007).

## 2. Technique de prélèvement

Le prélèvement de cellules stromales mésenchymateuses issues de la moelle osseuse se fait le plus couramment au niveau du sternum. Sous contrôle des connaissances anatomiques de la région concernée et des repères échographiques préalablement visualisés, cette technique reste sécuritaire et permet une récolte de cellules en quantité et qualité adéquate. Il persiste cependant un risque qualifié de rare tel que la ponction cardiaque ou le pneumo péricarde déjà décrit dans la littérature (Durando et al., 2006). La ponction se fait préférentiellement dans la 5<sup>ème</sup> sternèbre du à sa position craniale à l'apex du cœur (Kasashima et al., 2011). Les sites alternatifs de ponction sont le tibia, l'humérus ou le tuber coxale.

Il convient à l'aide d'une sonde linéaire 7.5-14 MHz de repérer les trois dernières sternèbres et les espaces intersternèbres. A l'aide d'une craie ou d'un marqueur blanc, les limites de chacune de ces sternèbres sont marquées latéralement en dehors du site de ponction (cf. Figure n°13).

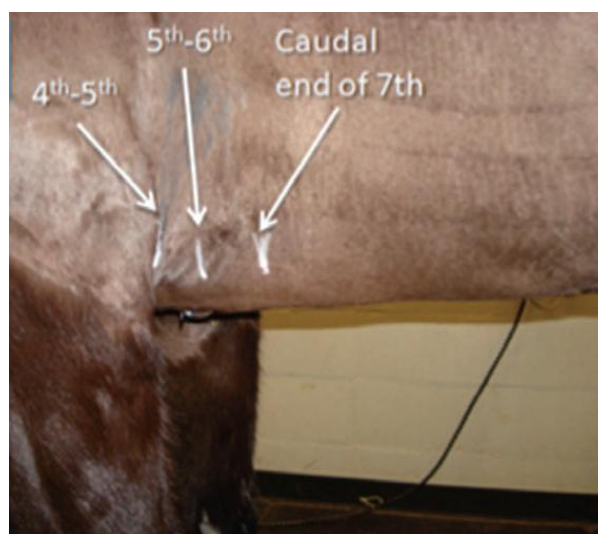


Figure n° 13 : Marquage des espaces inter sternèbres préablement à la ponction de moelle osseuse (Kasashima et al., 2011)

Après une sédation à base d'alpha-2 agoniste (10µg/kg de détomidine) et d'opioïde (20µg/kg) en intraveineuse, une zone de 10 cm de large centrée sur le sternum est tondu puis préparée chirurgicalement de manière aseptique. Un anesthésique local type lidocaïne ou mépivacaïne est appliqué au site de ponction de manière stérile. Une incision à la lame de bistouri n°11 facilite l'insertion de l'aiguille de biopsie médullaire de type Jamshidi (11 gauges) pour le prélèvement. L'index posé sur le mandrin et placé à deux centimètres de la peau permet de contrôler la pénétration de l'aiguille pendant la manœuvre. Pour une aspiration sécuritaire, il est conseillé de ne pas dépasser une avancée de 1,5 à 2 cm à travers l'os cortical de la sternèbre. Une fois l'aiguille placée, le stylet est retiré et une seringue de 10 ml préchargée avec 0.5 ml d'héparine à 5000UI/ml permet l'aspiration de 9.5 ml de moelle osseuse. Pour un cheval adulte une aspiration de 20 à 30 ml de moelle osseuse est permise. Une fois l'aspiration terminée, le stylet est réinséré avant le retrait du trocart. Une légère agitation de la seringue est recommandée afin de permettre une mise en contact homogène avec l'anticoagulant (Kasashima et al., 2011).

Un repos complet de quarante huit heures est recommandé après le prélèvement de moelle osseuse. Aucun soin de plaie n'est à fournir excepté de la surveillance au cours des sept prochains jours.

### 3. Isolement des CSM

Après aspiration, le mélange obtenu est très hétérogène. Il est nécessaire de séparer les cellules souches recherchées des autres cellules hématopoïétiques et spicules osseuses. Plusieurs protocoles sont décrits dans la littérature :

- le protocole dit « classique » repose sur la capacité des cellules souches à adhérer temporairement au plastique des boîtes de Pétri. Après quelques jours de culture, le changement de milieu permet l'élimination des cellules non adhérentes. Sur une aspiration de 10 ml de moelle osseuse, il est possible d'obtenir 1 à  $2 \cdot 10^5$  cellules adhérentes après trois jours de culture (Fortier 2005). Les cellules adhérentes obtenues constituent alors une population cellulaire encore hétérogène avec des capacités de

prolifération/différenciation très variables (Kolf et al., 2007).

- Les protocoles de séparation par gradient de densité utilisent des solutions de Percoll ou de Ficoll afin d'éliminer la portion de cellules mononucléaires telles que les érythrocytes, les thrombocytes, les granulocytes et autres précurseurs de la lignée myéloïdes (Bourzac 2010).
- Le protocole par marquage d'antigène de surface reste encore aujourd'hui anecdotique. Plusieurs difficultés ont été rencontrées notamment avec le nombre incalculable d'antigènes décrits, le caractère non spécifique, le croisement avec d'autres lignées cellulaires et la variabilité intra et inter espèce (Kolf et al., 2007).

Suite à ces premiers « lavages » et premières centrifugations afin de purifier la solution, les cellules obtenues sont mises en culture afin de les caractériser et d'obtenir des unités de formation de colonies fibroblastiques (CFU). Chaque colonie formée sera issue de la division d'une seule cellule. Après plusieurs manipulations destinées à sélectionner les cellules viables douées de multi potence, la différenciation va ensuite être engagée suite au repiquage dans un milieu de culture spécifique au lignage voulu (Bismuth 2008).

#### 4. Application lors de tendinopathies

Doté d'une structure fibroélastique complexe, le tendon est richement innervé, peu vascularisé et composé d'un type cellulaire majoritaire appelé ténocyte. Les cellules sont disposées de manière longitudinale au sein d'une matrice extracellulaire composée principalement de collagène, de fibres d'élastine et de protéoglycanes.

Lors de lésions tendineuses, la rupture des fibres a pour conséquence la formation d'un hématome puis l'arrivée massive de cellules inflammatoires. Une fois la phase inflammatoire achevée, une phase de prolifération puis de remodelage permettent la mise en place d'un tissu cicatriciel fibreux moins résistant composé majoritairement de collagène de type III (Smith 2008). Le processus de guérison peut, selon le type et la localisation de la lésion, mettre plusieurs semaines à plusieurs mois. Une fois le tendon lésé, le risque de récurrence reste élevé car le tissu de cicatrisation n'est pas doté des mêmes propriétés biomécaniques que le tissu

originel. Le traitement idéal reposerait sur la maîtrise de la qualité de cicatrisation.

La médecine régénérative est devenue une option thérapeutique dans le traitement des tendinites chez le cheval de sport. Non soumise à consensus, elle est utilisée de manière très diversifiée parmi les praticiens vétérinaires. Une fois la moelle osseuse aspirée, elle peut être soit utilisée directement par réinjection au niveau du site lésionnel tendineux soit envoyée en culture pour amplification. Etant donné la faible proportion de cellules souches mésenchymateuses après aspiration, il est préférable d'opter pour la deuxième solution afin d'optimiser le volume à injecter. Les injections intra lésionnelles pratiquées sont de l'ordre de  $10$  à  $50 \cdot 10^6$  cellules souches autologues obtenues après 3 semaines de culture suivant les échantillons obtenus (Smith et al., 2003). La différenciation des cellules souches mésenchymateuses en ténocytes est initiée lors de la mise en culture par addition de facteurs de croissance tels que les GDF (Growth/differentiation factor) et les BMP (Bone morphogenetic protein) (Tuan et al., 2003 ; Brehm et al., 2012). Avant implantation, les cellules sont remises en suspension dans du plasma ou du surnageant de moelle osseuse afin de fournir un environnement direct favorable riche en facteurs anaboliques.

La thérapie cellulaire par injection intra lésionnelle répond aux 4 critères recherchés dans l'ingénierie tissulaire :

- Une source de cellules adaptées pour initier une réparation tissulaire adéquate à la fonction du tissu ou de l'organe concerné apportée ici par l'implantation de ténocytes.
- Des cellules aptes à se fixer et à survivre sur le support lésé représenté ici par un tissu de granulation bien vascularisé au sein du tendon.
- Des stimuli anaboliques afin d'engager la réparation tissulaire via les facteurs de croissance contenus dans le plasma ou le surnageant accompagnant les cellules souches différenciées.
- La synthèse de matrice extracellulaire proche de celle du tissu lésé afin d'obtenir une structure de même résistance via le métabolisme des ténocytes.

Afin d'optimiser l'implantation des cellules souches, il convient également de les injecter de manière échoguidée en dehors de la phase inflammatoire soit 4 à 5 semaines après l'établissement de la lésion tendineuse (Richardson et al., 2007).

L'utilisation des cellules souches issues de la moelle osseuse lors de tendinites a donné des résultats *in vitro* et *in vivo* très encourageants sur des modèles tels que le rat ou le lapin. L'injection intra lésionnelle de CSM après amplification lors de tendinite chez le cheval donne également des résultats encourageants. En 2008, Smith et al. publient une étude menée sur une population 168 chevaux de courses atteints par une tendinite du fléchisseur superficiel dans laquelle le taux de récurrence à long terme après traitement aux CSM issues de moelle osseuse n'excède pas 18% (Smith 2008). D'autres publications corroborent un taux de récurrence plus faible avec l'utilisation des CSM tel que Godwin et al en 2012 avec un échantillon de 113 chevaux de course (Godwin et al., 2012).

#### 5. Application lors d'ostéoarthrose

L'ostéoarthrose se décrit le plus souvent comme une maladie dégénérative du cartilage incluant selon sa gravité une perte de matrice extracellulaire, une fibrillation de surface et des fissures plus ou moins profondes mais ce processus dégénératif complexe peut également léser d'autres structures au sein de l'articulation telles que l'os sous-chondral, la capsule articulaire, la membrane synoviale, les ligaments, ou les muscles périarticulaires. La thérapie cellulaire appliquée à l'articulation est un domaine très vaste décrit depuis seulement une dizaine d'années en Santé Humaine. Celle-ci est permise par le développement parallèle de la manipulation des cellules souches et de l'ingénierie tissulaire.

En médecine humaine, l'utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses peut s'appliquer: par implantation systémique, par implantation locale, par l'intermédiaire d'un biomatériau ou combinée à la thérapie génique (Dumas 2008). Différentes techniques de réparation cartilagineuse sont décrites afin d'optimiser la qualité du tissu cicatriciel comparé à du fibrocartilage. La technique des microfractures, la mosaïcoplasty ou la greffe de chondrocytes autologues en font partie (Hannouche 2008) (cf. Figures n°14 et 15).

