



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 14188](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/14188)

To cite this version :

Pichereau, Fanny. *Traitements contre l'arthrose chez le cheval et étude d'une nouvelle approche thérapeutique : plasma enrichi en plaquettes*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2015, 175 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ANNEE 2015 THESE : 2015 – TOU 3 – 4031

TRAITEMENTS CONTRE L'ATHROSE CHEZ LE CHEVAL, ETUDE D'UNE NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE : PLASMA ENRICHI EN PLAQUETTES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PICHEREAU Fanny
Née, le 21 mars 1989 à Dijon (21)

Directeur de thèse : M. Gabriel CUEVAS RAMOS

JURY

PRESIDENT :

Mme Bettina COUDREC

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESSEURS :

M. Gabriel CUEVAS RAMOS

M. Claude PETIT

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. Alain MILON

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1°
CLASSE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2°
CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT
AGRICOLE**

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS
CLASSE**

M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe
normale)**

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

**MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS
CONTRACTUELS**

M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*

M. **DAHAN Julien**, *Médecine Interne*
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*
M. **HERRY Vincent**, *Pathologie des ruminants*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*

REMERCIEMENTS

À Madame le Professeur Bettina COUDERC

Professeur de l'Université Paul Sabatier, Toulouse
Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Service de Biochimie et Biologie moléculaire
Cancérologie et biotechnologies - Institut Claudius Régaud

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la Présidence du jury de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour votre disponibilité. Mes hommages respectueux.

À Monsieur le Docteur Gabriel CUEVAS RAMOS

Maître de Conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Chirurgie équine

Pour m'avoir proposé ce projet, pour sa grande disponibilité et surtout sa réactivité lors de la réalisation de celui-ci. Mille remerciements pour l'aboutissement de ce travail, mais également pour sa confiance et sa gentillesse.

Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de mon respect les plus sincères.

À Monsieur le Docteur Claude PETIT

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Pharmacie – Toxicologie

Qui a accepté d'être mon assesseur de thèse.

Sincères remerciements.

À **mes parents** qui m'ont accompagnée tout au long de ce rêve d'enfance devenu réalité. Un grand merci de m'avoir introduit dans ce monde du cheval, sans quoi cette passion pour les chevaux n'existerait pas ! À toutes ces heures de travail, mais aussi de concours qui m'ont menée jusqu'ici... Passion a été, est et je ferai en sorte qu'elle reste à tout jamais mon fil conducteur. Merci pour votre amour, votre confiance et pour tout ce que vous faites pour moi, merci de n'avoir jamais douté en moi.

À **Mamy**, tu es partie bien trop tôt et même si tu le savais au plus profond de toi, j'aurais tant voulu te dire que mon rêve s'était réalisé. J'aurais été tellement fière de te présenter ce travail. Tu me permets d'avoir la force d'affronter toutes ces épreuves et de garder confiance en moi, merci.

À **ma grande sœur**, merci de me montrer le chemin. C'est peut-être dans la différence (et surtout nos différends enfantins :p) que nous avons grandi, nous avons désormais trouvé notre chemin et je suis si fière de t'avoir à mes côtés (spécialement en tant que tata et marraine <3), plus soudées que jamais. Merci à vous pour ces supers week-ends toulousains !

À **Taty**, merci pour ta présence et ton amour. Retrouve dans ce travail ma reconnaissance pour ton travail pas toujours facile !

À **mon parrain et Christine** : comme quoi pharmaciens et véto dans la même famille, c'est possible ! À nos futurs nombreux débats ☺ Merci d'être à mes côtés.

À **mon chéri** qui a su mieux que quiconque m'accompagner, comprendre et me soutenir avec une grande patience. C'est promis : un jour, tu les aimeras ces canassons !

Merci d'être auprès de moi. Que notre bonne étoile continue ainsi de veiller sur nous ...

À **Lucie** qui a toujours su être une oreille précieuse lors de moments difficiles, et à la continuité d'une belle amitié.

À **Julien et Stef**, merci pour votre présence à tous les moments clés de notre parcours et pour votre grande générosité. Merci pour tous ces moments et ce sacré déménagement !

À **Ambre, Chloé et Kévin**, je n'oublierai pas tous ces moments partagés ensemble même si le cours de la vie choisit de séparer certains chemins. Et à Harnac, sans qui ce projet n'aurait peut-être pas eu lieu, eh oui une journée passée à la clinique de l'école ça créer des liens !

À **Sarah** et aux **co-internes nantais de Guillaume**, merci pour votre intégration (sans nez cassé !!).

À **Marc** et **Denis**, pour m'avoir montré comment un rêve d'enfance devient réalité. Merci pour votre passion et vos soins apportés à Lucky.

À **Xavier** et **Émilie**, pour m'avoir fait découvrir la passion des chevaux. Merci pour toutes ces heures à cheval et ces nombreux concours !

A **François** et **Stéphanie** pour m'avoir fait découvrir et aimer le monde de l'équine.

À **Gabriel**, plus qu'un maître de thèse. Merci pour ta confiance, le travail que nous avons réalisé ensemble et surtout pour tes conseils. Ce fut de belles aventures.

À **mes profs** qui ont cru en moi.

À **mes maîtres de stage** et **aux internes** qui ont partagé leurs connaissances et ont su m'accorder leur confiance. Merci pour ces expériences inoubliables.

Et à tous ceux qui ont participé à ce beau projet.

À Lucky, Hélios et à ma choupette, compagnons d'un jour, compagnons de toujours !

« Après trente ans sur le dos d'innombrables chevaux, je demande aux cavaliers qui me lisent et qui dressent leurs chevaux de regarder leur monture lorsqu'ils mettent pied à terre après une séance de travail, de contempler son œil et de faire un examen de conscience pour se demander s'ils ont bien agi envers cet extraordinaire être vivant, ce compagnon adorable : le cheval. »

Nuno Oliveira, écuyer portugais.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ILLUSTRATIONS.....	1
LISTE DES TABLEAUX	2
LISTE DES ABRÉVIATIONS	3
INTRODUCTION	5
1^{re} partie : DE L'ARTICULATION SAINES A L'ARTICULATION ATTEINTE : IMPORTANCE DE LA COMPRÉHENSION DE LA PHYSIOPATHOLOGIE POUR LA MISE EN PLACE D'UN TRAITEMENT.....	7
I. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE L'ARTICULATION SAINES	7
A. Structure de l'articulation synoviale saine	7
1. Membrane synoviale et liquide synovial	8
1.1 Membrane synoviale.....	8
1.2 Liquide synovial.....	9
2. Cartilage articulaire	10
2.1 Organisation du cartilage articulaire	10
2.2 Matrice extracellulaire	12
i. Collagène.....	12
ii. Protéoglycanes	13
iii. L'eau et les sels organiques	15
iv. Autres constituants de la matrice	15
2.3 Chondrocytes	16
B. Physiologie et métabolisme de l'articulation saine.....	17
1. Métabolisme du cartilage.....	17
1.1 Métabolisme des GAG.....	17
1.2 Métabolisme des collagènes	18
1.3 Régulation	18
i. MMPs	19
ii. Cytokines	21
iii. Oxyde nitrique	22
iv. Prostaglandines	23
2. Physiologie du cartilage.....	24
2.1 Mécanisme de nutrition du cartilage	24
2.2 Rôle de la pression hydrostatique	24

2.3 Mécanobiologie du cartilage.....	25
2.4 Effet de l'âge sur le cartilage	26

II. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL 29

A. Causes de l'arthrose..... 29

1. L'arthrose provoquée par une contrainte anormale sur un cartilage normal	29
1.1 Traumatismes	30
1.2 Surcharge de l'os sous chondral (stress mécanique).....	30
1.3 Instabilité articulaire (perte de l'intégrité mécanique).....	31
1.4 Synovite et capsulite	31
1.5 Hypoxie.....	32
1.6 Surcharge corporelle et leptine	32
1.7 Défauts d'aplombs	33
i. Déviations angulaires	33
ii. Déviations rotatoires	34
iii. Déviations sagittales	35
iv. Conséquences des défauts d'aplombs dans le développement de l'OA	37
2. L'arthrose provoquée par une contrainte normale sur un cartilage anormal	37
2.1 Influence de l'âge.....	37
2.2 Affections ostéocondrales juvéniles	38
2.3 Influences hormonales	38
2.4 Cause génétique	39

B. Modification de l'homéostasie articulaire..... 40

1. Rôle majeur des chondrocytes	40
2. L'activité des cytokines cataboliques est amplifiée lors d'OA	41
2.1 Les cytokines pro-inflammatoires	41
i. IL-1	41
ii. TNF α	43
2.2 Les enzymes de dégradation de la MEC	45
i. MMPs	45
ii. Agrécanases	46
iii. Protéase à sérine.....	46
2.3 Les éicosanoïdes	48
2.4 Le monoxyde d'azote.....	49
3. L'activité des cytokines anaboliques est réduite lors d'OA	49
3.1 Les facteurs de croissance.....	49
i. IGFs.....	50

ii. TGFβ.....	51
iii. bFGF et PDGF-BB	51
3.2 Les cytokines anti-inflammatoires	52
C. Conséquences sur l'articulation.....	54
1. Modifications structurelles et mécaniques de la matrice	54
1.1 Stade initial	54
1.2 Stade intermédiaire	55
1.3 Stade final	56
2. Modifications de la composition du liquide synovial.....	58
3. L'épanchement articulaire	58
4. Quels sont les différents facteurs à l'origine du maintien ou de l'altération du phénotype articulaire des chondrocytes ?	59
5. Quel est le rôle de l'inflammation dans l'OA ?	60
6. Nocicepteurs et substance P.....	61
D. Bilan	63

2^e partie : DONNÉES ACTUELLES SUR LES TRAITEMENTS UTILISÉS CONTRE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL..... 65

I. INJECTION INTRA-ARTICULAIRE DE GLUCOCORTICOÏDES ET ADMINISTRATION PAR VOIE GÉNÉRALE D'ANTI-INFLAMMATOIRES NON STÉROÏDIENS ET DE BISPHOSPHONATES 65

A. Les injections intra-articulaires de glucocorticoïdes	65
1. Effet sur le cartilage.....	66
2. L'acétate de méthylprednisolone.....	68
3. La bétaméthasone	69
4. L'acétate de triamcinolone	69
5. Bilan.....	70

B. Les AINS	73
1. Phénylbutazone.....	75
1.1 Pharmacocinétique.....	75
1.2 Utilisation.....	75
1.3 Toxicité	76
2. Flunixinine méglumine.....	76
2.1 Pharmacocinétique.....	76
2.2 Utilisation.....	76
2.3 Toxicité	77
3. Kétoprofène	77
3.1 Pharmacocinétique.....	77
3.2 Utilisation.....	78
3.3 Toxicité	78
4. Naproxène.....	79
4.1 Pharmacocinétique.....	79
4.2 Utilisation.....	79
5. Carprofène	79
5.1 Pharmacocinétique.....	79
5.2 Utilisation.....	79
6. Firocoxib.....	80
6.1 Pharmacocinétique.....	81
6.2 Utilisation.....	82
6.3 Toxicité	82
6.4 Comparaison avec les autres AINS.....	83
7. Méloxicam	84
7.1 Pharmacocinétique.....	84
7.2 Utilisation.....	84
7.3 Toxicité	85
8. Védaprofène.....	85
8.1 Pharmacocinétique.....	85
8.2 Utilisation.....	85
8.3 Toxicité	85
9. Acide méclofénamique	86
9.1 Pharmacocinétique.....	86
9.2 Utilisation.....	86
10. Conclusion	87

C. Les bisphosphonates	88
1. Mode d'action.....	88
2. Pharmacocinétique.....	89
3. Utilisation	90
3.1 Chez l'homme	90
3.2 Chez le cheval	91
4. Effets secondaires et toxicités.....	93
5. Limites	94
II. AUTRES TRAITEMENTS DISPONIBLES : LES TRAITEMENTS ADJUVANTS	96
A. L'acide hyaluronique.....	96
1. Généralités	96
2. Mécanisme d'action.....	96
2.1 Augmentation de la viscoélasticité du liquide synovial.....	97
2.2 Mise en évidence d'un effet chondroprotecteur.....	97
2.3 Diminution de la dégradation du cartilage et effet sur la membrane synoviale et les structures périarticulaires	97
2.4 Effets anti-inflammatoires	98
2.5 Stimulation des synthèses de la matrice extracellulaire	98
2.6 Importance du poids moléculaire.....	99
3. Utilisation	99
B. Les glycosaminoglycanes polysulfatés	100
1. Mécanisme d'action.....	100
2. Efficacité.....	101
3. Utilisation	102
C. Les compléments alimentaires anti-arthrosiques	103
1. Glucosamine	103
2. Chondroïtine sulfate.....	104
3. Efficacité	104