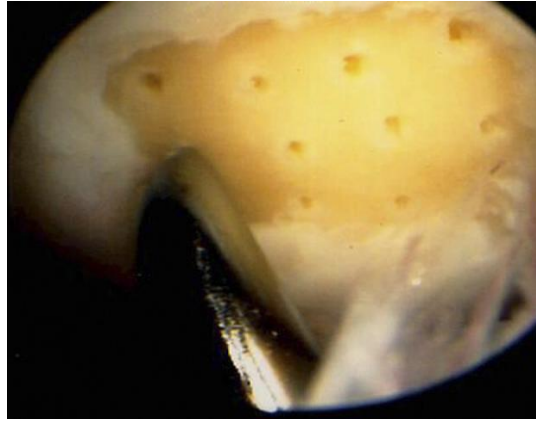


Figure n°14 : Technique des microfractures appliquée à un condyle fémoral de cheval (McIlwraith et al., 2011)

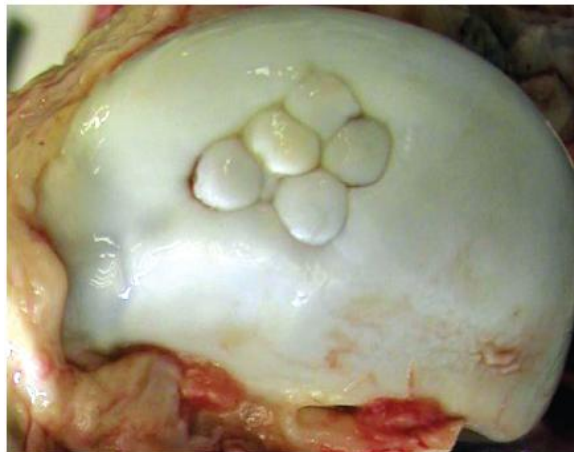


Figure n°15 : Technique de mosaicplasty appliquée sur le condyle fémoral médial d'un cheval suite à un kyste de l'os sous chondral (Koch and Betts, 2007)

En médecine vétérinaire, l'implantation locale reste la technique la plus accessible même si l'utilisation de biomatériaux a été décrite dans des centres spécialisés. Une fois les cellules amplifiées par culture, elles peuvent être injectées directement dans l'articulation combinées à du plasma ou du surnageant de moelle osseuse. Cette voie thérapeutique repose sur la capacité des cellules souches à se diriger vers le tissu cartilagineux lésé appelé aussi homing et à s'y fixer afin d'initier la réparation de celui-ci. A l'aide de la GFP (green fluorescent protein), le marquage des cellules souches injectées a permis de mettre en évidence leur incorporation au

sein du tissu cartilagineux lésé (Mokbel et al., 2011). Un modèle animal caprin a permis la mise en évidence d'effets bénéfiques à court terme (six semaines) après l'injection de cellules souches autologues dans une articulation fémorotibiale arthrosique induite chirurgicalement. Le score lié à la dégradation du cartilage et à la sclérose sous chondrale s'est amélioré de manière significative dans le groupe traité comparé au groupe témoin (Murphy et al., 2003). Une autre étude, basée elle aussi sur un modèle animal ici porcin, a démontré l'intégration des CSM marquées dans un tissu cicatriciel cartilagineux étudié 12 semaines après l'injection concomitante de cellules souches différenciées et d'HA. Le néocartilage âgé de 12 semaines présentait une structure histologique comparable à un cartilage sain (Lee et al., 2007). La diversité des modèles et des protocoles utilisés en terme de thérapie cellulaire donnent lieu à des résultats hétérogènes et difficilement transposables à l'espèce équine. Néanmoins l'effet bénéfique des cellules souches mésenchymateuses par voie intra articulaire reste réel. Dans une étude récente appliquée à l'espèce équine, l'association concomitante de microfractures de l'os sous chondral et de CSM autologues permet la mise en place d'un néocartilage plus résistant et mieux intégré à l'os sous chondral (McIlwraith et al., 2011). Ces données renforcent le caractère dit de « promoteur de la réparation » attribué aux CSM. Si certaines études remettent en cause leur survie à long terme au sein de l'articulation, il reste néanmoins acquis un rôle sécrétoire essentiel avec la production de cytokines et de facteurs de croissance ayant pour effet la modulation du système immunitaire local, l'inhibition de la fibrose et de l'apoptose, le soutien de la prolifération cellulaire et de sa différenciation (Caplan and Dennis, 2006).

La thérapie cellulaire en médecine vétérinaire ne s'est pas limitée à la manipulation des CSM issues de la moelle osseuse. Depuis quelques années, l'ingénierie tissulaire du cartilage constitue une voie de recherche innovante et prometteuse. Cette technologie a pour but de réparer les lésions focales du cartilage par l'implantation de chondrocytes autologues amplifiés et fixés à un matériau biocompatible. Les matériaux les plus souvent décrits en médecine humaine sont des matrices ou des gels à base de hyaluronate, d'alginate, de collagène ou de polymères. Il existe encore peu de données sur l'utilisation des greffes autologues de chondrocytes chez le cheval où seule une étude rapporte l'emploi d'une membrane de collagène pour la réparation de lésion focale sur des trochlées fémorales (Frisbie et al., 2008). Les avancées technologiques en Humaine leur permettent aujourd'hui de fabriquer des structures cartilagineuses implantables à partir de CSM. Trois à six semaines de

culture dans un bioréacteur sont nécessaires afin d'obtenir un tissu cartilagineux de type hyalin (Hannouche 2008). La capacité de combler une perte de structure ostéochondrale par la combinaison des CSM autologues et d'un biomatériau laisse entrevoir une thérapeutique d'avenir pour la filière équine.

## 6. Limites actuelles de leur utilisation

L'utilisation des CSM issues de la moelle osseuse dans les lésions myoarthrosquelettiques semble aujourd'hui parfaitement intégrée dans l'arsenal thérapeutique du vétérinaire équin comme en témoignent les nombreux produits commercialisés (Vetcell, Equstem, ART,...) (Santiago 2011). Néanmoins le caractère autologue de cette thérapeutique qui est un avantage significatif dans le monde du sport car non soumis à un délai d'attente, devient un désavantage en terme de reproductibilité et d'efficacité. En effet le ratio de cellules souches obtenu après aspiration de moelle osseuse est différent d'un cheval à l'autre. Les échantillons envoyés en culture sont donc de qualité très hétérogène auxquels viennent s'ajouter des protocoles de mise en culture propre à chaque laboratoire et l'impossibilité de caractériser les cellules souches via les marqueurs cellulaires dans l'espèce équine. L'absence de consensus sur la manipulation des cellules souches issues de la moelle osseuse rend difficile voir impossible de comparer les résultats obtenus dans les différents études cliniques.

La limite principale réside dans la compréhension du mécanisme mis en jeu in vitro mais aussi in vivo afin de pouvoir déterminer un protocole de culture optimal mais aussi de déterminer le moment idéal à l'implantation des cellules. Utilisée majoritairement en médecine vétérinaire équine sous la forme d'une suspension de cellules à réinjecter par voie locale, le traitement reste néanmoins couteux et controversé quant à la survie et à la fixation des cellules sur le site lésionnel. Beaucoup de questions persistent encore sur les modalités d'implantations : cellules multipotentes versus cellules différenciées, cellules avec ou sans serum conditionné, cellules autologues versus allogéniques, cellules fixées ou non sur un support...



L'ingénierie tissulaire du cartilage à l'aide des CSM constitue à l'heure actuelle une voie de recherche mais peu d'études sont encore parues chez le cheval. L'implantation de biomatériaux nécessite parfois une immobilisation et une suppression d'appui applicables dans l'espèce humaine mais non envisageable sur un quadrupède de 500 kg. Enfin cette thérapeutique de pointe reste invasive et nécessite un équipement spécialisé au coût prohibitif pour de la médecine vétérinaire.

## Partie 4 : Le concentré plaquettaire, quel rôle lui attribuer dans l'ostéoarthrose

### 1. Le concentré plaquettaire

Le PRP (platelet-rich plasma) ou plasma riche en plaquettes se définit comme un concentré plaquettaire autologue obtenu à partir d'une centrifugation de sang total prélevé sous anticoagulant. Son caractère autologue et l'absence de standardisation quant au protocole de préparation confère au produit fini une composition biologique variable. Toutefois l'appellation PRP est caractérisée par l'obtention d'un plasma dont la concentration en plaquettes est trois à cinq fois supérieure à la valeur usuelle sanguine (Marx 2004). Le procédé de concentration des plaquettes, spécifique à chaque système, ne permet pas toujours d'obtenir un concentré plaquettaire « pur » ainsi certains PRP présentent des taux résiduels de cellules sanguines comme les leucocytes et les érythrocytes (McLellan and Plevin, 2011).

L'intérêt thérapeutique du PRP repose sur les facteurs de croissance plaquettaires contenus dans les granules alpha des thrombocytes (Blair and Flaumenhaft, 2009). Initié par l'activation plaquettaire et un phénomène d'exocytose, le rôle de ces différents facteurs est de stimuler les différentes phases de la réparation tissulaire. Issu de sang total autologue, le PRP évite au patient tout problème de rejet ou de transmission de maladies (Marx 2004 ; Kaux et

al., 2007).

## 2. Protocole de préparation du PRP

### 2.1 Technique de prélèvement

Le prélèvement de sang veineux se fait sous anticoagulant et de manière stérile au niveau d'une des deux veines jugulaire du cheval concerné. Le volume prélevé est fonction de la lésion à traiter, de l'âge de l'individu et de sa taille. Pour un cheval adulte cela varie de 60 à 120 ml. Afin de préserver l'intégrité des thrombocytes et de leurs granules alpha, l'anticoagulant utilisé est de type citraté (Dohan et al., 2005). L'échantillon de sang total, une fois prélevé, doit immédiatement être acheminé au laboratoire afin d'engager le processus de séparation (Textor 2011).

### 2.2 Protocole de préparation

Il n'existe pas actuellement de consensus quant à la préparation du PRP. Le principe de base repose sur une centrifugation en série permettant de concentrer un maximum de plaquettes au sein d'un volume minimal de plasma (McLellan and Plevin, 2011). Plusieurs protocoles sont décrits de la préparation manuelle sous hotte aspirante aux systèmes fermés totalement automatisés. On peut également compter maintenant sur la disponibilité de kits commerciaux prônant une préparation du PRP simplifiée, plus rapide et plus sécuritaire. Parmi eux, on retrouve notamment en médecine vétérinaire équine des systèmes tels que Harvest SmartPreP®, Secquire ou bien encore GPSII Biomet (Textor 2011).

Le concept de base repose sur une double centrifugation afin d'optimiser la concentration plaquettaire mais aussi de purifier le surnageant obtenu de toute autre cellule délétère comme les leucocytes ou les érythrocytes (cf. Figure n°16) (Dohan et al., 2005):

- La première centrifugation

Elle permet l'obtention de trois phases. En surface, se trouve un plasma acellulaire appelé aussi plasma pauvre en plaquette (ou PPP) puis apparaît une strate blanchâtre appelée « buffy coat » contenant majoritairement les plaquettes et enfin le fond du tube où se trouve un culot d'érythrocytes et de leucocytes. Le buffy coat est ensuite prélevé et transféré de manière stérile dans un tube sec afin d'effectuer la deuxième centrifugation.

- La deuxième centrifugation

Elle permet l'obtention d'un surnageant composé à 80% de PPP, d'une strate blanchâtre désignant le PRP et de quelques hématies.

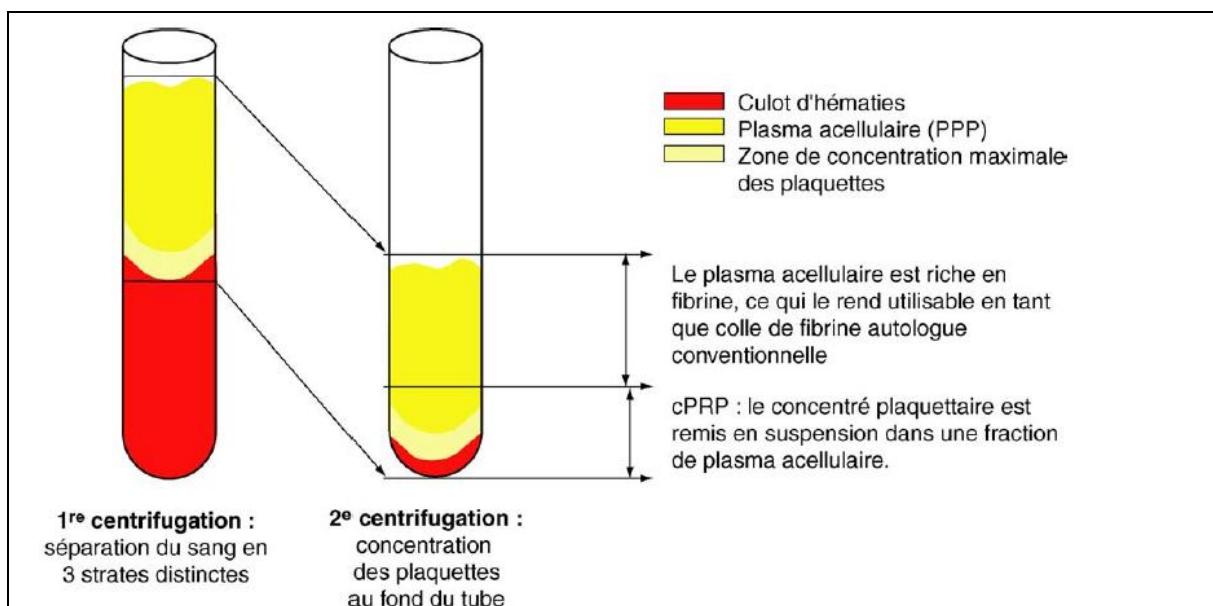


Figure n°16 : Concept de la double centrifugation pour l'obtention du PRP (Dohan et al., 2005)

Le concentré plaquettaire obtenu est sous forme liquide et devrait contenir une concentration minimale de  $10^6$  plaquettes par  $\mu\text{L}$ . Cette concentration référencée pour l'être humain est également celle appliquée pour le cheval. Le PRP obtenu, relativement instable de par sa nature, doit être utilisé immédiatement après sa conception afin de garantir son innocuité.