4. Utilisation	107
5. Temps nécessaire pour l'apparition d'une amélioration	107
D. Combinaison acide hyaluronique, glycosaminoglycanes polysulfatés et glucocorticoïdes	110
1. Acétate de méthylprednisolone et acide hyaluronique	110
2. Acétate de triamcinolone, acide hyaluronique et glycosaminoglycanes polysulfatés	111
E. Conclusion.....	112
1. Les anti-inflammatoires	112
1.1 Les corticoïdes en injection intra-articulaire.....	112
i. Effets néfastes sur le cartilage ?	112
ii. Induction de fourbure ?	113
iii. Temps de dopage	114
1.2 Les AINS	116
i. Efficacités comparée des AINS ?.....	116
ii. Toxicité rénale et gastrique	116
iii. Effet sur le cartilage	116
iv. Temps de dopage.....	116
2. L'acide hyaluronique et les glycosaminoglycanes polysulfatés	117
3. Les compléments alimentaires anti-arthrosiques : la glucosamine et la chondroïtine sulfate	117
III. ACTUALITES DANS LE TRAITEMENT CONTRE L'ARTHROSE	119
A. L'inhibition des métalloprotéinases	119
B. L'inhibition de l'IL-1 : apparition de l'IRAP.....	120
C. Les cellules souches	122
D. Le RGTA.....	124

3^e partie : UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LE TRAITEMENT DE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL : LE PLASMA ENRICHI EN PLAQUETTES . 125

I. DESCRIPTION DU PLASMA ENRICHI EN PLAQUETTES	127
A. Définition	127
B. Obtention du plasma enrichi en plaquettes	129
1. Généralités	129
2. Rôle des leucocytes.....	133
3. Importance de l'absence de globules rouges	134
4. Rôle de la fibrine	135
5. Rôle de l'IGF-1	135
C. Fonctionnement du plasma enrichi en plaquettes.....	136
1. Activation des plaquettes.....	136
2. Formes disponibles de plasma enrichi en plaquettes.....	136
3. Mécanisme d'action.....	136
II. QUELS RESULTATS ?	138
A. Dans la littérature	138
1. Les débuts du plasma enrichi en plaquettes.....	138
2. Des résultats controversés.....	138
3. Le plasma enrichi en plaquettes pour le traitement des plaies chez le cheval	139
4. Le plasma enrichi en plaquettes utilisé actuellement pour le traitement des tendinites chez le cheval	140
5. Le plasma enrichi en plaquettes utilisé en orthopédie ?	142
5.1. Effet du plasma enrichi en plaquettes sur le cartilage.....	142
5.2. Étude chez les hommes	142

5.3. Étude chez les chevaux	143
5.4. Des résultats controversés ?	144

B. Étude sur 20 cas d'arthrose réfractaire du boulet traités à l'aide d'une solution autologue de plasma enrichi en plaquettes 145

1. Matériels et méthodes	147
1.1 Préparation du plasma enrichi en plaquettes.....	147
1.2 Plan thérapeutique.....	148
1.3 Analyse de la qualité du plasma concentré en plaquettes	148
1.4 Analyses statistiques	149
1.5 Sélection des cas	150
2. Résultats.....	152
2.1 Injection de plasma enrichi en plaquettes et amélioration de la qualité du liquide synovial	152
2.2 Résultats cliniques	153
3. Discussion.....	154
4. Conclusion	156
5. Poster présenté lors de la 40 ^e Journée de la Recherche Équine.....	156

CONCLUSION 159

ANNEXES 161

BIBLIOGRAPHIE 175

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 - Coupe d'une diarthrose	8
Figure 2 - Cartilage articulaire chez un adulte	12
Figure 3 - Structure de la matrice cartilagineuse	14
Figure 4 - Dessin représentant les déviations du genou.....	34
Figure 5 - Dessin représentant des déviations rotatoires du doigt ou du genou.....	34
Figure 6 - Dessins représentant des déviations du genou.....	36
Figure 7 - Dessins représentant des aplombs du doigt	36
Figure 8 - Dessins représentant des anomalies d'aplombs du doigt.....	36
Figure 9 - Evolution de l'arthrose.....	57
Figure 10 - Bilan	64
Figure 11 - Schéma représentant l'inhibition de la cascade inflammatoire par les AINS et les corticostéroïdes	74
Figure 12 - Répartition des différentes couches obtenues après centrifugation	127
Figure 13 - Protocole de séparation manuelle pour l'obtention de PRP par double centrifugation ..	128
Figure 14 - Protocole de séparation par simple et double centrifugation	130
Figure 15 – Préparation du concentré plaquettaire	147
Figure 16 - Protocole de rééducation selon les moments des injections intra-articulaire.....	148
Figure 17 - Analyse du concentré plaquettaire	152
Figure 18 - Concentration en PDGF-BB dans le PPP et le PC	152
Figure 19 - Concentration d'IL-1 β dans le liquide synovial durant le protocole : avant la 1 ^{re} , la 2 ^e et la 3 ^e injection de PC	153
Figure 20 - Suivi de la boiterie par le propriétaire selon l'index WOMAC modifié (A) et par le clinicien (B)	153
Figure 21 - Suivi de l'activité du cheval à un an après la dernière injection de concentré plaquettaire du genou.....	154
Figure 22 - « Plasma enrichi en plaquettes comme traitement contre l'arthrose chez le cheval de sport », poster présenté lors de la 40 ^e journée de la recherche équine, le 18 mars 2014 à Paris	157

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 – MMPs impliquées dans la dégradation de la matrice du cartilage.....	20
Tableau 2 – Classification générale des cytokines et leurs actions dans le métabolisme du cartilage	22
Tableau 3 – Différences entre cartilage vieillissant et cartilage arthrosique	28
Tableau 4 – Les cytokines cataboliques impliquées dans l'OA humaine et équine.....	44
Tableau 5 – Enzymes associées dans la dégradation de la MEC dans l'OA.....	47
Tableau 6 – Facteurs de croissance et cytokines anti-inflammatoire intervenant dans l'OA chez les humains et chez les chevaux.....	53
Tableau 7 – Classifications d'Outerbridge et de Beguin et Locker.....	57
Tableau 8 – Corticostéroïdes communément utilisés par voie intra-articulaire.....	72
Tableau 9 – Corticostéroïdes communément utilisés en France par voie intra-articulaire.....	72
Tableau 10 – AINS communément utilisés en France, liste non exhaustive	87
Tableau 11 – Hyaluronates de sodium communément utilisés en France ayant une AMM cheval, liste non exhaustive	100
Tableau 12 – Glucosamines et chondroïtines de sulfate communément utilisés en France ayant une AMM cheval, liste non exhaustive	109
Tableau 13 – Liste FEI des temps de détection des substances utilisées chez les chevaux, d'après la FEI CleanSport et l'EHSCL (European Horserace Scientific Liaison Committee).....	115
Tableau 14 – Résumé des effets des facteurs de croissances sur les chondrocytes, le cartilage, le synovium et les cellules souches mésenchymateuses in vitro et in vivo.....	126
Tableau 15 – Méthodes de fabrication du PRP.....	132
Tableau 16 – Tableau permettant d'obtenir l'indice WOMAC modifié.....	149
Tableau 17 – Cas sélectionnés et analyses biostatistiques.....	151

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADAMT : A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombo Spondin-like Motifs

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

AIS : Anti-Inflammatoire Stéroïdien

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

AMP : Acétate de Méthylprednisolone

AOCJ : Affection ostéocondrale juvénile

BC : Buffy coat

bFGF : Basic Fibroblast Growth Factor

BMPs : Bone Morphogenetic Proteins

CDMP : Cartilage-derived Morphogenetic Proteins

CMP : Cartilage Matric Protein

COMP : Cartilage Oligomeric Matrix Protein

COX : Cyclo-oxygénase

CS : Chondroïtine-sulfate

DS : Dermatane-sulfate

GAG : Glycosaminoglycane

GAGP : Glycosaminoglycane polysulfaté

GC : Glucocorticoïdes

GS : Glucosamine

HA : Acide hyaluronique

IGF : Insulin Growth Factor

IL : Interleukine

IL-1ra : Interleukin-1 Receptor Antagonist

iNOs : inducible nitric oxide synthetase

iNOS : Inductible Nitric Oxide Synthase

IA : Intra-articulaire

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineux

IRAP : *Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein*

KS : Kératane-sulfate

LB : Lymphocyte B

L-PRF : Leucocyte- and Platelet-Rich Fibrin

L-PRP : Leucocyte- and Platelet-Rich Plasma

LT : Lymphocyte T

LTB4 : Leukotriene B4

MAC : *Membrane Attack Complex*, ou complexe d'attaque membranaire

MEC : Matrice Extracellulaire

MGP : Matrix γ -carboxyglutamic Acid Protein

MMP : Métalloprotéinase

NF- $\kappa\beta$: Nuclear Factor $\kappa\beta$

NO : Monoxyde d'azote

OA : Ostéoarthrose

OCD : Ostéochondrose disséquante

PBZ : Phénylbutazone

PC : Platelet Concentrates

PDGF-BB : Platelet-Derived Growth Factor isoform BB

PG : Protéoglycane

PGE2 : Prostaglandine E2

PO : *Per os*

PRP : Platelet-Rich Plasma ou Plasma Riche en Plaquettes

P-PRF : Pure- and Platelet-Rich Fibrin

P-PRP : Pure Platelet-Rich Plasma

SAPLs : Surface Active Phospholipids

TGF : Transforming Growth Factor

TIMP : Tissue Inhibitors of Metalloproteases

TNF : Tumor Necrosis Factor

INTRODUCTION

L'arthrose est un sujet d'actualité, aussi bien en médecine humaine qu'en médecine équine : un des challenges du XXI^e siècle en médecine humaine et vétérinaire est de trouver un traitement capable de guérir un patient souffrant d'arthrose. En effet, l'arthrose est une maladie dégénérative, causée par un phénomène initiant un cercle vicieux auto-aggravant. L'arthrose est l'une des causes les plus fréquentes des maladies de l'appareil musculo-squelettique chez le cheval, causant ainsi douleur et diminution du confort de vie, mais également une diminution des performances, voire un arrêt de sa carrière sportive.

Il n'est pas possible à l'heure actuelle de guérir un patient souffrant d'arthrose *stricto sensu* : les thérapeutiques actuelles visent à casser ce cercle vicieux auto-aggravant, mais la régénération du cartilage déjà atteint ne peut être encore obtenue. Un autre problème a émergé concernant cette maladie dégénérative. S'agissant d'une affection chronique, certains patients se sont vus réfractaires aux traitements habituellement utilisés : les thérapies proposées n'arrivent plus dans certains cas à endiguer le phénomène dégénératif.

Face à ces constats, de nouvelles thérapies ont donc été proposées dont le but est de limiter la douleur, mais aussi la dégénérescence du tissu cartilagineux.

Le but de ce travail est de présenter un aperçu des connaissances actuelles concernant l'arthrose ainsi que les outils disponibles pour les praticiens vétérinaires, mais aussi leurs limites dans la gestion de l'arthrose chez le cheval, ainsi que la présentation d'une nouvelle approche thérapeutique. Sera donc présentée dans ce travail, une synthèse de la physiopathologie de l'arthrose, outil indispensable dans la compréhension des effets des traitements actuels et des perspectives. Dans une deuxième partie seront abordés les traitements disponibles à l'heure actuelle dans la lutte contre l'arthrose. La dernière partie sera accentuée sur une nouvelle thérapie : le plasma enrichi en plaquettes comme nouvelle approche de traitement contre l'arthrose. Cette dernière partie sera enrichie d'une étude rétrospective chez 20 chevaux, montrant que le plasma enrichi en plaquettes peut être une alternative aux traitements actuels utilisés contre l'arthrose.

1^{re} partie : DE L'ARTICULATION SAINES A L'ARTICULATION ATTEINTE : IMPORTANCE DE LA COMPRÉHENSION DE LA PHYSIOPATHOLOGIE POUR LA MISE EN PLACE D'UN TRAITEMENT

I. ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE D'UNE ARTICULATION SAINES

Les articulations sont le plus souvent classifiées selon le type de mouvement qu'elles permettent (Baxter 2011) : les synarthroses (ou articulations fibreuses) sont les articulations ne permettant aucun mouvement (l'articulation entre le radius et l'ulna en est un bon exemple), les amphiarthroses sont des articulations semi-mobiles, elles sont également appelées articulations cartilagineuses, car les surfaces osseuses sont réunies par du cartilage (c'est l'exemple de la colonne vertébrale). Et enfin, les diarthroses, ou encore appelées articulations synoviales, sont des articulations mobiles (par exemple l'articulation métacarpophalangienne).

L'articulation synoviale a deux principales fonctions : la première étant de permettre le mouvement, et la deuxième fonction étant la transmission de la charge. Cette articulation synoviale est revêtue au sein d'une capsule fibreuse.

Étant donné que ces diarthroses constituent la majorité des cas d'arthroses chez le cheval, nous allons développer dans cette partie l'anatomie et la physiologie de ces diarthroses ; ces notions fondamentales étant indispensables à maîtriser pour la compréhension des différents traitements proposés lors d'ostéoarthrose (OA).

A. Structure de l'articulation synoviale saine

Les diarthroses sont représentées par une surface articulaire recouverte par un cartilage articulaire; le tout étant consolidé par une capsule fibreuse et par des ligaments. Une membrane synoviale délimitant une cavité contenant le liquide synovial est accolée à la capsule fibreuse ; le tout formant la capsule articulaire (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010) (Figure 1, p8).