Le concentré plaquettaire obtenu peut être activé préalablement à l'injection. L'utilisation conjointe de thrombine bovine purifiée et d'une solution à 10% de chlorure de calcium est couramment rapportée dans la littérature en médecine humaine (Smets et al., 2012). Néanmoins l'utilisation de chlorure de calcium comme seul activateur plaquettaire est également possible (Textor and Tablin 2012). Le PRP peut également être utilisé sans activation préalable, certains auteurs soutenant l'hypothèse d'une activation *in vivo* via le collagène de type I exposé dans le tissu lésé (Smith et al., 2006).

### 3. Indications et protocole d'administration

Utilisé à ses débuts en dentisterie et chirurgie maxillofaciale humaine sous la forme de gels, le PRP est maintenant couramment prescrit dans le traitement de lésions musculosquelettiques (Sampson et al., 2008 ; Smets et al., 2012). Il est considéré comme une nouvelle option thérapeutique face aux tendinopathies chroniques dites réfractaires aux traitements médicaux et chirurgicaux utilisés jusqu'alors. En orthopédie Humaine, le PRP est utilisé lors de tendinopathies (rotuliennes, tendon d'Achille), de « tennis elbow », de fasciite plantaire (Sanchez et al., 2012a) et de pathologies articulaires (Sampson et al., 2008). Les propriétés réparatrices du PRP reposent sur la libération locale de facteurs de croissance et protéines favorisant l'angiogénèse, le remodelage tissulaire, et la cicatrisation. Son intérêt, en particulier dans le domaine sportif, est d'induire une cicatrisation plus rapide dans des tissus peu vascularisés ou à faible activité mitotique afin de récupérer une mécanique tissulaire identique et ainsi de réduire la durée d'invalidité de l'athlète concerné. Des études *in vitro* ont mis en évidence l'effet anabolique du PRP sur la cicatrisation et la régénération tendineuse et ligamentaire (Smith et al., 2006) mais également sur la prolifération de cellules tels que les ténocytes, les ostéoblastes et les cellules souches mésenchymateuses (Textor 2011) encourageant ainsi son utilisation *in vivo* dans le domaine médico-sportif qu'il soit humain ou animal. Les résultats des études cliniques chez l'humain restent néanmoins contrastés. Concernant le traitement des tendinopathies, des résultats bénéfiques sont décrits notamment en terme de rapidité de cicatrisation avec un gain de trois semaines dans la réparation de ruptures de tendons d'Achille (Sanchez et al., 2007), mais également en terme de qualité de tissu cicatriciel lors de tendinopathie rotulienne chronique contrôlée par IRM quatre mois après l'injection de PRP (Volpi et al., 2007). Des études cliniques se portent également sur l'usage du PRP dans le traitement de lésions ostéoarticulaires. Dans le cas d'arthrose avérée

du genou, la répétition de trois injections intra articulaire de PRP à quatre semaines d'intervalle a montré des résultats satisfaisants chez huit patients sur treize avec une amélioration clinique notable jusqu'à un an après traitement (Sampson et al.,2010). Une étude plus récente portant sur 150 patients atteint d'ostéoarthrose du genou, a mis en évidence la supériorité du traitement intra articulaire à base de PRP comparé aux injections de viscosupplémentation à base d'acide hyaluronique. Les cinquante patients traités avec le PRP ont montré une meilleure récupération fonctionnelle de leur genou avec une atténuation des symptômes et de la douleur associée six mois après le traitement. Cependant cette amélioration clinique était plus évidente sur des sujets jeunes avec des lésions cartilagineuses peu étendues (Kon et al., 2011).

En médecine vétérinaire équine, le PRP est décrit en chirurgie lors d'ostéosynthèse et de plaies cutanées étendues mais surtout en orthopédie dans la gestion des pathologies tendineuses et ligamentaires (fléchisseurs et ligament suspenseur du boulet), et plus récemment articulaires (Akeda et al., 2006 ; Carmona et al.,2007).

L'utilisation du PRP dans le traitement des tendinites et des desmites chez le cheval a été promulguée par les résultats encourageants d'études in vitro ayant démontré l'effet anabolique du PRP sur des explants de fibroblastes du ligament suspenseur du boulet (Smith et al.,2006). Utilisé sous forme d'injection(s) échoguidée(s) intralésionnelle(s), le PRP est décrit par le praticien comme un traitement permettant d'accélérer la cicatrisation tissulaire et ainsi de débiter un programme de rééducation plus rapidement en comparaison avec les traitements classiques de tendinites. Son utilisation est soutenue par des résultats in vivo satisfaisants notamment dans une étude portant sur 9 cas de desmites du ligament suspenseur du boulet où les neufs sujets ont pu retournés à la compétition deux années de suite après le traitement (Waselau et al., 2008). Le PRP constitue également une option thérapeutique complémentaire à la thérapie cellulaire en étant couplé à l'injection de cellules souches mésenchymateuses dans des cas de tendinites chroniques souvent réfractaires (Torricelli et al., 2011).

Les études réalisées en médecine sportive Humaine notamment dans les articulations du genou, du coude ou de la hanche ont permis d'introduire le PRP comme option thérapeutique dans la gestion d'arthropathies dégénératives chez le cheval même si celle-ci est encore peu

documentée. Des études *in vitro* ont déjà permis de mettre en évidence la faculté des facteurs de croissance à stimuler la prolifération cellulaire et la formation de matrice extracellulaire au sein du cartilage et de l'os que se soit chez l'homme ou l'animal (Akeda 2006 ; Ogino et al.,2006). Chez le cheval, une étude clinique portant sur sept cas d'arthropathies (dont 4 sujets atteint d'ostéoarthrose) a démontré une amélioration clinique des sujets traités par trois injections de PRP répétées à deux semaines d'intervalle. Cette amélioration est encore nette deux mois après le traitement décrit et se traduit par une diminution de la distension articulaire et du degré de boiterie (Carmona et al, 2005). Le degré d'amélioration des signes cliniques reste toutefois corrélé à la condition du patient. Tout comme dans l'espèce Humaine, il a été prouvé dans une étude portant sur 42 chevaux de sport que la chronicité et l'étendue des lésions ostéocartilagineuses conditionnaient la bonne réponse aux injections intra articulaires de PRP (Abellanet and Prades, 2009).

Tout comme le procédé de fabrication, le protocole d'administration, qu'il soit topique, intra tendineux ou intra articulaire, n'est pas soumis à consensus. Plusieurs composantes caractérisent le PRP permettant ainsi de comparer les protocoles publiés dans la littérature. Parmi elles, on retrouve la concentration plaquettaire, la méthode d'activation plaquettaire, le matériel d'obtention, la présence ou absence de leucocytes et érythrocytes, et pour finir la fréquence d'administration (Smets et al.,2012). Pour les quatre premiers critères, seule une standardisation dans la fabrication permettrait d'homogénéiser les produits sous appellation PRP. Concernant la fréquence d'administration, les études cliniques rapportent le plus souvent deux à trois injections de PRP espacées de deux à quatre semaines (Carmona J.U. et al, 2005 ; Waselau et al., 2008). La répétition des injections est modulée par le praticien suivant la gravité des lésions observées chez le patient et son évolution clinique.

L'activation des plaquettes est le deuxième critère soumis à controverse lors de la rédaction des protocoles de fabrication. Celle-ci, si elle est induite, doit être suivie de l'injection intralésionnelle dans les plus brefs délais car 70% des facteurs de croissance sont sécrétés dans les 10 minutes postactivation et leur demi-vie varie de quelques minutes à quelques heures (Marx 2001). Bien que le relargage des facteurs de croissance semble être amoindri par l'absence d'activation avant injection, certaines études obtiennent des résultats satisfaisants via l'utilisation de PRP «inactivé» (Bosch et al., 2010). Il faut cependant rappeler que le processus de congélation-décongélation du PRP pratiqué dans certains protocoles initie

l'activation plaquettaire par un phénomène de lyse cellulaire (Textor and Tablin, 2012).

#### 4. Facteurs moléculaires mis en jeu

Les facteurs de croissance que l'on retrouve dans le PRP sont des cytokines au sens large libérées lors de l'activation plaquettaire. Ils proviennent principalement des granules alpha contenues dans le cytoplasme des thrombocytes et du plasma (Blair and Flaumenhaft, 2009). Les granules alpha contiennent des cytokines mais également d'autres protéines telles que des facteurs de coagulation, des protéines d'adhésion, des antiprotéases,... Le rôle principal des cytokines est d'élaborer une communication intercellulaire. Leur mode d'action est principalement autocrine et paracrine (Dohan et al., 2005).

Les facteurs de croissance contenus dans les granules alpha et le plasma ont des cellules cibles et des actions spécifiques. L'ensemble de ces signaux va permettre une colonisation cellulaire du tissu lésé et initier son remodelage durant les différentes phases de la cicatrisation. Parmi les principaux facteurs de croissance, on retrouve (cf. Figure n°17) :

- l'insulin-like growth factor (IGF1)

Il est présent dès la première phase inflammatoire et joue un rôle essentiel dans la migration et la prolifération des fibroblastes. Il est décrit comme un protecteur cellulaire car il peut induire des signaux de vie et ainsi éviter l'apoptose de certaines cellules (Dohan S. *et al.*, 2005). Il peut également induire une production locale de composants nécessaire à la matrice extracellulaire.

- le platelet-derived growth factor (PDGF)

Il joue un rôle d'initiateur de la cicatrisation tissulaire en recrutant les fibroblastes et en favorisant leur prolifération. Il active également les macrophages, favorise l'angiogénèse, stimule la synthèse de collagène et la prolifération des ostéoblastes (Wroblewski et al., 2010).

- le fibroblast growth factor (FGF)

Il régule la migration et la prolifération cellulaire durant la phase de colonisation en axant ses signaux sur l'endothélium et les fibroblastes. Il favorise également l'angiogénèse (Kaux et al.,2007).

- Le transforming growth factor  $\beta$  (TGF  $\beta$ )

Egalement surnommé l'agent fibrosant, il peut modérer l'inflammation et induire une cicatrisation fibreuse. Il induit la prolifération fibroblastique, la synthèse de protéines matricielles telles que le collagène et la fibronectine et inhibe la résorption osseuse (Kaux et al.,2007 ; Wroblewski et al.,2010).

- le vascular endothelial growth factor (VEGF)

Il régule principalement l'angiogénèse au cours des différentes phases de la cicatrisation. Il stimule la migration et la mitose des cellules endothéliales, permet la fenestration des capillaires et exerce un chimiotactisme sur les macrophages et granulocytes (Wroblewski et al., 2010).

- l'epidermal growth factor (EGF)

Il stimule la prolifération cellulaire et engage la différenciation des cellules de la lignée ectodermique (Wroblewski et al.,2010).



Growth Factor	Effect	PRP Concentration (SD)
PDGF	Macrophage activation and angiogenesis Fibroblast chemotaxis and proliferative activity Enhances collagen synthesis Enhances the proliferation of bone cells	$\alpha\beta$ 117.5 ng/mL (63.4) $\beta\beta$ 9.9 ng/mL (7.5)
TGF $\beta$	Enhances the proliferative activity of fibroblasts Stimulates biosynthesis of type I collagen and fibronectin Induces deposition of bone matrix Inhibits osteoclast formation and bone resorption	$\beta$ 1: 169.9 ng/mL (84.5) $\beta$ 2: 0.4 ng/mL (0.3)
IGF-I	Chemotactic for fibroblasts and stimulates protein synthesis Enhances bone formation by proliferation and differentiation of osteoblasts	84.2 ng/mL (23.6)
PDEGF	Promotes wound healing by stimulating the proliferation of keratinocytes and dermal fibroblasts	470 pg/mL (320)
PDAF	Induces vascularization by stimulating vascular endothelial cells	
PF-4	Stimulates the initial influx of neutrophils into wounds A chemoattractant for fibroblasts	0.189 nmol/mL (0.07)
EGF	A potent antiheparin agent Cellular proliferation Differentiation of epithelial cells	51 pmol/L (5)
VEGF	Angiogenesis Migration and mitosis of endothelial cells Creation of blood vessel lumen Creates fenestrations Chemotactic for macrophages and granulocytes Vasodilation (indirectly by release of nitrous oxide)	76-854 pg/mL

**Abbreviations:** PDGF, platelet-derived growth factor; TGF, transforming growth factor; IGF, insulin-like growth factor; PDEGF, platelet-derived endothelial growth factor; PDAF, platelet-derived angiogenesis factor; PF-4, platelet factor 4; EGF, endothelial growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor. Reprinted with permission.<sup>57</sup>

Figure n° 17 : Rôle des facteurs de croissance produits par les plaquettes et évaluation de leur concentration moyenne dans le PRP chez l'homme (Wroblewski et al.,2010).

D'une façon générale, les différents signaux véhiculés par les facteurs de croissance décrits ci-dessus ont pour objectif de favoriser la migration des cellules, engager leur prolifération puis leur différenciation afin de permettre le remodelage du tissu lésé. Ces signaux sont majoritairement orientés vers deux types cellulaires qui sont les cellules endothéliales et les cellules de la lignée mésenchymateuse tel que le fibroblaste (Dohan et al.,2005) mais ceux-ci ne sont pas toujours en faveur d'un processus de réparation et peuvent dans certains cas favoriser des voies cataboliques. Il a également été mis en évidence que certains de ces facteurs de croissance tels que le TNF $\alpha$  et l'Il-1 sont à l'origine de la mise en place d'une cascade pro inflammatoire en augmentant la phagocytose, la cytotoxicité des neutrophiles et le recrutement d'autres médiateurs inflammatoires (Dohan et al., 2005). Il convient donc de nuancer l'activité pro anabolique des principaux facteurs de croissance contenus dans les concentrés plaquettaires.

Afin que ces signaux se retrouvent au contact des cellules cibles, l'activation plaquettaire semble donc essentielle. Le terme PRP n'indique pas si le concentré plaquettaire utilisé a été

préalablement activé ou non (Textor 2011). Plusieurs théories ont été avancées sur l'instant idéal d'activation et l'agent impliqué mais le manque de standardisation sur le produit initial rend les comparaisons très délicates. Les agents d'induction le plus souvent utilisés sont la thrombine d'origine bovine avec ou sans chlorure de calcium, ou le chlorure de calcium uniquement (Textor and Tablin,2012). L'activation plaquettaire est également décrite de manière in situ au contact du tissu lésé par l'intermédiaire d'une interaction avec le collagène de type I ou par la répétition de quatre cycles de congélation-décongélation (Wasterlain et al., 2012). De plus, la concentration de facteurs de croissance relâchés par les plaquettes est directement corrélée à la concentration plaquettaire initiale mais également à la méthode d'activation plaquettaire. Une concentration élevée de thrombine et de chlorure de calcium permettrait d'obtenir une concentration supérieure en TGF (Transforming Growth Factor) et PDGF (Platelet Derived Growth Factor). Cependant plus la concentration de l'activateur plaquettaire est importante plus le risque d'infection et de choc allergique est élevé pour le patient (Wasterlain et al., 2012).

## 5. Intérêts et limites en thérapie articulaire

Les facteurs de croissance jouent un rôle central dans l'homéostasie au sein de l'articulation. L'ostéoarthrose étant la conséquence d'une perte d'équilibre entre deux grandes catégories de médiateurs qu'ils soient anaboliques ou cataboliques, l'utilisation du PRP en tant qu'apport de facteurs anaboliques semble alors une option thérapeutique intéressante dans la gestion des phénomènes inflammatoires au sein de l'articulation.

En médecine Humaine, plusieurs études cliniques sur l'utilisation du PRP par voie intra articulaire que se soit sur le genou ou sur la hanche ont montré des résultats satisfaisants en terme d'amélioration clinique et de reprise de mobilité articulaire (Sampson et al.,2010 ; Sanchez et al., 2012b). Lors d'arthroscopie, il a également été mis en évidence un effet analgésique bénéfique au réveil du patient. Cet effet analgésique est même avancé comme primaire via les récepteurs de thrombine (Martin et al.,2009). Cette application est cependant limitée dans le temps étant donné la demi-vie des facteurs de croissance une fois la dégranulation achevée qui n'est que de quelques jours. Malgré le peu d'études standardisées chez l'homme et l'animal, l'utilisation du PRP en thérapie articulaire reste plébiscitée par nombre de praticiens car il constitue une alternative aux traitements classiques et qu'il reste

facile à réaliser, peu coûteux, bien toléré par les patients et procure une amélioration clinique à court terme.

En thérapie articulaire dans le domaine vétérinaire, le PRP est souvent utilisé comme option thérapeutique complémentaire d'un premier traitement à l'image de l'acide hyaluronique couplé à des corticoïdes. Actuellement, la médecine vétérinaire dispose de très peu d'études sur l'utilisation du PRP par voie intra articulaire en tant que traitement principal. L'absence de consensus sur le mode de préparation et d'administration rend les comparaisons difficiles voire impossibles. Le nombre limité de sujets et l'absence de groupe témoin rend également l'interprétation des résultats peu conclusive. Néanmoins, des publications récentes mettent en avant l'usage du PRP sur l'ostéoarthrose équine et témoignent de résultats encourageants (Abellanet and Prades, 2009 ; Carmona et al., 2005). Les attraits majeurs du PRP dans le domaine équin proviennent de sa simplicité de fabrication (avec ou sans kit commercial), de son caractère autologue donc sécuritaire et non positif au test anti dopage, mais également de sa capacité à accélérer le processus de cicatrisation, réduire la douleur et permettre ainsi au cheval de reprendre le travail précocement. L'approche intra articulaire peut cependant apporter une limite concernant la répétition des injections préconisées dans les protocoles. Le risque d'inflammation voir d'arthrite septique reste toujours présent. Le volume de PRP à injecter peut de même devenir un frein sur des articulations massives avec un volume de liquide synovial important.

Utilisé auparavant comme adjuvant de milieu de culture, il ne se limite plus aux procédures in vitro. La thérapie cellulaire s'est offert ses services afin de combiner leurs effets. Il accompagne désormais des procédures allant de l'injection de cellules souches à la greffe osseuse. Considéré comme un produit des plus sécuritaires car issu du patient lui-même, sa facilité de préparation et son coût de mise en œuvre relativement modeste en font un atout de choix comme traitement alternatif lors d'ostéoarthrose. Son facteur limitant majeur réside cependant dans son manque de standardisation ne permettant pas d'établir à ce jour une efficacité thérapeutique objective.

## Partie 5 : Etude rétrospective de dix cas

### 1. Critères de choix des patients

L'étude porte sur la population équine vue en consultation de boiterie à l'Hôpital équin de l'Ecole vétérinaire de Toulouse entre 2008 et 2012. Parmi cette population, les chevaux ont été sélectionnés suivant trois critères principaux : un diagnostic d'imagerie confirmant une arthropathie dégénérative comme lésion dominante du tableau clinique, le caractère réfractaire du sujet aux traitements dits classiques de l'ostéoarthrose et le choix d'un traitement alternatif effectué à la clinique par des cellules souches mésenchymateuses ou par du PRP par voie intra articulaire.

L'étude du fichier client a sélectionné dix cas répondant à ces différents critères. Chaque patient est identifié par la première lettre de son nom (pour des raisons de confidentialité), son âge, sa race et sa discipline (cf. Figure n°18).

<b>Sujet</b>	<b>Age</b>	<b>Race</b>	<b>Utilisation</b>	<b>Date de traitement</b>
Qi	5 ans	Anglo arabe	Cheval de sport	mars-09
Qu	5 ans	Cheval de selle	Activité Club	nov-09
Na	9 ans	Selle Français	CSO	févr-10
No	9 ans	Selle Français	Activité Club	févr-10
M	3 ans	Pur sang anglais	Courses de plat	sept-10
T	9 ans	pur sang arabe	endurance	févr-11
L	12 ans	Camarguais	Activité de loisir	sept-11
K	9 ans	Pur sang arabe	Endurance	avr-12
S	10 ans	Pur sang arabe	Endurance	avr-12
O	5 ans	Race Espagnole	Cheval de patrouille	mai-12

Figure n° 18 : Présentation des 10 sujets sélectionnés dans l'étude

Parmi les dix sujets sélectionnés, plusieurs disciplines sont représentées avec un cheval de

courses de plat, trois chevaux d'endurance, deux chevaux de saut d'obstacles, deux chevaux de club, un cheval de loisir et un cheval de patrouille. Parmi la population, huit chevaux ont été traités avec du PRP par voie intra articulaire et deux chevaux ont été traités avec des cellules souches mésenchymateuses couplées à du PRP ('K' et 'Qu'). Le choix d'un traitement à base de CSM couplées à du PRP sur ces deux cas a été orienté par la sévérité des lésions ostéoarticulaires avec une atteinte de l'os sous chondral observées par radiographie sur 'Qu' et par arthroscopie sur 'K'.

Concernant le caractère réfractaire aux traitements dits classique de l'ostéoarthrose, sept chevaux de l'étude ont été traités par voie intra articulaire et trois chevaux par voie générale avant la proposition d'un traitement à base de PRP. Parmi la population étudiée, six chevaux avaient reçu un traitement intra articulaire à base de corticoïdes (en particulier de TA), un cheval avait reçu un traitement intra articulaire à base d'acide hyaluronique et trois chevaux étaient sous anti inflammatoires non stéroïdiens par voie orale (cf. Figure n°19).

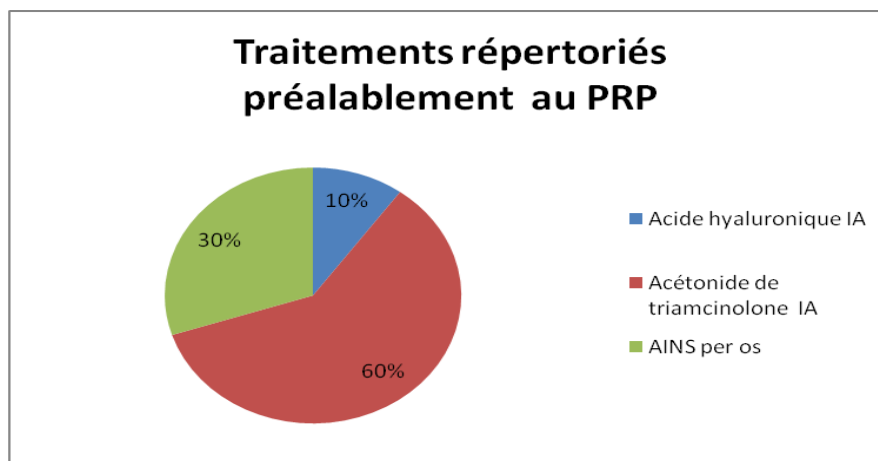


Figure n° 19 : Traitements réalisés sur les dix patients atteints d'ostéoarthrose avant l'essai du PRP

## 2. Protocole expérimental

### a) Diagnostic

Un examen locomoteur complet a été réalisé sur les dix sujets comprenant un examen au pas en ligne droite sur sol dur, un examen sur un huit de chiffre, un examen au trot en ligne droite sur sol dur, puis un examen au trot sur le cercle aux deux mains sur sol dur et sur sol mou. Les différents examens sont complétés ou non par des tests de flexion et des anesthésies tronculaires suivant la clinique observée.