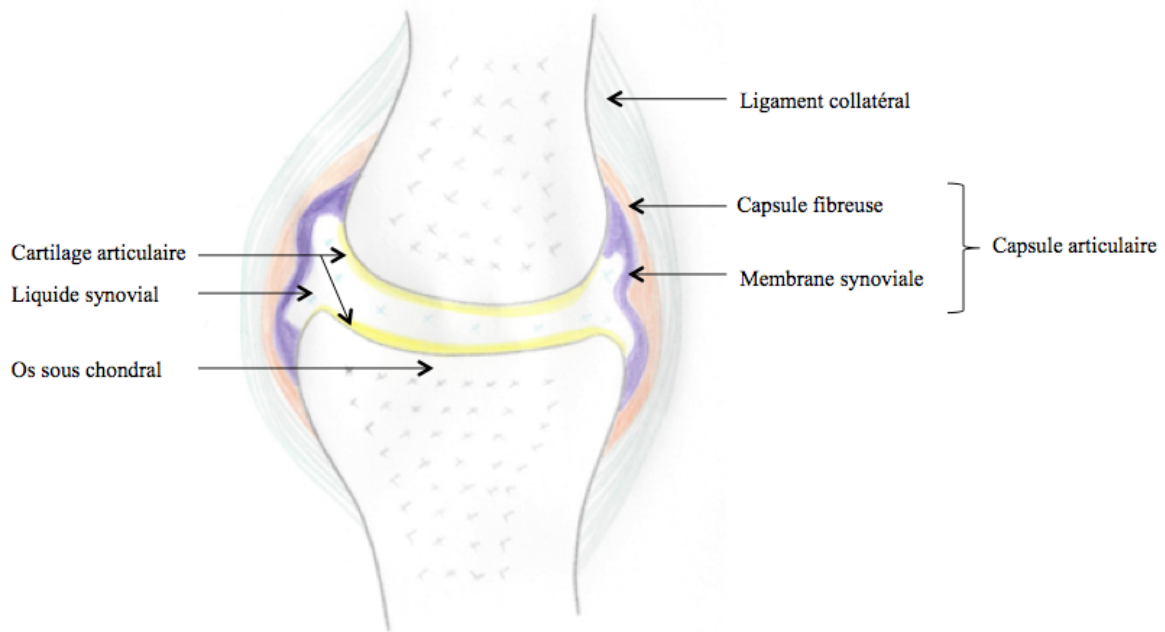


Figure 1 - Coupe d'une diarthrose d'après Baxter, 2011

Une diarthrose est composée d'une surface articulaire recouverte par un cartilage articulaire. Une capsule articulaire, une capsule fibreuse et des ligaments permettent de consolider le tout.

La capsule articulaire est composée de deux structures : la membrane synoviale et la capsule fibreuse. La capsule fibreuse entoure l'articulation et est en continuité avec le périoste, le périchondre (tissu conjonctif dense recouvrant la surface du cartilage) et l'os. La partie fibreuse de cette capsule articulaire est composée principalement de collagène de type I. Cette capsule articulaire est vascularisée et contient des fibres sensibles afférentes. La membrane synoviale tapisse la capsule fibreuse et couvre les surfaces non articulaires des os, ainsi que toutes les structures intra-articulaires (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

La stabilité de l'articulation est assurée par la capsule articulaire et par les ligaments, mais également par les structures musculo-tendineuses qui contrôlent l'articulation.

1. Membrane synoviale et liquide synovial

1.1. Membrane synoviale ou synovium

La membrane synoviale (ou synovium) peut être soit lisse et légèrement brillante dans certaines régions de l'articulation, soit formée de nombreuses villosités dans d'autres régions.

Sur le plan histologique, la membrane synoviale est un tissu mésenchymateux modifié et se compose de deux couches: l'intima, un revêtement cellulaire incomplet ; et la couche subsynoviale, ou subintima, une couche plus profonde du tissu conjonctif. L'intima se trouve à côté de la cavité articulaire et recouvre la subintima. De nombreux vaisseaux sanguins sont présents.

Les cellules synoviales de l'intima, nommées synoviocytes, forment une couche incomplète d'une épaisseur d'une à quatre cellules. Par ailleurs, il n'y a pas de membrane basale à la base de cette épaisseur de cellule. Ces synoviocytes sont classés en deux groupes : synoviocytes de type A et synoviocytes de type B. Les synoviocytes de type A sont des phagocytes et les synoviocytes de type B ressemblent à des fibroblastes et sécrètent le liquide synovial. Ce liquide synovial est visqueux et permet la lubrification de l'articulation (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

Les trois principales fonctions de la membrane synoviale sont : la phagocytose, la régulation de l'acide hyaluronique et des protéines présents dans le liquide synovial, et la régénération.

Une activité excessive de phagocytose ou une désunion de la membrane synoviale est à l'origine d'une libération d'enzymes dans l'environnement (caractéristique typique d'une synovite). La membrane synoviale agit donc comme une barrière à perméabilité importante, ce qui contrôle la composition du liquide synovial. La plupart des petites molécules traversent la membrane synoviale par un processus de diffusion libre, mouvement limité par les espaces intercellulaires de la membrane synoviale. Lors d'épanchements traumatiques, les changements de la teneur et de la composition des protéines ont été associés à une augmentation de la perméabilité vasculaire, mais aussi à une augmentation de la synthèse des protéines par les synoviocytes (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

1.2. Liquide synovial

Le liquide synovial est composé principalement d'eau (environ 85%), de nutriments, de protéines, d'acide hyaluronique (HA pour *hyaluronic acid*) et de lipides.

Les protéines sont en quantité importante au sein du liquide synovial (Garcia 2013), l'albumine étant la protéine la plus représentée. Parmi les protéines, la lubricine joue un rôle fondamental dans la lubrification des surfaces articulaires ; elle est synthétisée par les chondrocytes de la couche superficielle du cartilage et par les cellules des ménisques dans une

moindre mesure. L'acide hyaluronique est synthétisé par les synoviocytes de type B et par les chondrocytes. Les bicouches des lipides sont autoassemblées ; ces lipides sont appelés *Surface Active PhosphoLipids* (SAPLs), et sont sécrétés par les synoviocytes.

Sont retrouvées par ailleurs au sein de ce liquide synovial des cytokines comme le TGF- β , l'IGF-1, le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6 ¹ (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

2. Cartilage articulaire

Le cartilage articulaire normal apparaît laiteux et opaque dans les régions les plus épaisses et translucide avec une légère teinte bleuâtre dans les régions plus minces. La surface n'est pas lisse. Le cartilage articulaire est un tissu conjonctif spécialisé, avasculaire et sans connexion neuronale.

Le rôle du cartilage articulaire est multiple : matériel de support de charge en absorbant les chocs et capacité à supporter les forces de cisaillement. Les propriétés uniques de ce tissu sont liées à la composition et à la structure de la matrice extracellulaire (MEC), composée principalement d'une forte concentration de protéoglycanes (aggrécane) enchevêtrés dans un réseau dense de fibres de collagène, au sein d'une grande quantité d'eau. Ce tissu permet le mouvement sans frottement de l'articulation, dans lequel il absorbe et dissipe la charge.

Le cartilage articulaire est composé de chondrocytes, qui sont responsables de la synthèse et du maintien de la MEC (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

2.1. *Organisation du cartilage articulaire*

Le cartilage articulaire des articulations est généralement de type hyalin, mais du fibrocartilage est également présent à la jonction du cartilage articulaire, de la membrane synoviale, du périoste, et des ménisques (Poole et al. 2001).

Sur le plan histologique, le cartilage articulaire adulte est divisé en quatre couches, les chondrocytes ayant des apparences différentes au sein de ces différentes couches (Figure 2, p12).

¹ TGF- β : Transforming Growth Factor β , IGF-1 : Insulin Like Growth Factor 1, TNF α : Tumor Necrosis Factor α , IL : Interleukine

La matrice du cartilage est constituée de macromolécules, dont les principaux représentants sont le collagène et les protéoglycanes. Ces composants sont très ordonnés, que ce soit à la surface du cartilage ou dans les couches les plus profondes.

Comme énoncé auparavant, le cartilage est divisé en quatre couches (Martel-Pelletier et al. 2008) : la couche superficielle, la couche transitionnelle ou moyenne, la couche profonde ou radiale et la couche de cartilage calcifié (Figure 2, p12); chaque couche ayant une fonction particulière.

- La couche superficielle, zone la plus fine, est composée de fines fibres de collagène ayant une orientation tangentielle, avec peu de protéoglycanes. Les chondrocytes sont alignés parallèlement à la surface dans cette couche superficielle. Il s'agit de la zone de contact avec le liquide synovial. Cette zone est majoritairement responsable des propriétés de tension du cartilage ; permettant ainsi au cartilage de résister à la tension, à la compression et aux forces de cisaillement présentes lors de la mise en mouvement de l'articulation.
- La couche transitionnelle – ou zone du milieu – représente 40 à 60% du poids du cartilage. Cette zone est composée d'épaisses fibres de collagène orientées en faisceaux radiaux, associées à des protéoglycanes. Les chondrocytes présents dans cette couche sont de faible densité et de forme ronde.
- La couche profonde – ou couche radiale – présente les mêmes caractéristiques que la couche transitionnelle : chondrocytes ronds et alignés perpendiculairement à la surface articulaire, faible densité, large fibre de collagène disposées radialement. Cependant, c'est dans cette couche profonde que les aggrécanes sont les plus présents.
- La couche la plus profonde, la couche calcifiée est elle-même divisée en plusieurs couches, et séparée physiquement et mécaniquement de l'os sous chondral par le cartilage hyalin. Les chondrocytes de cette couche sont hypertrophiés, alors que les autres types cellulaires sont rares au sein de cette zone. Le rôle principal de cette couche est l'ancrage des fibres de collagène de la couche profonde vers l'os. Cette couche est séparée de l'os sous chondral par une zone de démarcation (encore appelée *tide-mark*).

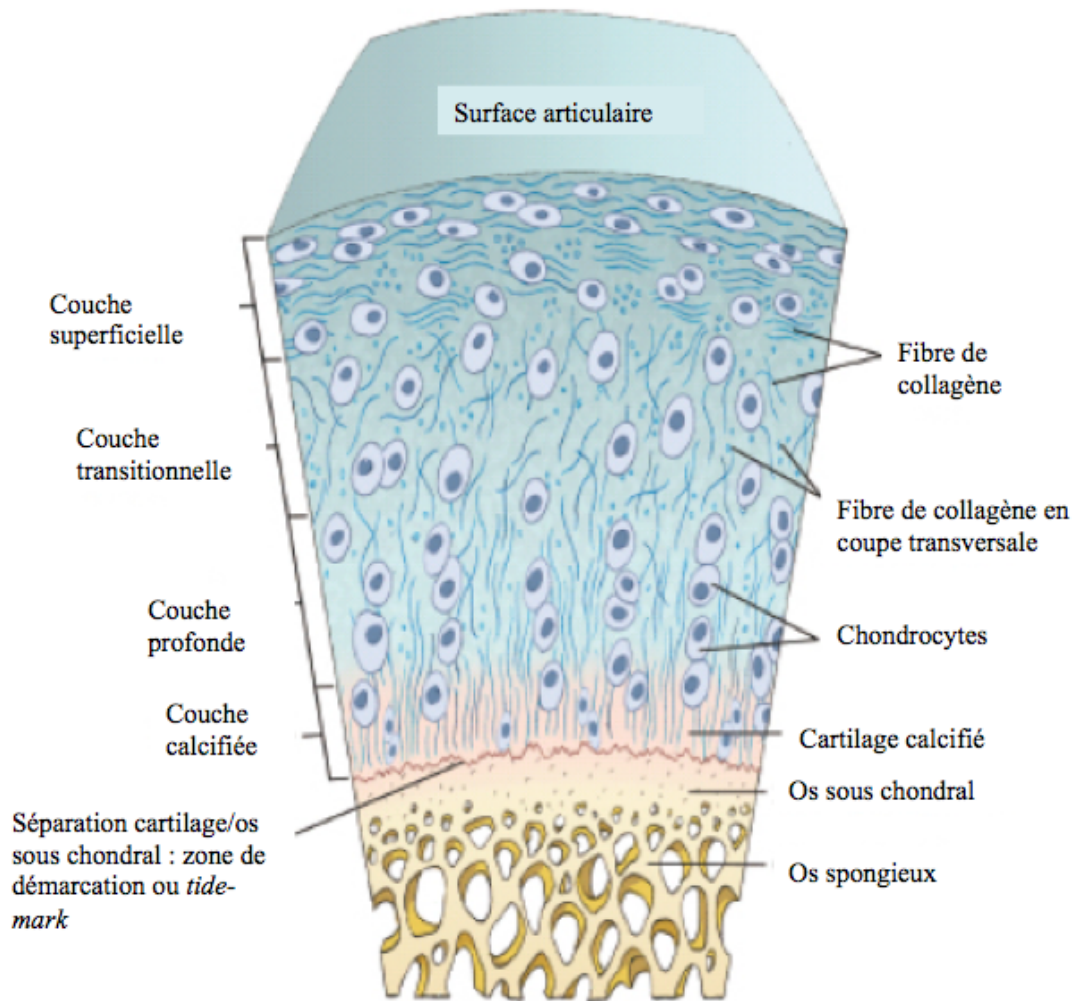


Figure 2 – Cartilage articulaire chez un adulte d’après Baxter, 2011

Le cartilage articulaire est divisé en quatre couches : la couche superficielle composée de fines fibres de collagène et de protéoglycanes en faible nombre, il s’agit de la zone permettant la résistance à la tension, la compression et aux forces de cisaillement ; la couche transitionnelle, couche représentant 40 à 60% du poids du cartilage, composée d’épaisses fibres de collagène associées à des protéoglycanes ; la couche profonde présentant les mêmes caractéristiques que la couche transitionnelle, mais présentant une quantité d’aggrécane plus importante ; et enfin la couche calcifiée, couche la plus profonde dont le rôle est l’ancrage des fibres de collagène au sein de l’os.