Le motif de consultation dans chacun des cas est lié à une baisse de performances voire à une incapacité de travail. Sur les dix examens locomoteurs réalisés, on dénombre trois boiteries de postérieur et six boiteries d'antérieur. Seul un cheval ne présente pas de boiterie évidente à l'examen. Une grande majorité des boiteries présente un grade de 2 sur 5 (cf. Figure n°20).

Sujet	Type de boiterie	grade de boiterie
S	Aucune	grade 0/5
Qi	Antérieur Droit	grade 2/5
Qu	Antérieur gauche	grade 2/5
Na	Antérieur gauche	grade 2/5
T	Postérieur gauche	grade 2/5
O	Postérieur gauche	grade 2/5
No	Antérieur gauche	grade 3/5
M	Antérieur G et D	grade 3/5
K	Antérieur gauche	grade 3/5
L	Postérieur gauche	grade 4/5

Figure n° 20 : Types et grades de boiterie observés initialement sur les 10 sujets de l'étude

L'examen locomoteur est complété par des examens complémentaires d'imagerie réalisés au sein de la Clinique équine de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse. Des radiographies numériques sont réalisées pour chacun des cas et celles-ci sont complétées par une échographie selon la clinique observée.

## b) Préparation du PRP

La méthode de préparation du PRP est détaillée dans la quatrième partie (voir paragraphe 2.2 Protocole de préparation).

Concernant les deux cas (Qu et K) traités à la fois avec du PRP et des cellules souches issues de la MO, les cellules ont été prélevées à la clinique équine de l'ENVT suivant le même procédé décrit dans la 3<sup>ème</sup> partie (voir paragraphe 2.1 Technique de prélèvement) puis injectées après une mise en culture de trois semaines au sein du laboratoire de culture cellulaire de l'ENVT.

## c) Fréquence du traitement

Suivant l'étendue des lésions et leur évolution suite aux traitements classiques déjà réalisés, les injections de PRP peuvent être réitérées dans le temps. Les protocoles utilisés dans cette étude varient entre trois et cinq injections. L'intervalle moyen entre deux injections de PRP est de quinze jours (cf. Figure n°21). La dose utilisée est variable d'un individu à l'autre suivant les caractéristiques du prélèvement sanguin initial et le volume de l'articulation à traiter.

Sujet	Articulation(s) traitée(s)	fréquence injections PRP
Qi	Carpe	3 injections à 15 jours d'intervalle
O	Jarret	3 injections à 15 jours d'intervalle
Na	Boulet antérieur	3 injections à 15 jours d'intervalle
No	Boulet antérieur	3 injections à 15 jours d'intervalle
M	Boulets antérieur	3 injections à 15 jours d'intervalle
T	A. tibiocrurale	3 injections à 15 jours d'intervalle
L	A. coxofémorale	3 injections à 15 jours d'intervalle
Qu	Boulet antérieur	4 injections à 15 jours d'intervalle
S	Boulets antérieur	5 injections à 15 jours d'intervalle
K	Carpe	5 injections à 15 jours d'intervalle

Figure n°21 : Protocoles de traitement et articulations traitées pour les dix sujets

### 3. Résultats

#### a) Données épidémiologiques

L'âge des chevaux répertoriés dans l'étude reste relativement jeune étant donné que 70% des sujets ont entre 4 et 10 ans (cf. Figure n°22). Ces chiffres peuvent s'expliquer par le faible effectif étudié et le choix de la clientèle plus disposée à investir dans un traitement pour un cheval en début de carrière.

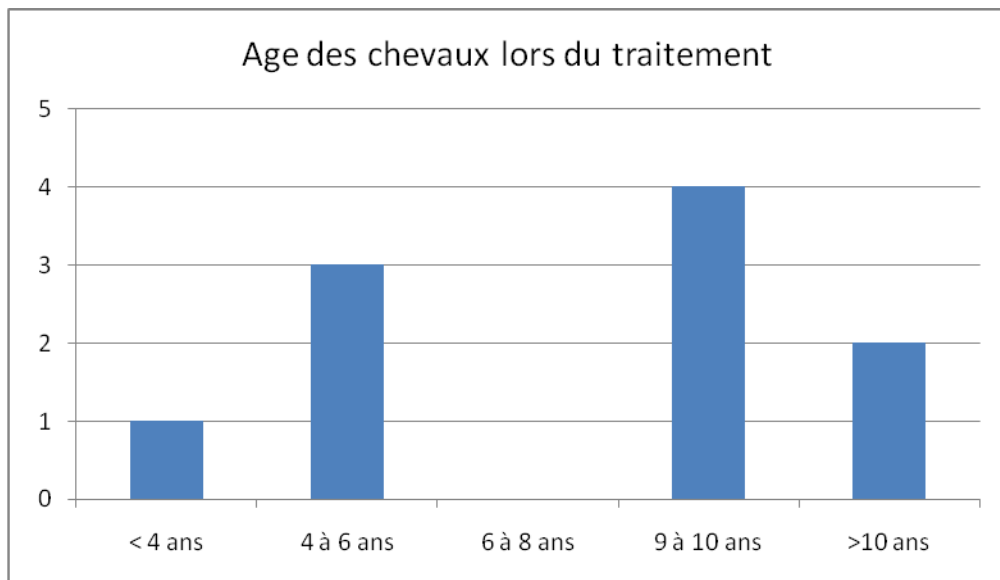


Figure n°22 : Répartition des chevaux suivant leur âge lors de la réalisation du traitement à base de PRP.

Parmi la population étudiée, on compte sept femelles et trois hongres. Cette donnée est purement descriptive étant donné l'effectif de dix chevaux.

Les races représentées sont majoritairement des races de chevaux de courses avec trois Pur Sang arabe, un Pur Sang Anglais, deux Selle Français, un Anglo-arabe, un Camarguais, et un Pur Race Espagnol.



## b) Suivi clinique

Sur la population étudiée, 90% des sujets présentaient une boiterie de grade égal ou supérieur à 2/5. Cet état clinique est confirmé à l'imagerie par la présence de lésions ostéoarticulaires nettes sur chaque sujet étudié. Les anomalies radiographiques recherchées sont une modification de densité osseuse (sclérose de l'os sous chondral), la présence d'ostéophytes, une diminution de l'interligne articulaire, ou une distension de la capsule articulaire.

Dans cette étude, quatre articulations sont représentées avec le boulet, le jarret, le carpe et la hanche. L'articulation métacarpophalangienne est majoritairement représentée avec près d'un cas sur deux (cf. Figure n°23).

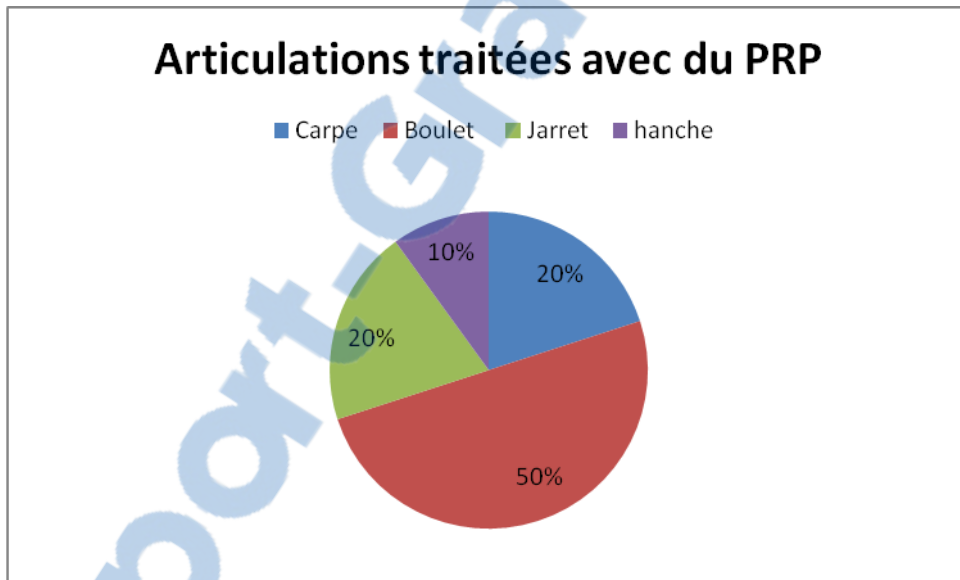


Figure n°23 : Articulations traitées par le PRP parmi la population étudiée.

Aucune complication n'est à noter parmi les dix sujets traités par voie intra articulaire. Le traitement est bien toléré et n'a pas suscité de réaction inflammatoire lors de la période de repos imposée post injection.

## c) Suivi des performances

Les données cliniques de chaque patient avant traitement sont répertoriées dans leur dossier

médical afin de pouvoir critiquer le suivi de leurs performances sportives à court et à moyen terme. Elles permettent de déterminer s'il y a eu récurrence de l'articulation concernée en regard de la première visite. Il convient alors d'interroger le propriétaire ou l'entraîneur sur le niveau de performance après traitement afin de mettre en évidence un effet améliorateur du traitement.

Six mois après la dernière injection de PRP, les résultats sont satisfaisants avec un retour au travail pour neuf des dix chevaux. Le cas présentant une boiterie de grade 4/5 n'a profité d'aucune amélioration et n'a pas repris le travail suite au traitement.

Concernant les deux cas dont le niveau sportif s'est amélioré, ils ont pu respectivement engagés deux courses d'endurance de niveau supérieur à leurs performances passées et ceci quatre mois après la dernière injection pour 'K' et un mois pour 'S'. Les sept autres cas ont pu reprendre une activité équivalente à leur activité passée après une période de repos (cf. Figure n°24).

<b>Evolution</b>	<b>Nombre de chevaux 6 mois post traitement</b>	<b>Nombre de chevaux un an post traitement</b>
Niveau sportif amélioré	2	1
Niveau sportif identique	7	4
Récidive	0	3
Réformé	1	2

Figure n°24 : Suivi des performances des 10 sujets à six mois et un an post traitement

Un an après le traitement, 'L' et 'M' ont été réformés respectivement pour récurrence et pour hémorragie pulmonaire induite à l'effort. Quatre chevaux poursuivent un niveau d'activité équivalent ('T', 'Qi', 'O' et 'Na') tandis que 'No' et 'Qu' ont présenté à nouveau une boiterie à l'origine d'une baisse de performances. Le cas 'S' malgré un bon suivi six mois après le traitement est en revanche éliminé sur ses deux dernières courses en 2013 pour boiterie tandis que 'K' continue à performer sur des courses de niveau international.

Les résultats un an post traitement sont plus contrastés. Seul un cheval sur deux réussit à conserver un niveau sportif équivalent. Tandis que le reste de l'échantillon est soit réformé soit de nouveau boiteux. Trois des dix chevaux ('No', 'Qu' et 'Na') ont été revus en

consultation de boiterie après cette étude. Deux d'entre eux ont été traités par une injection intra articulaire de TA dans la même articulation que celle de l'étude et l'un fut placé sous AINS pour une boiterie de pied. Il semblerait que le facteur chronicité ainsi que la présence de lésions concomitantes portent préjudice à un retour en compétition post traitement.

#### 4. Discussion

##### a) Limites inhérentes à l'effectif et au groupe d'étude

Malgré des résultats satisfaisants dans le traitement de certaines arthropathies en médecine humaine, l'usage du PRP qu'il soit seul ou couplé à des CSM par voie intra articulaire reste peu décrit dans le domaine vétérinaire et donc peu connu des propriétaires de chevaux. Afin de banaliser cette procédure et de lui donner sa place en tant qu'option thérapeutique dans la gestion de l'ostéoarthrose, le praticien se doit d'en informer ses clients y compris les propriétaires de chevaux de loisirs. Ce manque de communication quant aux nouvelles procédures peut expliquer le nombre réduit de cas référés correspondant aux critères d'inclusion de l'étude. Au-delà de l'aspect expérimental véhiculé parfois à tort auprès des propriétaires, une deuxième réticence apparaît vis-à-vis du protocole imposé par le traitement. Cet investissement dans le temps avec un retour en consultation en moyenne toutes les deux semaines, peut expliquer le faible effectif de l'étude. De plus, le prélèvement de cellules souches mésenchymateuses ajoute un rendez vous supplémentaire au protocole établi et se révèle invasif en comparaison d'une prise de sang veineux. Ces différents facteurs ont certainement influencés la prise de décision quant à la mise en place d'un traitement à base de PRP et ainsi expliquent le nombre restreint de chevaux dans l'étude. Idéalement, il aurait été souhaitable de réaliser une étude en double aveugle avec trois groupes dont un groupe témoin, un groupe traité avec du PRP et un groupe traité avec des CSM couplées à du PRP. Le manque de cas ainsi que la difficulté d'inclure un groupe témoin parmi une clientèle n'ont pas permis cette disposition.