2.2. Matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire (MEC) est principalement composée de collagène et de protéoglycanes (Figure 3, p14); le tout étant entouré d’un gel amorphe hydrophile. L’eau est le constituant principal de la matrice, représentant jusqu’à 70% du poids total du cartilage chez l’adulte et 80% chez le poulain (Baxter 2011).

i. Collagène

Comme nous l’avons dit plus haut, le collagène est le principal constituant du cartilage articulaire : il représente environ 50 à 60% du poids sec du cartilage.

Les fibres de collagène forment un réseau à l'origine de la forme du tissu. Le diamètre des fibres varie de 20nm au niveau de la zone superficielle jusqu'à 70-120nm pour la zone profonde. Le principal type de collagène présent dans le tissu articulaire est le collagène de type II (jusqu'à 90-98% du collagène total (Martel-Pelletier et al. 2008)), synthétisé par les chondrocytes. Une petite quantité de collagène de type VI, IX, XI, XII et XIV qui donne de la stabilité au réseau de fibre de collagène de type II est également présente (Baxter 2011).

La propriété principale de ce collagène de type II est sa résistance à la tension et à l'étirement. Cette propriété est permise principalement par la couche superficielle où les fibres de collagène sont orientées parallèlement à la surface du cartilage. Dans la couche intermédiaire du cartilage, les fibrilles de collagène sont disposées de façon aléatoire et deviennent disposées radialement dans la couche profonde. La résistance à la traction n'est donc pas optimale dans les couches plus profondes, c'est pourquoi lorsqu'une érosion superficielle se produit, le collagène de ces couches plus profondes est plus vulnérable à la rupture.

Les fibres de collagène sont également disposées de manière concentrique autour des chondrocytes pour former une capsule, appelée chondrone. Un chondrone représente l'unité structurale, fonctionnelle et métabolique des cartilages hyalins. Chaque chondrone contient un ou plusieurs chondrocytes, et est entouré par capsule péricellulaire de collagène, elle-même entourée par une matrice riche en protéoglycanes. Le collagène de type VI, la fibronectine et la thrombospondine sont présents dans cette capsule et aident à ancrer les chondrocytes au sein du chondrone et à attacher le chondrone au sein de la matrice extracellulaire (Baxter 2011).

ii. Protéoglycanes

Les protéoglycanes représentent le deuxième constituant principal du cartilage articulaire (environ 5 à 10% du poids total du tissu (Martel-Pelletier et al. 2008)). Ils occupent les espaces entre les fibres de collagène.

L'unité de base des protéoglycanes est l'aggrécane, contenant une structure protéique (*core protein*) sur laquelle sont fixées des glycosaminoglycanes (GAG) riches en eau et en soufre : les chondroïtine-6-sulfates (CS) et les kératane-sulfate (KS). La chondroïtine-4-sulfate est un constituant important de cartilage articulaire immature, mais sa présence diminue jusqu'à un faible pourcentage lors de la maturité du cartilage. Les GAG sont constitués d'unités de disaccharides, et sont importants en raison de leur nature polyanionique (radicaux carboxyle

pour les CS et les radicaux sulfate pour les CS et les KS). Les charges de deux chaînes de GAG polyanioniques se repoussent mutuellement et attirent ainsi une couche d'hydratation. Ces propriétés fournissent au cartilage articulaire une raideur physico-chimique et permettent la perméabilité du cartilage (Baxter 2011).

La protéine de l'aggrécane comprend trois domaines globulaires, G1 et G2 au niveau de l'extrémité amino-terminale, et G3 au niveau de l'extrémité carboxy-terminale. Entre G2 et G3 réside une zone d'attachement de multiples chaînes de KS et de CS. L'interaction entre l'aggrécane et l'acide hyaluronique est stabilisée par une protéine de liaison (Baxter 2011).

Les polymères d'aggrécane sont donc responsables de la teneur importante en eau du cartilage et donnent au cartilage sa résistance à la compression. L'enchevêtrement des protéoglycanes par le quadrillage de collagène et les interactions spécifiques entre les deux composants sont nécessaires afin que les protéoglycanes puissent fonctionner.

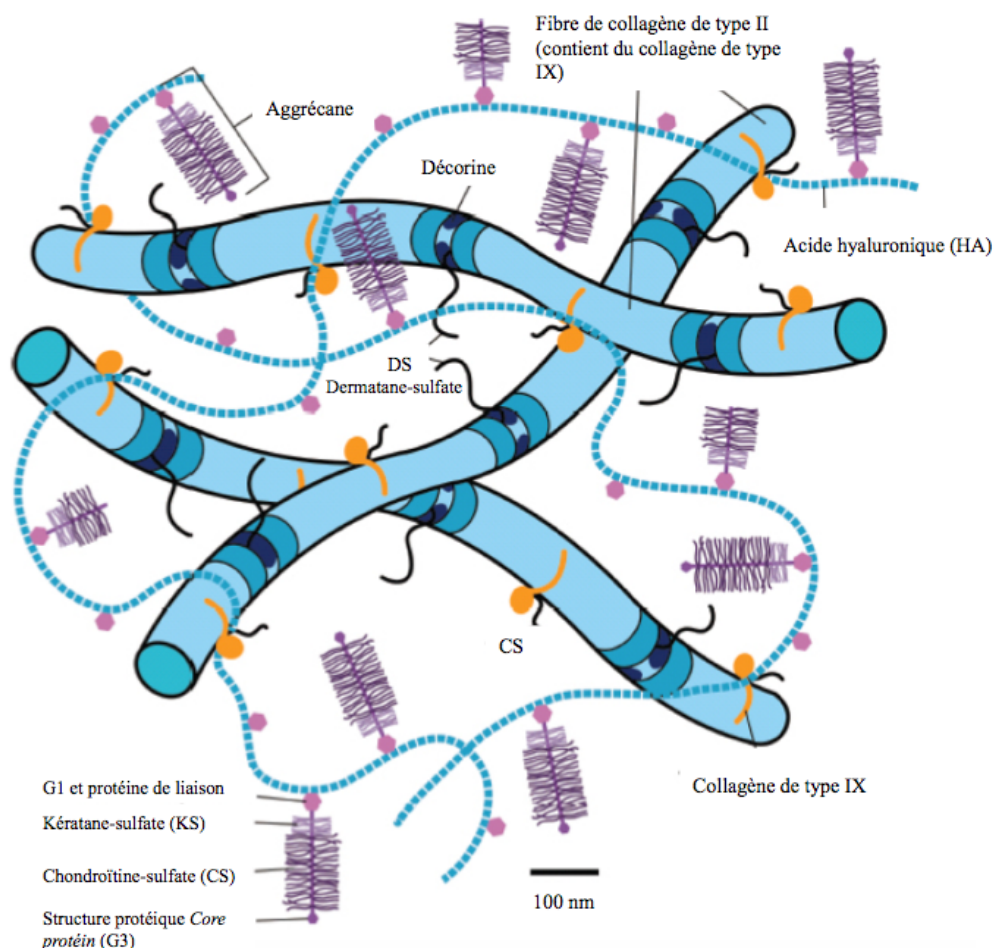


Figure 3 – Structure de la matrice cartilagineuse d'après Baxter, 2011

La matrice extracellulaire est principalement composée d'un réseau de fibres de collagène (principalement de type II) et de protéoglycanes. L'unité de base des protéoglycanes est l'aggrécane. L'aggrécane est un assemblage contenant une structure protéique (encore appelée *core protein*) sur laquelle sont fixés des glycosaminoglycanes (GAG) : des chondroïtine-sulfates (CS) et des kératane-sulfate (KS). L'interaction entre aggrécane et acide hyaluronique est stabilisée par une protéine de liaison.

iii. L'eau et les sels inorganiques

Le collagène, les protéoglycanes et les autres protéines ou glycoprotéines ne représentent que 20% du tissu, le reste étant composé d'eau et de sels inorganiques. L'eau contenue dans le cartilage joue un rôle majeur pour le maintien de la résistance du tissu, mais également pour la nutrition et la lubrification du cartilage articulaire.

Au sein du cartilage, l'eau n'est pas distribuée de manière uniforme : 80% de la concentration est retrouvée en contact avec la surface du cartilage. Cette concentration diminue au fur et à mesure que l'on descend dans les différentes couches pour atteindre une concentration de 65% au sein de la couche profonde ou radiale. (Martel-Pelletier et al. 2008). La majorité de l'eau est située dans le secteur extracellulaire. Les sels inorganiques comme le sel, le calcium ou encore le chlorure de potassium sont dissous dans l'eau. La diffusion de l'eau au sein du cartilage aide au mouvement des nutriments venant du liquide synovial à travers le tissu articulaire ; contribuant ainsi à la nutrition des chondrocytes.

iv. Autres constituants de la matrice

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane non sulfaté caractérisé par sa longueur. Il est composé d'acide glucuronique et d'acétylglucosamine ; il s'agit donc d'un disaccharide. Il est synthétisé à la fois par les chondrocytes et par les synoviocytes au sein de l'articulation ; il est donc possible d'en retrouver dans le liquide synovial. Au sein du cartilage, l'acide hyaluronique est polymérisé en macromolécule. Sous cette forme polymérisée, on lui consacre le nom de « hyaluronane ».

La teneur en hyaluronane augmente dans l'articulation avec l'âge, mais la taille du polymère diminue. L'augmentation de la concentration serait le reflet d'une dégradation partielle des agrégats de protéoglycanes, et la diminution de la taille du polymère serait la conséquence de la dégradation. Cette dégradation pourrait avoir un effet défavorable sur le métabolisme des cellules, intervenant ainsi comme médiateur du catabolisme (Martel-Pelletier et al. 2008).

Comme nous l'avons vu précédemment, le hyaluronane est à l'interface entre les fibres de collagène et les agrécans via les protéines de liaison (Figure 3, p14). Le hyaluronane peut également se lier aux chondrocytes via des récepteurs CD44.

Un grand nombre de molécules permettant une interaction entre les cellules et la matrice ont été identifiées aujourd'hui.

- Ainsi peut être retrouvées physiologiquement dans le cartilage adulte des protéines de liaison (*link protein*) liant les aggrécans aux hyaluronanes via leurs zones globulaires (G1), des COMPs (*Cartilage Oligomeric Protein*), dont les fonctions sont encore mal connues, de la fibuline, protéine de jonction entre différents aggrécans, ou encore des MGPs (*Matrix γ -carboxyglutamic Acid Protein*), inhibant la calcification.
- D'autres molécules ne sont présentes qu'à un stade physiologique précis ou lors de phénomènes pathologiques. Les CMPs (*Cartilage Matrix Protein*) sont de puissantes molécules de liaison entre les chondrocytes et la matrice formant une trame filamenteuse dans la zone péricellulaire des chondrocytes. On n'en retrouve pas dans le cartilage articulaire en bonne santé, mais seulement dans le cartilage hypertrophique. La fibronectine pouvant relier la matrice à des récepteurs chondrocytaires n'est détectable que dans le cartilage articulaire en croissance, âgé ou encore pathologique. De même, des molécules chondrogéniques comme la tenascine ou la laminine ont été mises en évidence dans le cartilage articulaire lors de phénomènes pathologiques.

2.3. Les chondrocytes

Bien que les chondrocytes ne représentent qu'un petit volume au sein du cartilage, leur rôle n'en est pas moindre. Ils sont à l'origine de la synthèse de la MEC en étant l'acteur unique de la synthèse des collagènes et des protéoglycanes. Les chondrocytes sont également capables de synthétiser une grande variété d'enzymes protéolytiques intervenant dans la dégradation des macromolécules de la matrice. Le turn-over des différents composants de la matrice extracellulaire est variable. Au moins une partie du réservoir des protéoglycanes se renouvelle à un rythme relativement rapide, alors que le taux de renouvellement des collagènes est minime. Le métabolisme des chondrocytes est influencé par des mécanismes intrinsèques et extrinsèques comme nous le verrons ultérieurement. Ainsi, le maintien de la matrice du cartilage implique des processus de synthèse et de dégradation, la perte de cartilage dans le phénomène d'arthrose serait donc due à un déséquilibre en faveur de la dégradation de la matrice (Ross, Dyson 2010).

Il est important de souligner que le chondrocyte est non seulement capable de produire la MEC, mais également les enzymes capables de la dégrader : les protéases matricielles. En

effet, le chondrocyte est responsable en grande partie de l'homéostasie du cartilage qui est en renouvellement lent et le détruit autant qu'il le synthétise en condition normale.

B. Physiologie et métabolisme de l'articulation saine

1. Métabolisme du cartilage

1.1. Métabolisme des glycosaminoglycanes

Les glycosaminoglycanes (GAG) comprennent la chondroïtine-sulfate (CS), le dermatane-sulfate (DS), le kératane-sulfate (KS) et l'acide hyaluronique (HA). Pour rappel, les protéoglycanes sont la combinaison d'une protéine et d'un GAG ; l'aggrécane en est un exemple.