Au delà des limites statistiques engendrées par le faible effectif composé de dix sujets, celle-ci permet d'établir un suivi clinique à court et moyen terme sur des chevaux atteints de lésions

d'ostéoarthrose et traités par du PRP. L'effectif étudié reste néanmoins très hétérogène en terme de discipline pratiquée et donc de niveau sportif. Il se compose majoritairement de chevaux d'endurance et de chevaux de club, à l'image de la clientèle de l'Hôpital équin de l'ENVT, étant donné sa position géographique et la présence du centre équestre au sein de l'école vétérinaire. Il est donc assez difficile de comparer le niveau de performances après traitement entre un cheval de club et un cheval de courses d'endurance au niveau international. A cela s'ajoute les différences de contrainte appliquées aux articulations suivant l'effort pratiqué dans chaque discipline. Les articulations les plus sollicitées entre un cheval de courses et un cheval de saut d'obstacles ne sont pas les mêmes ainsi la réponse au traitement est variable suivant le type de lésions observées et la physiopathologie sous jacente.

Compte tenu des critères de sélection des chevaux, la plupart d'entre eux ont été référés et donc déjà examinés par un vétérinaire ayant mis en place un ou plusieurs traitements au préalable. Par exemple, sur la population étudiée, 60% des cas ont été traité par des injections intra articulaires de corticoïdes. Le manque de standardisation concernant les traitements effectués avant le traitement au PRP constitue une limite dans l'interprétation des résultats car ceux-ci vont interférer avec le pronostic sportif. La multiplicité des traitements déjà effectués et la chronicité de la boiterie ont un effet négatif sur la probabilité de retour à la compétition et ce malgré un traitement à base de PRP.

#### b) Intérêt et limite du protocole

En pratique, le PRP est considéré comme un traitement facile et rapide à préparer engendrant un coût peu élevé. Peu invasif, il est bien toléré par le patient et ne génère pas ou peu d'effets secondaires. Son caractère autologue lui confère une grande sécurité d'utilisation car biocompatible. Ces différents avantages n'empêchent pas la controverse quant à la qualité du produit final. En revanche, la manipulation des CSM est plus contraignante en termes de prélèvement et de mise en culture. La culture cellulaire nécessite du temps, des locaux adaptés, du matériel en conséquence et des opérateurs qualifiés. La qualité du produit fini est

étroitement liée à la qualité du prélèvement et de la mise en culture donc le choix d'un opérateur unique semble essentiel afin de garantir l'uniformité des traitements à base cellulaire.

Le manque de standardisation dans la technique de préparation et dans sa composition du fait de son caractère autologue fait du PRP un produit décrit comme hétérogène. Dans cette étude, chaque traitement de PRP a été réalisé par le même opérateur au cours des différentes étapes à compter du prélèvement jusqu'à l'injection intra articulaire. La méthode d'activation est également restée la même entre chaque cas. Afin d'évaluer les variations inter individuelles entre chaque PRP, il aurait été intéressant de mesurer la concentration initiale en plaquettes des différents prélèvements. Un contrôle qualité de chaque produit fini de PRP aurait également été intéressant notamment en mesurant la concentration résiduelle de leucocytes et d'hématies. Plusieurs opérateurs auraient alors été nécessaires afin de permettre en parallèle la production du PRP et les analyses sous jacentes. De la même manière, un comptage cellulaire à l'issue des trois semaines de mise en culture des CSM auraient été intéressant.

#### c) Suivi du niveau de performance

L'intérêt majeur du PRP et des CSM en terme de performance que se soit chez l'homme ou l'animal est l'absence de positivité au contrôle antidopage. Lorsque l'on étudie les performances à court et moyen terme, il est évident que les résultats à court terme (6 mois) sont favorables puisque 9 chevaux sur 10 ont repris une activité sportive équivalente à celle qu'ils pratiquaient avant traitement. Il faut toutefois souligner que parmi ces 9 chevaux, on compte trois chevaux pratiquant une activité club ou loisir dont l'intensité du travail n'est pas comparable à un cheval de courses. Le seul cas ('L') n'ayant pas repris le travail présentait de manière concomitante une affection locomotrice évoluant à bas bruit.

Les résultats à moyen terme (un an post traitement) sont plus mitigés avec seulement un cheval sur deux encore en activité. Seul un cheval sur l'effectif ('K') produit des performances supérieures à son niveau passé. Celui-ci avait été traité avec des CSM associées à du PRP. L'absence de groupe et l'effectif réduit ne permet pas de conclure quant à la supériorité d'un traitement à base de CSM couplées au PRP comparé au PRP utilisé seul. Le second cas traité avec des CSM a lui récidivé l'année suivante et nécessité un nouveau

traitement à base de TA par voie intra articulaire.

Les résultats mitigés à moyen terme montrent une limite du traitement en terme de durabilité. Ce traitement est palliatif et non curatif étant donné le caractère dégénératif évolutif de l'ostéoarthrose. L'amélioration clinique et son évolution dans le temps sont à relier à la durée de vie des facteurs de croissance au sein de l'articulation. Cet effet palliatif à court terme devrait encourager la recherche à optimiser la dose et les fréquences de traitement en fonction de l'articulation touchée et du type de lésion observé. Pour cela, il faudrait standardiser une lésion en la créant artificiellement et comparer différentes formulations de PRP et différents protocoles dans le temps.

La répétition des injections ajoutée à une efficacité limitée dans le temps peut constituer un vrai frein pour le propriétaire lors de sa prise de décision. La culture de CSM est un acte relativement onéreux et le retour régulier en consultation pour les injections reste contraignant. Ce traitement est donc devenu une option thérapeutique dite complémentaire (car couplée à des injections de corticoïdes ou d'acide hyaluronique) réservé à une clientèle de chevaux de sport de haut niveau souvent pourvu d'assurances vétérinaires.

## Conclusion

Les avancées scientifiques sur la biologie des CSM et du PRP contribuent à promouvoir les thérapies régénératives comme option thérapeutique dans la gestion de l'ostéoarthrose chez l'homme et chez l'animal. En dépit de leur caractère autologue et donc d'une grande variabilité intrinsèque, les premières études cliniques vétérinaires révèlent des résultats favorables en terme de symptomatologie (Murphy et al., 2003 ; Abellanet and Prades, 2009 ; Carmona et al., 2005).

Actuellement, l'absence d'étude clinique contrôlée et le manque de réglementation concernant l'appellation PRP, conduisent à reléguer ce type de traitement en seconde intention. La multiplication des kits commerciaux de préparation dans les domaines du PRP et des CSM ne contribuent pas à instaurer une réelle transparence quant à leur préparation. De plus le coût de ces kits est non négligeable. Ces différents facteurs rendent le domaine de la médecine régénérative d'autant plus opaque dans le milieu vétérinaire que chez l'humain.

L'intérêt majeur de l'utilisation de concentrés plaquettaires et/ou de CSM dans le cadre de l'ostéoarthrose est d'instaurer de manière sécuritaire et rapide une cicatrisation et régénération des tissus articulaires endommagés afin de pallier au caractère dégénératif de la maladie. L'attractivité de ce traitement chez le cheval de sport repose en grande majorité sur le fait qu'il ne soit pas soumis au contrôle antidopage. A ce jour, les résultats *in vivo* ne permettent pas de recommander de manière stricte l'utilisation préférentielle de PRP ou de CSM dans le cadre de l'ostéoarthrose équine car peu d'études bénéficient de résultats cliniques à long terme.

Néanmoins, l'avènement de ces nouvelles thérapies a permis certaines avancées dans la réparation du cartilage. Ne se contentant plus de faire cicatriser le cartilage par des injections intra articulaires, des scientifiques s'appliquent à le régénérer à l'aide de greffons de CSM. On parle alors d'ingénierie tissulaire qui est un vaste domaine encore actuellement à l'état de recherche. Cette technologie associe des cellules souches mésenchymateuses à un concentré plaquettaire, et ce sous différentes contraintes, afin de modéliser un greffon ou substitut cartilagineux (Hannouche 2008).

Il est évident que la perspective de pouvoir traiter tout défaut de cartilage au sein d'une articulation par l'intermédiaire de greffons constitue une avancée technologique très attrayante pour des sujets atteints d'ostéoarthrose. Néanmoins, cette technologie encore à l'essai chez l'être humain sera difficilement applicable en médecine vétérinaire équine. Le principal facteur limitant résidera probablement dans la mise en œuvre et le coût d'un tel traitement.



**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

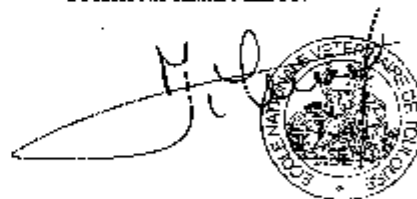
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, **Gabriel CUEVAS RAMOS**, Enseignant-chercheur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **SPANEVERELLO Magali** intitulée « *Notions sur la médecine régénérative via les concentrés plaquetaires et les cellules souches issues de la moelle osseuse dans la dégénérescence articulaire du cheval* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

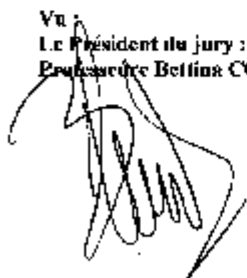
Fait à Toulouse, le 10 juillet 2013  
Docteur Gabriel CUEVAS RAMOS  
Enseignant chercheur  
de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Directeur de l'École Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président du jury :  
Professeure Bettina COUDERC



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT

Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation  
Le vice-président du jury



  
André LE PADELLEC

Mlle SPANEVERELLO Magali  
a été admis(e) sur concours en : 2006  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 30/06/2010  
a validé son année d'approfondissement le : 27/10/2011  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

## Bibliographie

1. Abellanet I. and Prades M.  
Intra-articular platelet rich plasma (PRP) therapy: evaluation in 42 sport horses with OA, Proceedings of the 11th International Congress of World Equine Veterinary Association (2009) Guarujá, SP, Brazil.
2. Akeda K., An H.S., Okuma M. et al.  
Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *OsteoArthritis and Cartilage* (2006)14:p1272-1280.
3. Barritault D. et Caruelle J.P.  
Les agents de régénération (ou RGTAs) : une nouvelle approche thérapeutique. *Annales Pharmaceutiques Françaises* (2006)64:p135-144.
4. Barritault D., Garcia-Filipe S., et Zakine G.  
Les bases de la thérapie matricielle en médecine régénérative par les RGTA : du fondamental à la chirurgie plastique. *Annales de chirurgie plastique esthétique* (2010)55:p413-420.
5. Bellamy N., Campbell J., Robinson V., et al.  
Intraarticular corticosteroid for treatment of osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2002)2:CD005328.
6. Blair Price and Flaumenhaft R.  
Platelet a-granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews* (2009)23:p177-189.
7. Bismuth C.  
Les cellules souches chez l'adulte – Applications possibles en médecine vétérinaire. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Créteil, 2008, 129 pages.

8. Bolt D.M., Ishihara A., Weisbrode S.E., and Bertone A.L.  
Effects of triamcinolone acetonide, sodium hyaluronate, amikacin sulfate, and mepivacaine hydrochloride, alone and in combination, on morphology and matrix composition of lipopolysaccharide-challenged and unchallenged equine articular cartilage explants. *American Journal of Veterinary Research*(2008)69:p861-867.
9. Bosch G., van Schie H.T., de Groot M.W. et al.  
Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: A placebo-controlled experimental study. *Journal of Orthopaedic Research* (2010)28(2):p211-217.
10. Bourzac C., Smith L.C., Vincent P. et al.  
Isolation of equine bone marrow-derived mesenchymal stem cells : a comparison between three protocols. *Equine Veterinary Journal* (2010)42(6):p519-527.
11. Brehm W., Burk J., Delling U. et al.  
Stem cell-based tissue engineering in veterinary orthopaedics. *Cell and Tissue Research* (2012) 347:p677–688.
12. Caplan A.I.  
Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of cellular physiology* (2007)213:p 341-347.
13. Caplan A.I., and Dennis J.E.  
Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of Cellular Biochemistry* (2006)98:p1076-1084.
14. Carmona J.U., Argüelles D., Climent F. et al.  
Autologous platelet-rich plasma injected intraarticularly diminished synovial effusion and degree of lameness in horses affected with severe joint disease. 14th Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Surgeons. Lyon, France, Juillet 7-9, 2005. Available online : [www.itrt.es/includes/download.asp?f=95&v=0](http://www.itrt.es/includes/download.asp?f=95&v=0)

15. Carmona J.U., Argüelles D., Climent F., and Prades M.  
Autologous platelet concentrates as a treatment of horses with osteoarthritis: A preliminary pilot clinical study. *Journal of Equine Veterinary Science* (April 2007)27(4):p167-170.
16. Caron J.P., Fernandes J.C., Martel-Pelletier J. et al.  
Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis. Suppression of collagenase-1 expression. *Arthritis & Rheumatism* (1996)39:p1535-1544.
17. Caron J.P.  
Chapter 61: Osteoarthritis. In: S.J. Dyson, *Diagnosis and management of lameness in the horse*, Editor. 2003, Saunders: Philadelphia. p. 572-591.
18. Caron J.P.  
Intra articular injections for joint disease in horses. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2005)21:p559-573.
19. Caron J.P.  
Therapy for equine joint disease. *Large animal veterinary rounds*, Aug/Sept (2006), Vol 6, Issue 7.
20. Céleste C., Ionescu M., Poole R.A., et al.  
Repeated intraarticular injections of triamcinolone acetonide alter cartilage matrix metabolism measured by biomarkers in synovial fluid. *Journal of Orthopaedic Research* (2005)23:p602-610.
21. Chen C.L., Sailor J.A., Collier J., and Wiegand, J.  
Synovial and serum levels of triamcinolone following intra-articular administration of triamcinolone acetonide in the horse. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics* (1992)15:p 240-246.

22. Wang C.J., Weng L.H., Ko J.Y. et al.  
Extracorporeal shockwave therapy shows chondroprotective effects in osteoarthritic rat knee. Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery (2011)131:p1153-1158.
23. Colombier M.L., Lafont J., Blanquaert F. et al.  
A single low dose of RGTA, a new healing agent, hastens wound maturation and enhances bone deposition in rat craniotomy defects. Cells Tissues Organs (1999) 164:p131-140.
24. Crisostomo P.R., Markel T.A., Wang Y., and Meldrum D.R.  
Surgically relevant aspects of stem cell paracrine effects. Surgery (2008 May)143:p 577-581.
25. De Jaeger C.,et Cherin P.  
L'arthrose : une nouvelle maladie inflammatoire ? Actualités fondamentales et thérapeutiques. Médecine & Longévité (2011) 3:p116-136.
26. Dohan S., Dohan A., Choukroun J. et al.  
De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique. EMC-Ondontologie (2005)1:p141-180.
27. Dumas Aline  
Cellules médullaires et biomatériaux implantables en site osseux. Thèse Ecole Doctorale d'Angers, Spécialité Biologie cellulaire, 2008,219 pages.
28. Durando M.M., Zarucco L., Schare T.P. et al.  
Pneumopericardium in a horse secondary to sternal bone marrow aspiration. Equine Veterinary Education (2006)18:p75-79.
29. Edwards Scott H.R.  
Intra-articular drug delivery: The challenge to extend drug residence time within the joint. The Veterinary Journal (2011) 190:p15-21.

30. Felson D.T., Lawrence R.C., Dieppe P.A. et al.  
Osteoarthritis: New Insights. Part 1: the disease and its risk factors. *Annals of Internal Medicine*, Oct 17, (2000)133(8): p.635-647.
31. Ferris D.J., Frisbie D.D, and McIlwraith C.W.  
Current joint therapies in equine practice: a survey of veterinarians. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.* (2009)55:p57.
32. Fortier L.  
Stem Cells: Classifications, Controversies, and Clinical Applications. *Veterinary Surgery* (2005) 34(5):p415-423.
33. Freen S.P and Lees P.  
Effects of polysulfated glycosaminoglycan and hyaluronan on prostaglandinE2 production by cultured equine synoviocytes. *American Journal of Veterinary Research* (2000)61(5):p499-505.
34. Frisbie D.D.  
Future directions in treatment of joint disease in horses. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2005)21:p713–724.
35. Frisbie D.D.  
Chapter 83: Synovial joint biology and pathobiology. In: Auer J.A., Stick J.A. *Equine surgery*, Editions Elsevier (3<sup>rd</sup> edition), 2006.
36. Frisbie D.D., Kawcak C.E., Werpy N.M. et al.  
Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research* (2007)68(3):p290–296.

37. Frisbie D.D., Bowman S.M., Colhoun H.A. et al.  
Evaluation of autologous chondrocyte transplantation via a collagen membrane in equine articular defects - results at 12 and 18 months. *Osteoarthritis and Cartilage* (2008) 16:p667-679.
38. Frisbie DD, Kawcak CE, and McIlwraith CW.  
Evaluation of the effect of extracorporeal shock wave treatment on experimentally induced osteoarthritis in middle carpal joints of horses. *American Journal of Veterinary Research* (2009)70:p449-454.
39. Frisbie D.D  
Chapter 79: Medical Treatment of Joint Disease. In: Auer J.A.,Stick J.A. *Equine surgery*, Editions Elsevier (4<sup>th</sup> edition), 2012.
40. Garvican E. R., Vaughan-Thomas A., Innes J.F., and Clegg. P.D.  
Biomarkers of cartilage turnover. Part 1: Markers of collagen degradation and synthesis. *The Veterinary Journal* (2010) 185:p36-42.
41. Gerwin N., Hops C., and Lucke A.  
Intraarticular drug delivery in osteoarthritis. *Advanced Drug Delivery Reviews* (2006) 58:p 226-242.
42. Godwin E. E., Young N. J., Dudhia J., Beamish I. C. and Smith R. K.W.  
Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon. *Equine Veterinary Journal* (2012) 44: p25–32.
43. Goodrich L. and Nixon A.  
Medical treatment of osteoarthritis in the horse – a review. *The veterinary journal* (2006)171: p51-69.

44. Greenberg A.S. and Obin M.S.

Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, (2006) 83(Suppl):p461–465.

45. Guéneq B.

Essai de tolérance du RGTA par injection intra-articulaire chez le cheval. Thèse de doctorat vétérinaire (2003), Faculté de Médecine, Créteil, 64 pages.

46. Gutierrez-Nibeyro S.D.

Commercial Cellbased Therapies for Musculoskeletal Injuries in Horse. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2011)27:p363-371.

47. Hannouche D.

Réparation du cartilage articulaire par ingénierie tissulaire. *Revue de chirurgie orthopédique et réparatrice de l'appareil moteur* (2008) 94S : p383-393.

48. Howard R.D. and McIlwraith C.W.

Sodium hyaluronate in the treatment of equine joint disease. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* (1993)15:p473-483.

49. Iannitti Tommaso, Lodi Daniele and Palmieri Beniamino.

Intra-Articular Injections for the Treatment of Osteoarthritis. Focus on the Clinical Use of Hyaluronic Acid. *Drugs R D* (2011)11(1):p13-27.

50. Jordan J.M., Renner J.B., Luta G. et al.

Hip osteoarthritis is not rare in African-Americans and is different than in Caucasians. *Arthritis & Rheumatism* (1997)40(Suppl):p236.

51. Jouglin M., Robert C., Valette J.P. et al.

Metalloproteinases and tumor necrosis factor-alpha activities in synovial fluid of horses, correlation with articular cartilage alterations. *Veterinary Research* (Sept Oct 2000) 31: p 507-



52. Kane E.

Risk factors for equine osteochondrosis: a combination of growth, nutrition and inheritance likely come into play. *DVM Newsmagazine* (August 2012)43(8):p4-8.

53. Kasashima Y., Ueno T, Tomita A et al.

Optimisation of bone marrow aspiration from the equine sternum for the safe recovery of mesenchymal stem cells. *Equine veterinary Journal* (2011) 43(3): p288-294.

54. Kaux J.-F., Degrave N., and Crielaard J.-M.

Platelet rich plasma : traitement des tendinopathies chroniques? *Revue de la littérature. Journal de Traumatologie du Sport* (2007) 24 :p99–102.

55. Kawcak C.E., McIlwraith C.W., Norrdin R.W. et al.

The role of subchondral bone in joint disease: a review. *Equine Veterinary Journal* ( 2001) 33(2): p120-126.

56. Kidd J. A., Fuller C., and Barr A.R.S.

Osteoarthritis in the horse, *Equine Veterinary Education* (2001) 13 (3):p160-168.

57. Koch T.G. and Betts D.H.

Stem cell therapy for joint problems using the horse as a clinically relevant animal model. *Expert Opinion on Biological Therapy* (2007)7(11):p1621-1626.

58. Koch T.G., Berg L.C., and Betts D.H.

Current and future regenerative medicine. Principles, concepts, and therapeutic use of stem cell therapy and tissue engineering in equine medicine. *Canadian Veterinary Journal* (February 2009) 50(2): p155-165.

59. Kolf C.M., Cho E. and Tuan R.S.

Mesenchymal stromal cells. *Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. Arthritis Research & Therapy* (2007)9(1):p204.

60. Kon E., Mandelbaum M, Buda R. et al.

Platelet-Rich Plasma Intra-Articular Injection Versus Hyaluronic Acid Viscosupplementation as Treatments for Cartilage Pathology: From Early Degeneration to Osteoarthritis. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery* (2011)27(11): p1490-1501.

61. Laufer S., Greim C. and Bertsche T.

An in vitro screening assay for the detection of inhibitors of pro-inflammatory cytokine synthesis: a useful tool for the development of new anti-arthritis and disease modifying drugs. *Osteoarthritis Cartilage* (2002)10:p961-967.

62. Leardini G., Mattara L., Franceschini M. et al.

Intra-articular treatment of knee osteoarthritis. A comparative study between hyaluronic acid and 6 méthyl prednisolone acetate. *Clinical and Experimental Rheumatology* (1991)9:p375-381.

63. Lee K.B.L., Hui J.H.P., Im Chim Song, et al.

Injectable Mesenchymal Stem Cell Therapy for Large Cartilage Defects—A Porcine Model. *stemcells* (2007) 25:p2964–2971. Available online [www.StemCells.com](http://www.StemCells.com).

64. Lejeune J.P., Schneider N., Henrotin Y., and Serteyn D.

L'ostéo-arthropathie dégénérative du cheval: pathogénie et moyens diagnostiques. *Annales de Médecine Vétérinaire* (2006)150 :p173-192.

65. Lotz M. and Loeser R.F.

Effects of aging on articular cartilage homeostasis. *Bone* 51 (2012): p241-248.

66. Malone E.D.

Managing chronic arthritis. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2002)18:p411-437.

67. Marchat Aurélie

Traitement des affections articulaires équinés par L'IRAP. Etude rétrospective de 28 cas. Thèse de doctorat vétérinaire (2010), Faculté de Médecine, Créteil, 121 pages.

68. Martin L., Augé C., Boué J. et al.

Thrombin receptor: an endogenous inhibitor of inflammatory pain, activating opioid pathways. *Pain* (2009)146(1-2):p121-129.

69. Marx R.E.

Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implants Dental* (2001)10:p225-228.

70. Marx R.E.

Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* (2004)62:p489.

71. Matras H.

Fibrin sealant in maxillofacial surgery. Development and indications. A review of the past 12 years. *Facial Plastic Surgery* (1985)2:p297-313.