La biosynthèse des GAG s'effectue dans l'appareil de Golgi des chondrocytes où ils sont sulfatés. La synthèse de l'acide hyaluronique, GAG non lié à une protéine, s'effectue dans le réticulum endoplasmique et n'est donc pas sulfaté (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

Le turn-over des protéoglycanes est variable : il existe des groupes de protéoglycanes à turn-over rapide et d'autres à turn-over lent : chez un lapin âgé de 4 semaines, le turn-over moyen des protéoglycanes est de 16 jours avec des groupes dont la demi-vie est de 4 jours et d'autres protéoglycanes dont la demi-vie est de 50 jours. La durée globale du turn-over des protéoglycanes est de l'ordre de 300 jours pour le cartilage articulaire chez les lapins adultes et chez les chiens ; et de l'ordre de 1800 jours pour l'articulation de la hanche chez les humains (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996).

L'injection de 2mg de chymopapaïne (enzyme protéolytique entraînant l'hydrolyse des protéoglycanes) dans des genoux de lapin a causé la perte de plus de 50% des protéoglycanes du cartilage articulaire, et a entraîné à terme la dégénération de l'articulation. Par conséquent, cela semble montrer que la perte de protéoglycanes au sein du cartilage articulaire est irréversible et entraîne à terme la dégénération de l'articulation (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996).

1.2. Métabolisme des collagènes

La synthèse des chaînes de procollagène se fait d'abord dans le chondrocyte. Mais la formation définitive est achevée dans la matrice extracellulaire. La dégradation se fait d'abord sous l'action spécifique d'une collagénase. Les fragments obtenus suivent la voie de dégradation des protéines. Le renouvellement est extrêmement lent dans les conditions normales puisque le turn-over du collagène II serait de l'ordre de 350 ans chez les humains et de l'ordre de 120 ans chez les chiens (Baxter 2011).

1.3. Régulation

Longtemps considérés comme peu actifs, les chondrocytes sont en fait des cellules aux capacités métaboliques très riches qui se révèlent surtout dans des conditions pathologiques.

Deux causes ont été annoncées comme étant des facteurs accélérant le turn-over de la MEC : les charges dynamiques et l'intervention de cytokines telles que les interleukines (IL) et le *tumor necrosis factor* α (TNF α). Le TNF α et les IL sont capables de dégrader la matrice du cartilage, et ce processus de dégradation est contrebalancé par des enzymes anaboliques et des facteurs de croissance (Baxter 2011; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Poole et al. 2001; Ross, Dyson 2010).

Le métabolisme normal du chondrocyte résulte donc d'un équilibre entre trois types de cytokines :

- des facteurs de régulation: les interleukines IL-4, 10, 13, et les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases 1 et 2 : *tissue inhibitors of metalloproteinases* (TIMP 1 et TIMP 2)
- des facteurs cataboliques : les interleukines IL-1 β , IL-6, IL-17, et le TNF α
- des facteurs de croissance : *insulin growth factor 1* (IGF-1), *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor* β (TGF β), *bone morphogenetic protein* (BMP) et *cartilage derived morphogenetic protein* (CDMP).

Nous allons donc développer ici la régulation du turn-over de la MEC dans les cas physiologiques, le renouvellement de la matrice lors d'arthrose sera développé dans la suite (1^{re} partie, II).

i. Métalloprotéinases matricielles ou les MMPs (Matrix Metalloproteinase)

Cette famille est un groupe d'enzymes capables de digérer tous les principaux composants de la MEC à pH physiologique, il s'agit donc de protéases.

Les MMPs sont sécrétées sous une forme inactive ou latente. Elles nécessitent donc une activation par clivage protéolytique ; la latence de ces enzymes étant due à un résidu de cystéine qui se lie à un ion de zinc (Zn^{2+}) dans le site catalytique. Une variété d'enzymes comprenant la trypsine, la chymotrypsine, la plasmine, la kallikréine, la cathepsine B, et certaines MMPs elles-mêmes sont capables d'un tel clivage. Les MMPs sont synthétisées par les synoviocytes et les chondrocytes et sont présentes dans des concentrations plus élevées dans le cartilage malade. La distribution topographique et la concentration de MMPs dans le cartilage sont mises en corrélation avec la sévérité des lésions histologiques. Plusieurs types de MMPs sont exprimés par les tissus articulaires. Elles sont classées en collagénases, gélatinases, stromélysines, métalloprotéinases de type membranaire, et les « autres MMPs » (Ross, Dyson 2010) (Tableau 1, p20).

Protéinases	MMPs	Substrats du cartilage
<u>Collagénases</u>		
Collagénase interstitielle	MMP-1	Collagène II et X, collagène dénaturé de type II, aggrécane, protéine de liaison (<i>link protein</i>)
Collagénase neutrophile	MMP-8	Collagène II, aggrécane, protéine de liaison (<i>link protein</i>)
Collagénase 3	MMP-13	Collagène II, IV, IX et X, collagène dénaturé de type II, aggrécane, fibronectine Expression faible au sein de la membrane synoviale chez les chevaux
<u>Stromélysines</u>		
		Clivent le collagène partiellement dégradé, les protéoglycane, et d'autres protéines mineures de cartilage
Stromélysine 1	MMP-3	Aggrécane, fibronectine ; collagène dénaturé de type II ; collagène IV, IX, X, XI ; procollagène ; protéine de liaison (<i>link protein</i>) ; décorine ; élastine ; laminine
Stromélysine 2	MMP-10	
<u>Gélatinases</u>		
		Large éventail de substrats, y compris partiellement dégradé collagène de type II et types X et XI de collagène et d'élastine
Gélatinase A	MMP-2	Collagène dénaturé de type II, collagène X et XI, élastine
Gélatinase B	MMP-9	Aggrécane, fibronectine, collagènes IX et XI, procollagène, protéine de liaison (<i>link protein</i>), décorine, élastine
<u>MMPs membranaire</u>		
		Capable de digérer le collagène fibrillaire et un certain nombre d'autres composants de la matrice
MT1-MMP	MMP-14	Aggrécane, collagène II, collagène dénaturé de type II, fibronectine, laminine
<u>Autres MMPs</u>		
Matrilysine (PUMP : <i>putative metalloproteinase</i>)	MMP-7	Aggrécane
Stromélysine-3	MMP-11	Protéoglycane, collagène dénaturé de type II, fibronectine, laminine
Emastases élastase des macrophages	MMP-12	Elastine
Nouvelle MMP	MMP-19	Collagène dénaturé de type II, collagène IV, aggrécane, fibronectine, laminine

Tableau 1 - MMPs impliquées dans la dégradation de la matrice du cartilage (Ross, Dyson 2010)

Dans le cartilage sain, l'activité des enzymes protéolytiques est commandée par un certain nombre de mécanismes, dont l'un est d'origine endogène par des protéines inhibitrices. Les inhibiteurs les plus importants sont les TIMPs : les inhibiteurs tissulaires des MMPs ou encore appelés les *tissue inhibitors of metalloproteinases*. Synthétisés par les chondrocytes, les synoviocytes, et les cellules endothéliales, les TIMPs inactivent les MMPs en se liant à eux de façon non covalente avec l'enzyme sous sa forme active. Les TIMPs existent sous au moins quatre formes, les trois premières (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3) sont exprimées par les chondrocytes, chacune étant soumise à des mécanismes de régulation quelque peu différents (Ross, Dyson 2010).

Il a été montré qu'il existait un léger excès de ces TIMPs par rapport à la concentration des MMPs dans le cartilage articulaire sain. Le rôle important des TIMPs en matière de santé de la matrice du cartilage est soutenu par l'observation que les déséquilibres dans le rapport de synthèse de MMPs/TIMPs dans le cartilage sont des déterminants importants de la vitesse de dégradation de la matrice (Ross, Dyson 2010).

ii. Cytokines

Cytokine est un terme général pour décrire un large éventail de petites protéines régulatrices produites par une grande variété de cellules dans le corps.

Dans les articulations, ces médiateurs existent dans un équilibre complexe dont l'activité est régulée par le métabolisme de la membrane synoviale, des os et du cartilage articulaire dans une articulation saine ou malade.

De nombreuses cytokines sont impliquées dans le métabolisme articulaire (Tableau 2, p22): certaines sont dites pro-inflammatoires (ou cataboliques), d'autres modulateurs (ou de régulation), et les autres sont dites anaboliques. Les cytokines importantes dans l'ostéoarthrose sont les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-1 et TNF- α . Les récepteurs des chondrocytes pour l'IL-1 et le TNF- α sont régulés à la hausse dans le cartilage ostéoarthrosique, et l'activation de ces récepteurs a plusieurs effets délétères sur le métabolisme des chondrocytes, comme nous le verrons par la suite (Baxter 2011; Ross, Dyson 2010).

Catégories des cytokines	Exemples	Actions
Cytokines cataboliques ou pro-inflammatoires	IL-1 β , IL-6, IL-17 TNF α	Promeut la synthèse de MMPs Promeut la production d'oxyde nitrique et de prostaglandine PGE ₂ Inhibe la synthèse de collagène II et d'aggrécans
Cytokines modulateurs ou de régulation	IL-4, IL-10, IL-13 TIMP 1 et 2	Stimule la synthèse des TIMPs Promeut la synthèse d'IL-1ra Inhibe la synthèse d'IL-1
Cytokines anaboliques (facteurs de croissance)	IGF-1, TGF β , bFGF, FGF BMP, CDMP	Promeut la synthèse de collagène II Promeut la synthèse de protéoglycans

Tableau 2 - Classification générale des cytokines et leurs actions dans le métabolisme du cartilage (Ross, Dyson 2010)²

iii. Oxyde nitrique

L'oxyde nitrique (ou monoxyde d'azote, NO) est un autre médiateur important des événements physiopathologiques de l'arthrose (Baxter 2011). Il s'agit d'une molécule endogène libérée par les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules du foie et les neurones. C'est un sous-produit de l'oxydation de la L-arginine en citrulline, catalysé par un groupe d'enzymes appelé monoxyde d'azote synthétase (NOS). Il existe dans l'organisme trois formes de NOS : la forme inductible (iNOS), la forme neuronale et la forme endothéliale. Ces enzymes produisent de grandes quantités de médiateurs lorsque les cellules exprimant cette enzyme sont activées par d'autres médiateurs tels que les endotoxines et les cytokines pour l'iNOS (Ross, Dyson 2010).

Les premières données de l'implication du monoxyde d'azote dans les maladies rhumatismales ont été l'observation que le nitrite, un produit final stable de l'oxyde nitrique, se trouve en concentration élevée dans le liquide synovial et dans le sérum des personnes atteintes de polyarthrite rhumatoïde. Par la suite, il a été montré que le cartilage arthrosique produit spontanément de l'oxyde nitrique (Ross, Dyson 2010).

Le NO est un intermédiaire de l'inhibition de la synthèse des chondrocytes lors d'arthrose. La synthèse des protéoglycans et du collagène de type II est inhibée sous certaines conditions et conduit à la formation de NO. Ainsi, comme d'autres médiateurs de l'inflammation, l'iNOS

² IL : Interleukine, TNF α : Tumor Necrosis Factor α , TIMP : Tissue inhibitors of metalloproteinases, IGF-1 : Insulin Like Growth Factor 1, TGF β : Transforming Growth Factor β , bFGF : basic Fibroblastic Growth Factor, FGF : Fibroblast Growth Factor, BMP : Bone Morphogenetic protein, CDMP : Cartilage Derived Morphogenetic Protein, IL-1ra : Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein

est stimulée par l'IL-1 et le TNF- α . Par ailleurs, l'iNOS nécessite la protéine NF κ B (*Nuclear Factor κ B*) pour son expression. L'oxyde nitrique serait également un intermédiaire dans l'activation et l'augmentation de l'expression des MMPs, en réduisant naturellement la synthèse d'IL-1ra. Le monoxyde d'azote est rapporté comme étant un régulateur essentiel de l'apoptose des chondrocytes (Ross, Dyson 2010).

iv. Prostaglandines

Les prostaglandines sont présentes dans des concentrations élevées au sein d'articulations enflammées, et bien que les effets spécifiques des prostaglandines dans la pathogenèse de l'OA ne soient pas clairs, il est largement admis que la prostaglandine E₂ (PGE₂) contribue aux lésions d'OA (Ross, Dyson 2010).

Les PGE₂ provoquent une inflammation synoviale et peuvent contribuer à l'épuisement de la matrice du cartilage et à l'érosion du cartilage et des os. Certains indiquent que les prostaglandines peuvent effectivement moduler la libération de certaines MMPs, comme les collagénases et stromélysines (Ross, Dyson 2010). La présence de PGE₂ dans le liquide synovial des articulations enflammées a été démontrée chez le cheval. Les mesures de PGE₂ sont utilisées comme témoin d'une synovite. Les actions de la PGE₂ dans les articulations comprennent la vasodilatation, l'amplification de la perception de la douleur, l'épuisement des protéoglycanes du cartilage (à la fois par la dégradation et par l'inhibition de la synthèse), la déminéralisation osseuse, et la promotion de la sécrétion de l'activateur du plasminogène. Le PGE₂ est libéré à partir de chondrocytes sur la stimulation de ces cellules par l'IL-1 et le TNF α (Baxter 2011).

L'effet précis de cette régulation reste encore à éclaircir, bien qu'il ait été montré que, comme les corticostéroïdes, la prostaglandine E₂ semble inhiber la synthèse des TIMPs et des MMPs (Gomez et al. 2014; Nishitani et al. 2010).

2. Physiologie du cartilage

Les protéoglycanes confèrent au tissu cartilagineux une turgescence élastique et une grande résistance mécanique à la pression et à l'amortissement des chocs. Ils participent aussi à la transmission des signaux, à la différenciation et à la prolifération cellulaire.

2.1. Le mécanisme de nutrition du cartilage

Du fait de l'absence de vascularisation, le chondrocyte vit en hypoxie. Le cartilage ne peut être nourri que par l'apport de nutriments de faible poids moléculaire, venus du liquide synovial et qui diffusent au travers de la MEC, grâce aux propriétés viscoélastiques du tissu. L'apport de ces métabolites se fait grâce aux mouvements de l'eau entre le cartilage et la cavité synoviale, eux-mêmes induits par les pressions cycliques s'exerçant sur le tissu (Wang et al. 2013)

Lorsque le cartilage n'est pas sous pression, la perméabilité et les mouvements de l'eau sont relativement faibles. Sous l'effet d'une charge, les liaisons hydrogènes faibles sont rompues, l'eau est chassée dans les régions du cartilage hors charge et vers la cavité articulaire, entraînant avec elle les déchets métaboliques des chondrocytes à l'extérieur du tissu, notamment l'acide lactique. Le phénomène étant réversible, lorsque la charge cesse, un flux inverse se crée, flux allant de la cavité articulaire vers le cartilage, ramenant le cartilage à son hydratation basale, et amenant avec lui les nutriments nécessaires au fonctionnement cellulaire, en particulier le glucose. Un échange continu se fait donc entre les molécules d'eau fixées par les charges négatives des protéoglycanes et la phase libre circulant en dehors du champ d'attraction des protéoglycanes, ce qui contribue à la régénération du cartilage.

2.2. La pression hydrostatique régule la production de matrice par le chondrocyte

De nombreux faits militent en faveur du rôle majeur des forces de pression dans la vie du cartilage normal et dans la genèse de l'arthrose :

- Les lapins soumis à un exercice ont des chondrocytes plus gros que les lapins sédentaires (Paukkonen, Helminen 1987)
- L'immobilisation d'une articulation réduit la synthèse cartilagineuse de prostaglandines (Stoltz 2000)

- Les lésions de l'arthrose débutent dans les zones de charges maximales et une activité physique intense et prolongée favorise l'apparition d'arthrose (Rannou, Poiraudou, Revel 2001)

2.3. Mécanobiologie du cartilage

L'ensemble des composants du cartilage permet d'assurer le rôle d'amortissement :

- L'eau, composant majoritaire du cartilage, joue le rôle d'amortissement. Elle permet la déformation du cartilage en réponse aux charges mécaniques par ses mouvements de va et viens.
- Le collagène donne une force phénoménale de tension au cartilage. L'orientation parallèle de ses fibres permet la résistance aux forces de cisaillement pendant le mouvement.
- Les protéoglycanes sont responsables de la résistance à la compression du cartilage.
- La couche intermédiaire et la couche profonde du cartilage permettent de lutter contre les forces de compression.
- L'acide hyaluronique fournit les propriétés viscoélastiques nécessaires à la lubrification du cartilage

Le coefficient de friction (encore appelé coefficient de frottement) du cartilage est très faible. Les irrégularités de surface observées dès les stades précoces de dégénération du cartilage augmentent ce coefficient par trois, ce qui vient aggraver les lésions (ulcération et fissures) : un véritable cercle vicieux mécanique se met en place. Comme nous l'avons vu précédemment, la perméabilité du cartilage aux petites molécules du liquide synovial, notamment les cytokines, va également augmenter.

Le cartilage articulaire est une mince couche de tissu conjonctif spécialisé ayant des propriétés viscoélastiques uniques. Sa fonction principale est de fournir une surface lisse et lubrifiée pour faciliter la transmission des charges à l'os sous-chondral. Pour la compréhension du mécanisme du cartilage, il est plus facile de le considérer comme un milieu biphasique. Le cartilage articulaire est constitué de deux phases: une phase liquide et une phase solide. L'eau est le composant principal de la phase liquide, ce qui contribue à 80% du poids humide du tissu. Des ions inorganiques tels que le sodium, le calcium, le chlorure et le potassium sont également présents dans la phase liquide. La phase solide est caractérisée par la MEC qui est poreuse et perméable. La relation entre les agrégats de protéoglycanes et

liquide interstitiel fournit une résistance à la compression au cartilage par des forces négatives de répulsion électrostatique (Sophia Fox, Bedi, Rodeo 2009).

L'application initiale et rapide des forces de contact articulaires lors d'une charge entraîne une augmentation immédiate de la pression du liquide interstitiel. Cette augmentation locale de pression provoque la sortie du liquide interstitiel hors de la MEC et ainsi la génération d'une grande résistance de frottement sur la matrice. Lorsque la charge de compression est enlevée, le liquide interstitiel retourne dans le tissu. La faible perméabilité du cartilage articulaire empêche le fluide d'être rapidement chassé hors de la matrice. Ces limites permettraient de limiter la déformation mécanique (Sophia Fox, Bedi, Rodeo 2009).

Les protéoglycanes, chargées négativement, vont entraîner un appel d'eau, à l'origine de l'hyperhydratation du cartilage. Le cartilage va ainsi jouer son rôle d'interface articulaire en résistant aux pressions et en amortissant les chocs.

2.4. Effet de l'âge sur le cartilage et comparaison au cartilage arthrosique

L'âge détermine la composition de la MEC ainsi que l'organisation des chondrocytes et leur réponse aux facteurs extérieurs tels que des cytokines. Avec l'âge, il existe des changements dans la distribution des chondrocytes; toutefois, le nombre total de chondrocytes reste inchangé. Les chondrocytes commencent à se faire plus rares dans la zone superficielle, tandis que les couches plus profondes ont un nombre accru de chondrocytes (Sophia Fox, Bedi, Rodeo 2009).

Avec l'âge est également observée une diminution de l'hydratation de la matrice, se traduisant par une augmentation de raideur lors de compression. Cela peut avoir des implications pour l'os sous-chondral, qui peut voir les forces augmentées alors que le cartilage perd sa capacité à subir une déformation réversible. Par ailleurs, la taille des agrégats de protéoglycanes dans la MEC diminue avec l'âge, soit à la suite d'une diminution des sites disponibles de liaison de la chaîne d'acide hyaluronique ou à la suite de dommages protéolytiques pour lier les protéines et leurs chaînes de glycosaminoglycane. La concentration de l'acide hyaluronique augmente avec l'âge, mais cela résulte de l'accumulation progressive de hyaluronane partiellement dégradée plutôt que la synthèse accrue (Sophia Fox, Bedi, Rodeo 2009). Il existe également un rapport modifié de kératine de sulfate et de chondroïtine de sulfate : par rapport au cartilage des jeunes, les aggrécans des hommes plus âgés ont une proportion plus élevée de kératane de sulfate et un pourcentage plus élevé de chondroïtine 6-sulfate par rapport à la

chondroïtine 4-sulfate (Hickery et al. 2003). Chez le nouveau-né, les sous-unités d'aggrécanes sont grandes et les protéines de liaison sont intactes, tandis que chez l'adulte, les sous-unités d'aggrécanes sont plus petites et les protéines de liaison se trouvent fragmentées (Bayliss et al. 1999; Roughley, White 1980).

Des altérations similaires de la taille des monomères d'aggrécanes ont également été rapportées avec l'âge chez les moutons. La fragmentation de la protéine de liaison a été aussi retrouvée dans le cartilage de lapins adultes, fragmentation non présente dans le cartilage des jeunes lapins. Certains de ces changements peuvent résulter d'une altération du métabolisme cellulaire, et d'autres peuvent être le résultat de la dégradation mécanique ou enzymatique de la matrice (Plaas, Sandy 1984).

Des données similaires ne semblent pas encore disponibles pour les chevaux.

Par ailleurs, le réseau de collagène présent à la surface articulaire a une orientation préférentielle, et peut être révélé par l'observation de lignes fendues (dénommées *split-lines* dans la littérature) à la surface du cartilage, qui varient typiquement d'une articulation à une autre (Bae et al. 2008). Comme vu précédemment la structure du réseau de collagène varie avec la profondeur : elle est essentiellement parallèle à la surface articulaire dans la zone superficielle, en tournant de manière oblique dans la zone médiane, et étant verticale à l'os dans la zone profonde, zone où a lieu l'ancrage des fibres de collagène dans le cartilage calcifié. L'intégrité de la traction diminue avec la profondeur à partir de la surface articulaire, plus on s'éloigne de la couche superficielle et moins la tension est élevée (Bae et al. 2008).

La dégénérescence du cartilage articulaire implique une usure de la surface articulaire voir une interruption. Des études sur des modèles morphologiques de l'usure et de la fibrillation du cartilage utilisant l'encre de Chine coloration suggèrent que des lignes parallèles de largeur variable commencent à se former sur les surfaces articulaires (ces lignes sont alors appelées *wear-lines*) et progressent ensuite avec le temps vers des zones de noircissement de plus en plus confluentes et sans direction préférentielle, appelées « *overt-fibrillation* ». Chez les hommes, passé 40 ans, environ 30% de la surface articulaire des rotules est marquée par ces *wear-lines* parallèles et ayant une direction proximale à distale. Avec l'âge, ces *wear-lines* sont remplacées peu à peu par les « *overt-fibrillation* ». Les *wear-lines* présentes sur la

surface articulaire représenteraient donc un stade précoce de dégénérescence du cartilage (Bae et al. 2008).

Les chevaux seraient plus prédisposés à développer plus rapidement des érosions linéaires et des *wear-lines* en association avec la fragmentation ostéochondrale, du fait de leur plus faible épaisseur du cartilage articulaire. Ces lignes d'usure ont été documentées comme étant des fentes verticales dans le cartilage articulaire et pouvant être présentes même dans les articulations faiblement arthrosiques. Ces *wear-lines* seraient également corrélées avec un pronostic réduit en cas de fragmentation ostéochondrale chez les chevaux de course. Il est présumé que la présence de lignes d'usure indique un changement pathologique précoce (McIlwraith et al. 2010).

Dans les pathologies ostéo-articulaires comme l'arthrose, la dégradation du cartilage s'accompagne d'une rupture de la trame collagénique entraînant une hyperhydratation et une plus grande expansion des protéoglycanes, dont la conséquence est une désorganisation du tissu, une diminution de la concentration en protéoglycanes, qui de surcroît, ont un poids moléculaire réduit. Ainsi, les mouvements d'eau provoqués par une charge ne s'exercent plus majoritairement vers le liquide synovial, mais dans toutes les directions. Par ailleurs, les mouvements inverses, lors de la suppression de charge, se font également de façon désordonnée (Mazières).

Cartilage sénescant	Cartilage arthrosique
Diminution de l'hydratation	Augmentation de l'hydratation
Concentration en PGs inchangée	Concentration en PGs diminuée
Concentration en collagène inchangée	Concentration en collagène diminuée
Prolifération chondrocytaire inchangée ou diminuée	Prolifération chondrocytaire augmentée
Activité métabolique inchangée	Activité métabolique augmentée
Os sous-chondral normal	Os sous-chondral épaissi

Tableau 3 – Bilan entre cartilage vieillissant et cartilage arthrosique.

Le cartilage sénescant correspond à l'usure physiologique du cartilage lorsque celui-ci n'est pas soumis à des contraintes anormales, alors que le cartilage arthrosique correspond à l'usure d'un cartilage ayant soit subi des contraintes anormales sur un cartilage sain ou ayant subi des contraintes physiologiques sur un cartilage non sain (cf. Partie 1, II).

II. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL

L'arthrose est caractérisée par une perte de la fonction articulaire, une hypertrophie osseuse se manifestant par la formation d'ostéophytes, un remodelage de l'os sous chondral et, selon le stade clinique, une inflammation chronique de la membrane synoviale (van der Kraan 2012; Martel-Pelletier et al. 2008; Carmona, Prades 2009; Lenoir 2003; Tamba 2005).

A. Causes de l'arthrose

L'étiologie n'est pas complètement déterminée à l'heure actuelle bien que certains facteurs prédisposants soient mis en avant : l'arthrose résulterait d'un système complexe d'interactions mécanique, biologique et moléculaire. Les contraintes mécaniques semblent cependant être la cause principale d'arthrose, aboutissant à la dégénérescence du cartilage articulaire (Grange 2007).

D'un point de vue mécanique, nous allons voir que deux grands systèmes sont présentés. Il s'agit soit d'une force ou contrainte « anormale » sur une articulation normale ou saine ; ou alors d'une force ou contrainte « normale » sur une articulation anormale ou pathologique. Cependant, dans la majorité des cas, l'arthrose est causée par une augmentation des forces physiques sur une articulation saine (Felson 2013).

1. L'arthrose provoquée par une contrainte anormale sur un cartilage normal

L'un des meilleurs exemples pour montrer qu'une contrainte anormale sur une articulation saine est à l'origine d'arthrose est de s'intéresser aux expériences menées pour l'étude de l'arthrose. En effet, lors de ces protocoles, des blessures sont induites aux animaux témoins (dont les articulations sont initialement saines) entraînant alors une arthrose de l'articulation étudiée.

Ces contraintes, dites « anormales » sont le fruit d'une force non répartie uniformément sur l'articulation saine. Il s'agit par exemple de traumatismes chroniques, de traumatismes sportifs, de remodelage et de microfracture ou de nécrose de l'os sous-chondrale, d'une perte de stabilité (causée par des fractures ou des lésions ligamentaires) ou encore, un changement de congruence articulaire engendré par une fracture, un défaut d'aplomb ou un défaut congénital (Tamba 2005). En parallèle, toute inflammation des tissus mous – synovite ou capsulite traumatique – causée ou non par un traumatisme ou un remodelage de l'os sous-chondral peut engendrer un phénomène arthrosique ; constituant alors une contrainte

anormale sur une articulation normale. Comme il est décrit chez l'homme (Felson 2013), nous pouvons supposer qu'une surcharge pondérale peut être à l'origine d'arthrose chez le cheval ; d'autant plus que la prévalence des chevaux en surpoids n'est pas négligeable (Giles et al. 2014; Wyse et al. 2008).