72. McCluskey M.J. and Kavenagh P.B.

Clinical use of triamcinolone acetonide in the horses (205 cases) and the incidence of glucocorticoid-induced laminitis associated with its use. *Equine veterinary Education* (2004)16:p86-89.

73. McIlwraith C.W.

Current concepts in equine degenerative joint disease. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (1982)180:p239-250.

74. McIlwraith C.W.

General pathobiology of the joint and response to the injury. In: *Joint disease in the horse*. Ed.Saunders: Philadelphia,1996,p40-70.

75. McIlwraith C.W.

Disease processes of synovial membrane, fibrous capsule, ligaments, and articular cartilage. AAEP proceedings (2001) Vol 47.

76. McIlwraith C. W., Billingham R. C., and Frisbie D.D.

Current and Future Diagnostic Means to better characterize osteoarthritis in the Horse. Routine Synovial Fluid Analysis and Synovial Fluid and Serum Markers. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP (2001)47:p171.

*Available online* <http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2001/91010100171.pdf>

77. McIlwraith C.W.

Use of synovial fluid and serum biomarkers in equine bone and joint disease: a review. Equine veterinary Journal(2005)37(5):p473-482.

78. McIlwraith C.W.

The use of intra-articular corticosteroids in the horse: What is known on a scientific basis? Equine veterinary Journal(2010)42(6):p563-571.

79. McIlwraith C.W., Frisbie D.D., Rodkey W.G. et al.

Evaluation of Intra-Articular Mesenchymal Stem Cells to Augment Healing of Microfractured Chondral Defects. Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery (2011)27(11):p1552-1561.

80. McLellan J. and Plevin S.

Does it matter which platelet-rich plasma we use? Equine veterinary Education (2011)23(2):p101-104.

81. Meddahi A., Brée F., Papy-Garcia D. et al.

Pharmacological studies of RGTA11, a heparan sulfate mimetic polymer, efficient on muscle regeneration. Journal of Biomedical Materials Research(2002)62:p525-531.

82. Mokbel Abir N., Tookhy O.S.E, Shamaa A.A. et al.  
Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model. *BMC Musculoskeletal Disorders* (2011)12:p259.
83. Murphy J. M., Fink D.J., Hunziker E.B., and Barry F.P.  
Stem Cell Therapy in a Caprine Model of Osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism* (2003)48(12):p3464.
84. Nevitt M. and Lane N.  
Body weight and osteoarthritis. *The American Journal of Medicine* (1999)107:p632-633.
85. Ogino Y, Ayukawa Y, Kukita T, et al.  
The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* (2006)101(6):p724-729.
86. Phillips M.W.  
Clinical trial comparison of intra-articular sodium hyaluronate products in the horse. *Journal of Equine Veterinary Science* (1989)9(1):p39-40.
87. Platt D., Bird J.L., and Bayliss M.T.  
Ageing of equine articular cartilage: structure and composition of aggrecan and decorin. *Equine Veterinary Journal*(1998) 30(1): p43-52.
88. Pool R.R.  
Pathologic manifestations of joint disease in the athletic horse. In: *Joint disease in the horse*, (1996), Eds: C.W. McIlwraith and G.W. Trotter, W.B. Saunders, Philadelphia.p87-104.
89. Poole A.R., Kojima T., Yasuda T. et al.  
Composition and structure of articular cartilage: a template for Tissue repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research* (2001)391 Suppl: p26-33.

90. Revenaugh M.S.

Extracorporeal shockwave therapy for treatment of osteoarthritis in the horse: clinical applications. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* (2005)21:p609-625.

91. Ricco S., Boone L., and Peroni J.F.

Chapter 8: Regenerative Medicine. In: Auer et stick, *Equine Surgery*, 4<sup>th</sup> Ed, Elsevier, 2011,p85-93.

92. Richardson D.W.,and Ricardo L.

An Evidence-Based Approach to Selected Joint Therapies in Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* (2007) 23:p 443-460.

93. Richardson L., Dudhia J., Clegg P.D., Smith R.

Stem cells in veterinary medicine - attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends in biotechnology* (2007) 25(9): p198-207.

94. Riggs C.M.

Osteochondral injury and joint disease in the athletic horse. *Equine veterinary Education* (2006) 18 (2):p100-112.

95. Sablayrolles P., Gremeaux V. et Hérisson C.

Stratégie thérapeutique : la place des ondes de choc extra-corporelles. *Journal de Réadaptation Médicale* (2006) 26, n° 1-2, p15-21.

96. Sampson S., Gerhardt M. and Mandelbaum B.

Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. *Current reviews in musculoskeletal medicine* (2008) Vol.1(3-4) :p165-74.

97. Sampson S., Reed M., Silvers H. et al.

Injection of Platelet-Rich Plasma in Patients with Primary and Secondary Knee Osteoarthritis, A Pilot Study. American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation (2010)Vol. 89(12) :p961-969.

98. Sanchez M., Anitua E., Azofra J. et al.

Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. The American Journal of Sports Medicine (2007)35(2):p245-251.

99. a) Sanchez M., Albillos J., Angulo F. et al.

Platelet-Rich Plasma in Muscle and Tendon Healing. Operative Techniques in Orthopaedics (2012)22(1):p16-24.

100. b) Sanchez M., Guadilla J., Fiz N. and Andia I.

Ultrasound-guided platelet-rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis of the hip. Rheumatology (2012)51:p144-150.

101. Smets F., Croisier J.L., Forthomme B., Crielaard J.M., et Kaux J.F.

Applications cliniques du plasma riche en plaquettes (PRP) dans les lésions tendineuses : revue de la littérature. Science & Sports (2012) 27:p141-153.

102. Smith R.K.W., Korda M., Blunn G. W., and Goodship A. E.

Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment. Equine veterinary Journal (2003) 35 (1):p99-102.

103. Smith J.J., Ross M.W.,and Smith R.K.W.

Anabolic effects of acellular bone marrow, platelet rich plasma, and serum on equine suspensory ligament fibroblasts in vitro. Veterinary and Comparative Orthopaedics and traumatology(2006)19:p43-47.

104. Smith R.K.W.  
Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy. *Disability and Rehabilitation* (2008) 30(20-22):p1752-1758.
105. Steel C.M.  
Equine Synovial Fluid Analysis. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2008)24:p437-454.
106. Stewart M.C. and Stewart A.A.  
Mesenchymal Stem Cells: Characteristics, Sources, and Mechanisms of Action. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2011)27:p243-261.
107. Taylor S.E., Smith R.K.W. and Clegg P.D.  
Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific fact or clinical fiction? *Equine veterinary Journal*(2007)39(2):p172-180.
108. Taylor S. E. and Clegg P.D.  
Collection and Propagation Methods for mesenchymal Stromal Cells. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2011) 27:p 263-274.
109. Tepper S. and Hochberg M.C.  
Factors associated with hip osteoarthritis: data from the first National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES-I). *American Journal of Epidemiology* (1993)137:p1081-1088.
110. Textor J.  
Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein. *Veterinary clinics of North America: Equine Practice* (2011) 27:p275-298.
111. Textor J.A. and Tablin F.



Activation of Equine Platelet-Rich Plasma: Comparison of Methods and Characterization of Equine Autologous Thrombin. *Veterinary Surgery* (2012)41:p784-794.

112. Ticiana Meireles Sousa

Analysis of cartilage wear particles in equine joints and their relationship to several joint diseases. Thèse de Médecine Vétérinaire, Faculté de Médecine de Berlin, 2008, 109pages. [http://www.diss.fuberlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS\\_derivate\\_000000004418/Sousa.pdf?hosts](http://www.diss.fuberlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000004418/Sousa.pdf?hosts)

113. Todhunter R.J. and Lust G.

Polysulfated glycosaminoglycan in the treatment of osteoarthritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (1994)204:p1245.

114. Todhunter R.J., Fubini S.L., Wootton J.A., et al.

Effect of methylprednisolone acetate on proteoglycan and collagen metabolism of articular cartilage explants. *The Journal of Rheumatology* (1996)23:p1207-1213.

115. Torricelli P., Fini M., Filardo G. et al.

Regenerative medicine for the treatment of musculoskeletal overuse injuries in competition horses. *International Orthopaedics* (2011) 35(10):p1569-1576.

116. Trotter G.W. and McIlwraith C.W.

Clinical features and diagnosis of equine joint disease. In: McIlwraith C.W., Trotter G.W., eds. *Joint disease in the horse*. WB Saunders, Philadelphia. 1996:p120-145.

117. Tuan R.S., Boland G., and Tuli R.

Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering. *Arthritis research & therapy* (2003) 5:p32-45.

118. Vidal M.A, Kilroy G.E., Johnson J.R. et al.

Cell growth characteristics and differentiation frequency of adherent equine bone marrow-derived mesenchymal stromal cells: adipogenic and osteogenic capacity. *Veterinary Surgery* (2006)35:p601-610.

119. Volpi P., Marinoni L., Bait C., De Girolamo L., and Schoenhuber H.  
Treatment of chronic patellar tendinosis with buffered platelet-rich plasma: a preliminary study. *Medicina Dello Sport* (2007)60:p595-603.
120. Waselau M., Sutter W.W., Genovese R.L., et al.  
Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* (2008)232(10):p1515-1520.
121. Wasterlain A.S., Hillary J.B., Jason L.D.  
Contents and Formulations of Platelet-Rich Plasma. *Operative Techniques in Orthopaedics* (2012)22:p33-42.
122. Whitman D.H., Berry R.L., and Green D.M.  
Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* (1997) 55:p1294-1299.
123. Wroblewski A.P., Mejia H.A. and Wright V.J.  
Application of Platelet-Rich Plasma to Enhance Tissue Repair. *Operative Techniques in Orthopaedics* (2010)20:p98-105 .
124. Wang Yun  
Intérêt des cellules souches mésenchymateuses en ingénierie tissulaire du cartilage. Effets des stimuli mécaniques et biochimiques. Thèse Ecole doctorale de Biologie Santé de l'environnement, Université Henri Poincaré, 2007,260pages.  
Available online [http://www.scd.uhp-nancy.fr/docnum/SCD\\_T\\_2007\\_0163\\_WANG.pdf](http://www.scd.uhp-nancy.fr/docnum/SCD_T_2007_0163_WANG.pdf).

Notions sur la médecine régénérative via les concentrés plaquettaire et les cellules souches issues de la moelle osseuse dans la dégénérescence articulaire du cheval.

SPANEVERELLO Magali

Résumé

L'ostéoartrrose est une affection dégénérative articulaire rencontrée fréquemment chez le cheval de sport. Cette entité pathologique constitue une des causes majeures de boiterie à l'origine d'une baisse de performances en orthopédie équine. Le défi thérapeutique est donc d'enrayer le processus dégénératif et de promouvoir la régénération du cartilage en tenant compte du statut de cheval athlète et des règles anti dopage. La médecine régénérative offre une nouvelle approche thérapeutique en terme de régénération tissulaire dans laquelle s'inscrivent le plasma riche en plaquettes et les cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse. Cette étude a pour objectif de décrire les connaissances et applications cliniques actuelles de ces deux thérapies biologiques en médecine sportive humaine et équine. La dernière partie rapporte les premiers résultats d'une étude rétrospective portant sur dix chevaux ayant reçu cette thérapie.

Mots clés : Arthrose, concentré plaquettaire, cellule souche mésenchymateuse, moelle osseuse, cheval, médecine régénérative

---

Basic notions about regenerative medicine via platelet concentrate and stem cells from bone marrow in joint degeneration of horse.

Spanevello Magali

Abstract

Osteoarthritis is a degenerative joint disease that often affects sport horses. This pathology is one of the main causes of lameness resulting in a loss of performance. The Therapeutic challenge is to derail the degenerative process and stimulate cartilage regeneration without forgetting the athlete status of the horse and anti-doping rules. Regenerative medicine provides a new therapeutic approach to tissue regeneration with the platelet concentrate and bone marrow derived mesenchymal stem cells. The purpose of this study is to update the current knowledge and clinical applications of these biologic therapies in human and equine sport medicine. Results of a retrospective study are reported: ten horses received these biologic therapies.

Key words: osteoarthritis, platelet concentrate, mesenchymal stem cell, bone marrow, horse, regenerative medicine