1.1 Traumatismes

Dans la littérature humaine (Englund, Guermazi, Lohmander 2009; Felson 2013), il est montré que le risque de développer de l'arthrose à la suite d'une lésion méniscale dans les 30 mois est augmenté de 10 fois par rapport à ceux qui n'ont pas cette lésion. Indépendamment du moment où la déchirure du ménisque se produit, cette déchirure semble augmenter de façon marquée le risque d'arthrose en augmentant la charge focale dans les zones adjacentes du cartilage, conduisant à la dégradation du cartilage et aux modifications ultérieures de l'arthrose.

1.2 Surcharge de l'os sous chondral (stress mécanique)

Un résultat typique chez les chevaux travaillant à grande vitesse est la sclérose sous-chondrale dans les articulations soumises à d'importants chocs et forces de cisaillement (par exemple, le carpe et les boulets).

Il a été postulé que la surcharge articulaire, en particulier de l'os sous-chondral, produit des microtraumatismes, un remodelage, un durcissement et un déplacement de la ligne de ostéochondrale (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996). Ces changements réduisent la capacité élastique du cartilage articulaire ainsi que la capacité de dissipation d'énergie au cours de la locomotion. Par conséquent, le tissu lésé ne parvient pas à guérir en raison des effets combinés par des exercices à fort impact, un manque d'échauffements adéquats et d'étirements post-exercice, un développement insuffisant de la proprioception, un travail des tissus musculo-squelettiques alors fatigués, et des intervalles de repos insuffisants.

Les résultats de ces forces sont des lésions mécaniques qui affectent le tissu articulaire et sa MEC, ce qui peut expliquer le constat commun de l'arthrose dans les articulations du boulet chez chevaux à haute performance ou dans les articulations du genou chez les athlètes humains.

Cependant, l'arthrose affecte également des articulations non portantes, comme celles des mains, de la colonne vertébrale, des épaules et des articulations temporo-mandibulaires chez

les humains et d'autres mammifères. Par conséquent, la théorie de la surcharge de l'os sous-chondral ne précise pas complètement l'origine de ces lésions, bien qu'un défaut d'alignement des surfaces ou des anomalies des composants ligamentaires profondes dans les articulations vertébrales et temporo-mandibulaires puisse entraîner une répartition de charge anormale.

1.3 Instabilité articulaire (perte de l'intégralité mécanique)

L'instabilité articulaire peut être due à une augmentation de la laxité ligamentaire, une déchirure d'un ligament, ou à un mauvais conditionnement des muscles intervenant dans l'articulation.

Un exemple de ce mauvais conditionnement des muscles intervenant dans l'articulation est l'incidence accrue de l'arthrose dans les genoux chez les hommes avec un faible développement de leurs muscles quadriceps. L'entraînement ou la course peuvent créer des épisodes avec augmentation de la laxité articulaire, surtout quand le travail est effectué alors que l'athlète est fatigué. Il a été démontré que les mécanorécepteurs associés aux articulations perdent leur efficacité au cours de la fatigue, ce qui nuit à la fonction proprioceptive et entraîne une augmentation de la probabilité d'apparition de blessure.

L'instabilité articulaire peut également survenir à la suite d'une synovite intense qui génère des quantités excessives de liquide synovial. L'augmentation de la pression intra-articulaire peut provoquer directement des dommages mécaniques sur le cartilage et des forces de surcharge anormale dans les régions osseuses sous-chondrales, perpétuant ainsi la synovite.

Chez l'homme, l'instabilité mécanique produite par un sectionnement traumatique et partiel du ligament croisé antérieur du genou peut être la cause d'une ostéoarthrose un an après l'évènement traumatique. Cela peut également se produire chez les chevaux atteints d'arthrose post-traumatique à cause de l'affaiblissement mécanique des structures périarticulaires.

L'instabilité articulaire est une cause importante d'arthrose et doit toujours être envisagée chez les patients touchés, en particulier chez le cheval de sport.

1.4 Synovite et capsulite

La synovite qui se produit chez les chevaux atteints d'arthrose peut être un phénomène primaire, la conséquence d'un traumatisme ou d'une surcharge articulaire, la complication à la suite d'injections intra-articulaires ou la conséquence d'une infection.

Les cellules qui composent la membrane synoviale représentent une source riche en molécules pro-inflammatoires qui peuvent inciter et perpétuer la détérioration articulaire si la cause sous-jacente de l'inflammation n'est pas contrôlée.

Étant donné que la membrane synoviale ne fournit pas de protection mécanique, un traumatisme ou une inflammation des structures adjacentes (par exemple, la capsule articulaire, les ligaments, les muscles ou les tendons) pourrait initier une synovite et le développement ultérieur d'arthrose.

1.5 Hypoxie

Chez l'homme, l'hypoxie est une composante commune dans la physiopathologie de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde (Giatromanolaki et al. 2003). Le gradient d'oxygène à travers le cartilage articulaire peut être modifié à la suite d'une érosion du cartilage, de son amincissement, ou encore à la suite de changements de composition de la matrice extracellulaire, ou lors du développement de fissures de cartilage.

Dans l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde, l'expression exagérée et la dégradation limitée de deux facteurs induits par l'hypoxie ($\alpha 1$ et $\alpha 2$) se produisent (Giatromanolaki et al. 2003). L'augmentation résultante de ces facteurs favorise l'expression de deux peptides angiogéniques appelés facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF pour *vascular endothelial growth factor*) et facteur de croissance cellulaire endothéliale dérivé des plaquettes (*platelet-derived cellular endothelial growth factor*). Les deux peptides augmentent la néovascularisation et favorisent la perméabilité vasculaire dans le tissu articulaire, ce qui entraîne œdème, fuite vasculaire de protéines, inflammation et à terme les lésions du cartilage.

1.6 Surcharge corporelle et leptine

Chez l'homme, le syndrome métabolique est associé à l'arthrose (van der Kraan 2012). Récemment, Griffin *et al.* ont montré que chez les souris dont l'obésité a été induite par l'alimentation, un développement d'OA s'est produit.

La leptine est une cytokine produite par les adipocytes blancs. Cette cytokine régule l'appétit, la dépense énergétique et intervient dans le métabolisme de l'os. La leptine favorise également la prolifération cellulaire et augmente l'activité métabolique des chondrocytes (Bader, Salter, Chowdhury 2011). Par ailleurs, la leptine est en synergie avec l'IL-1 et augmente la

production de NO, conduisant à l'activation des MMPs, à l'apoptose et à la dégradation de la matrice (Bader, Salter, Chowdhury 2011)

Il a été démontré (Dumond et al. 2003) que la concentration plasmatique en leptine est positivement corrélée à l'indice de masse corporelle chez les êtres humains souffrant d'arthrose. Il a également été montré dans cette étude que l'augmentation de la concentration plasmatique en leptine est positivement corrélée avec la gravité des lésions articulaires chez le rat.

À ce jour, il n'y a pas d'étude concernant le rôle de la leptine dans l'arthrose chez les chevaux. Cependant, la leptine est positivement corrélée avec un indice de masse corporelle élevé chez les chevaux (Buff et al. 2002).

1.7 Défauts d'aplombs

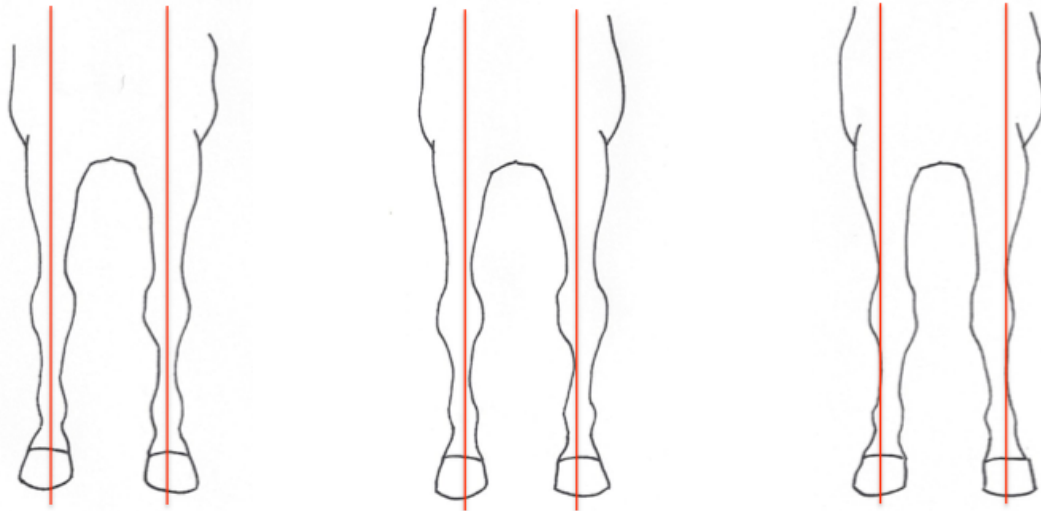
i. Déviations angulaires

Lorsque nous parlons de déviations angulaires, nous faisons référence à une modification de l'alignement osseux des membres dans le plan frontal, c'est-à-dire dans le plan latéro-médial (Lenoir 2003).

Les chevaux ayant une déformation angulaire du membre, présentent soit un valgus (déviation latérale, donc vers l'extérieur, d'un segment osseux par rapport au segment distal à celui-ci) ou un varus (déviation médiale, donc vers l'intérieur, d'un segment osseux par rapport au segment distal à celui-ci) (Bramlage, Auer 2006) (Figure 4, p34).

Ces deux types de déviation sont généralement associés à un certain degré de rotation axiale des membres ou du pied. Chez les poulains présentant un valgus, une rotation des pieds vers l'extérieur est souvent associée, et en cas de varus, une rotation interne des pieds.

Lorsque ces défauts d'alignement persistent au-delà de la croissance, une charge inégale apparaît au niveau de l'articulation déviée, ainsi que pour les articulations qui lui sont distales. Ainsi, lors d'une déviation de type valgus, une compression en région latérale aura lieu ; et inversement, lors de varus une compression en région médiale.



Aplombs normaux de face

Genoux cambrés : varus du carpe

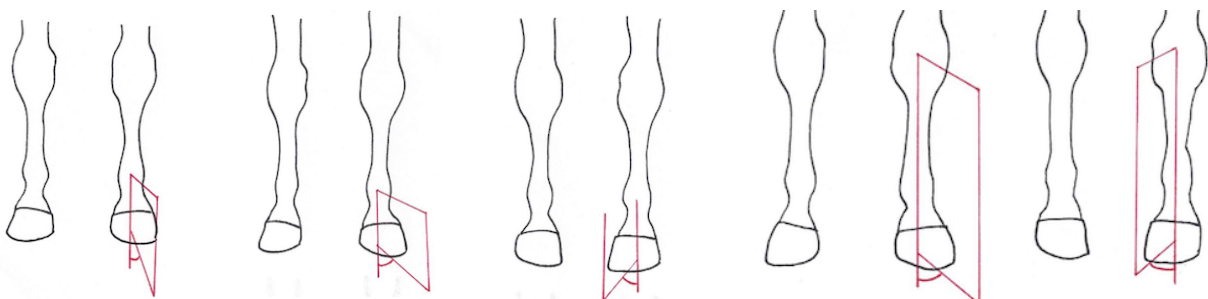
Genoux de bœuf : valgus du carpe

Figure 4 - Dessin représentant les déviations du genou

ii. *Déviations rotatoires*

Une déviation rotatoire – ou axiale – correspond quant à elle à une rotation de l'intégralité ou d'une partie du membre autour de son axe proximo-distal (Lenoir 2003).

Nous retrouvons ici aussi deux types de déviations rotatoires, pouvant atteindre n'importe quelle articulation du membre. Un membre est dit panard lorsque la pointe du pied pointe vers l'extérieur ; il s'agit donc d'une rotation latérale. À l'opposé, un membre est dit cagneux lorsque la pince du pied pointe vers l'intérieur ; il s'agit donc d'une rotation médiale. Comme nous l'avons vu précédemment, ces déviations rotatoires sont souvent associées à des déviations angulaires chez le poulain et ont tendance à persister chez l'adulte contrairement aux déviations angulaires.



Aplombs normaux

Panard du doigt

Cagneux du doigt

Panard du genou

Cagneux du genou

Figure 5 - Dessin représentant des déviations rotatoires du doigt ou du genou

iii. *Déviations sagittales*

Une déviation sagittale correspond à un degré anormal d'angulation au niveau d'une articulation, dans le plan sagittal – ou plan craniocaudal – du membre (Lenoir 2003). Un excès de flexion ou d'extension en sera donc la conséquence. Encore une fois, il n'est pas rare de retrouver ce type de déviation associé aux deux précédentes (angulaires ou rotatoires).

Lors de déviations sagittales, il en résulte une inéquation entre la longueur des segments musculo-tendineuses et celle des segments ostéo-articulaires ; nous aurons donc à faire à des défauts d'extension – ou hyperflexion – et à l'inverse, des défauts d'hyperextension.

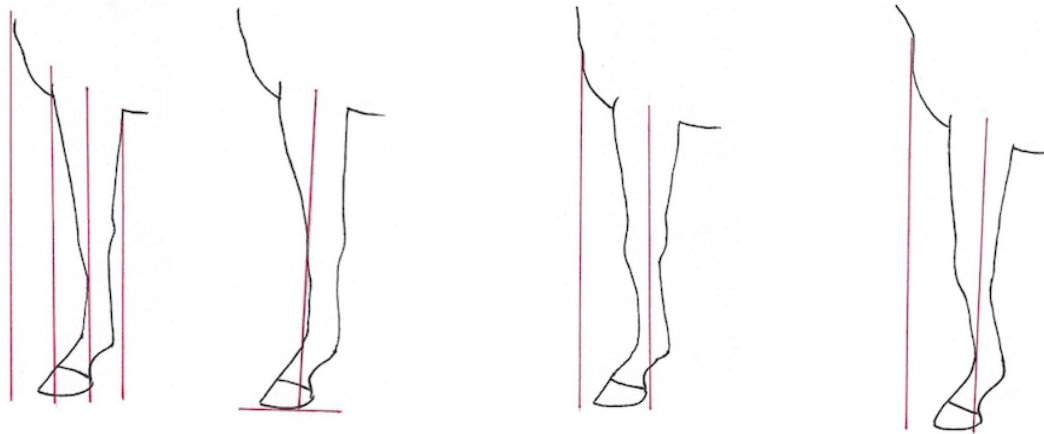
Plusieurs configurations sont décrites (Lenoir 2003) pour des défauts d'extension (Figure 6-, p36) :

- Contracture de l'articulation interphalangienne distale jusqu'à la formation de pied bot
- Défaut d'extension de l'articulation interphalangienne proximale
- Défaut d'extension de l'articulation du boulet – le cheval est dit dans ce cas « droit-jointé » - jusqu'à la formation d'une bouleture dans les cas sévères
- Défaut d'extension de l'articulation du carpe – on parle de genou « arqué » si ce défaut est acquis ou « brassicourt » lorsque ce défaut est congénital
- Défaut d'extension de l'articulation du tarse.

En ce qui concerne les déviations en hyperextension, plusieurs dénominations sont décrites selon l'articulation atteinte (Figure 6-8, p36). Le cheval est dit :

- « bas-jointé » lors d'hyperextension digitale légère,
- de pied « talus » lors d'hyperextension digitale plus marquée, l'appui est alors exagéré sur les talons
- de genou « creux, renvoyé ou de mouton » lors d'hyperextension du carpe.

Lors de déviations sagittales avec hyperextension, des lésions tendineuses et ligamentaires auront lieu en face palmaire alors que les compressions articulaires seront en face dorsale de l'articulation ; et inversement pour les déviations sagittales par défaut d'extension.



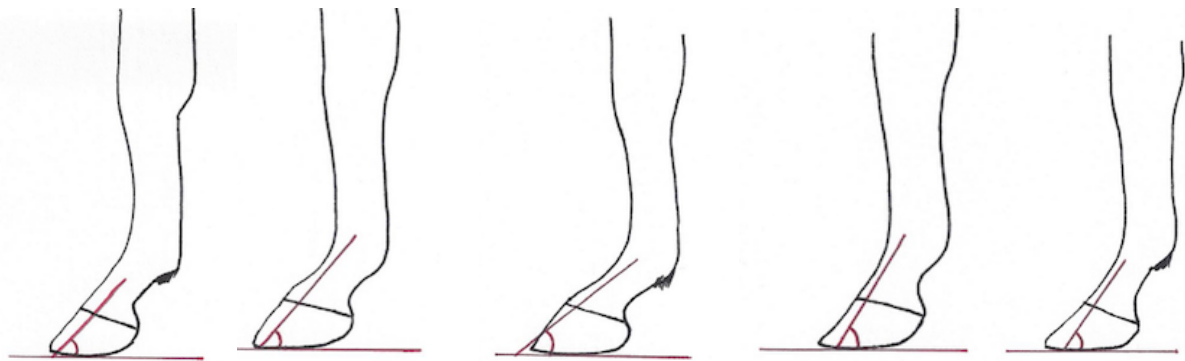
Aplomb normal

Genou creux ou de mouton

Genou arqué

Cheval brassicourt

Figure 6. Dessins représentant des déviations du genou



45°

< 45°

< 45°

> 45°

> 45°

Aplomb normal

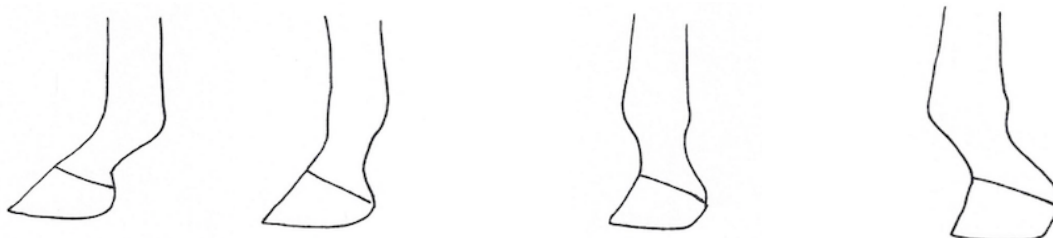
Court et bas jointé

Long et bas jointé

Court et droit jointé

Long et droit jointé

Figure 7. Dessins représentant des aplombs du doigt



Aplomb normal

Bouleture du 1^{er} degré

Bouleture du 2^e degré

Bouleture du 3^e degré

Figure 8. Dessins représentant des anomalies d'aplombs du doigt

iv. Conséquences des défauts d'aplombs dans le développement de l'OA

Outre les conséquences fonctionnelles que présentent ces déviations sur l'aplomb des pieds ou encore sur la biomécanique ; les conséquences lésionnelles ne sont pas moindres. Lors de déviations – angulaires, rotatoires ou sagittales –, les déformations du membre créent à la fois des compressions dans la région surchargée du membre, mais également des tractions des tissus du côté opposé. La conséquence est l'apparition de forces inégales sur les articulations, créant ainsi des contraintes inégales entre la face médiale et la face latérale ou entre la face palmaire/plantaire et dorsale de l'articulation concernée, mais également de toutes les articulations distales.

Par exemple, lors d'une déviation de type valgus ou pour un aplomb panard, une augmentation relative de la pression va avoir lieu sur la face articulaire latérale ; et inversement pour la face articulaire médiale lors de déviation de type varus ou pour un aplomb cagneux. Des lésions osseuses peuvent être également retrouvées lors de défauts d'extension ou d'hyperextension (Lenoir 2003).

Deux dominantes pathologiques en résulteront : les affections ostéochondrales juvéniles (anciennement appelées ostéochondrose) – essentiellement chez le poulain – et l'ostéoarthrose (OA), plutôt chez l'adulte.

Une compression mécanique inégale est à l'origine d'une altération de la trame collagénique du cartilage articulaire (Lenoir 2003), à l'initiation du phénomène inflammatoire causant l'OA comme nous le verrons dans la prochaine partie.

2. L'arthrose provoquée par une contrainte normale sur un cartilage anormal

Il s'agit ici d'étudier les causes de lésions primaires affectant le cartilage. Nous aborderons l'influence de l'âge, des hormones ainsi que le cas des affections ostéochondrales juvéniles (Tamba 2005). Se posera également la question de l'influence génétique quant à la pathogenèse de l'OA.

2.1 Influence de l'âge

Deux choses sont à différencier lorsque nous parlons de l'influence de l'âge : l'âge en « cause unique » ou en facteur prédisposant. En effet, lors d'un traumatisme, le facteur âge va avoir une réelle incidence sur l'apparition ou non d'un phénomène arthrosique. Il a souvent été

montré (Felson 2013) qu'un même traumatisme sur un cheval plus âgé peut être à l'origine d'arthrose alors que cela ne sera pas le cas chez un jeune cheval.

Dans cette même étude, Felson rapporte que les jeunes personnes en surpoids ont seulement un risque modeste d'arthrose, alors que plus âgés, les personnes en surpoids ont un risque très élevé de développer une arthrose du genou (Felson 2013). Étant donné la physiologie articulaire semblable entre l'homme et le cheval, il apparaît encore une fois l'hypothèse du rôle de l'obésité corrélé à l'âge comme facteurs factorisant à l'apparition d'arthrose.

2.2 Affections ostéochondrales juvéniles (AOCJ)

Anciennement appelées OCD pour ostéochondrose disséquante, les affections ostéochondrales juvéniles regroupent un ensemble de maladies à l'origine de lésions affectant les surfaces articulaires, le bord de ces surfaces, les cartilages de croissance et la résistance des tendons et ligaments (Denoix, Audigié 2014). Cette pathologie est souvent secondaire à un trouble du développement osseux, aboutissant à la formation de fragments libres ou de kystes osseux sous chondraux.

Les fragments libres entraînent une inflammation articulaire par frottement de la surface osseuse d'où ils proviennent avec la surface osseuse opposée ou alors directement par lésion de la surface articulaire dont ils prennent naissance. Cette inflammation peut donc être à l'origine de la cascade inflammatoire à l'origine d'OA. Les kystes sous chondraux modifient les propriétés de l'ensemble de la plaque sous chondrale entraînant une diminution des propriétés absorbantes et une diminution de la congruence articulaire, d'où une possible apparition d'arthrose.

Ces AOCJ peuvent cependant rester asymptomatiques toute la vie de l'animal (Denoix, Audigié 2014), ce qui rend complexe la compréhension de ces AOCJ dans le rôle du développement de l'OA.

2.3 Influences hormonales

Étant donné que la prévalence des OA croît considérablement chez les femmes de plus de 50 ans, la question de l'influence hormonale sur l'apparition d'OA s'est également posée.

Sniekers *et al.* ont réalisé une synthèse de la littérature portant sur l'influence de l'ovariectomie et d'un traitement à base d'œstrogène sur l'apparition d'OA chez les animaux. Ils ont montré que onze des seize études ont indiqué que l'ovariectomie sur les animaux a

causé des dommages sur le cartilage (Sniekers et al. 2008). Lorsque seules les études sur les animaux sexuellement matures ont été incluses, les auteurs indiquent que onze études sur quatorze ont montré un effet négatif, indiquant une preuve considérable pour une relation entre la dégénérescence du cartilage et l'ovariectomie chez les animaux adultes.

L'effet du traitement d'œstrogène n'a pas été concluant avec seulement onze des vingt-deux études animales faisant état d'un effet bénéfique sur le cartilage, tandis que les six études qui administrent des modulateurs des récepteurs des œstrogènes après ovariectomie décrivent des effets protecteurs ; et trois études ne rapportent pas d'effet.

Cette influence hormonale n'a pas été décrite chez les chevaux, mais nous pourrions nous demander si l'administration iatrogène d'hormones pourrait avoir des conséquences sur le développement d'OA.

2.4 Cause génétique

Chez l'homme, l'arthrose peut se produire à la suite d'un défaut génétique dans l'assemblage du collagène de type II (Prockop 1999).

Généralement, le processus arthrosique n'est pas associé à des facteurs génétiques. Toutefois, un phénomène arthrosique primaire a déjà pu être associé à certaines lignées de chiens, notamment chez les beagles. Certaines formes d'arthrose secondaire sont associées à des affections héréditaires (dysplasie coxofémorale, ostéochondrite disséquante...).

À ce jour, bien qu'il n'y ait aucune preuve d'une base génétique pour le développement de l'arthrose chez les chevaux, la question n'est pas à écarter.

B. Modification de l'homéostasie articulaire

À l'échelle moléculaire, l'OA est le résultat d'un déséquilibre entre les cytokines cataboliques et les cytokines anaboliques. Comme nous l'avons vu précédemment, le TGF- β et les IGFs sont à l'origine d'une augmentation de la synthèse de la MEC. En revanche, les cytokines telles que l'IL-1 et le TNF α sont à l'origine d'une dégranulation des leucocytes, d'une augmentation de l'expression de médiateurs pro-inflammatoires supplémentaires, comme la prostaglandine E₂ (PGE₂), le leucotriène B₄ (LTB₄), la bradykinine, et l'oxyde nitrique. L'IL-1 et le TNF- α augmentent également l'activité de plusieurs enzymes protéolytiques qui dégradent le cartilage articulaire, notamment les MMPs³ (Carmona, Prades 2009; Ross, Dyson 2010).

Ensemble, ces substances entraînent et maintiennent la synovite, et par conséquent initient les dommages du cartilage articulaire, et induisent un remodelage de l'os sous-chondral.

1. Rôle majeur des chondrocytes : composante tissulaire de l'OA

Les chondrocytes sont considérés comme des cellules mécanosensibles s'activant lorsque des contraintes dépassent un certain seuil. Les lésions cartilagineuses s'expliquent alors par un dysfonctionnement métabolique du chondrocyte où le catabolisme prédomine (Garcia 2013).

Une fois activés, ces chondrocytes vont s'hypertrophier et former des amas (nommés *clusters*) par stimulation de leur métabolisme. Cette prédominance transitoire des phénomènes anaboliques est vite remplacée par des phénomènes cataboliques par libération de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 ou le TNF- α . Ces cytokines provoquent ainsi la destruction du cartilage par augmentation de la synthèse et de l'activité des MMPs et d'agrécases. Une diminution des TIMPs a également lieu en parallèle (Garcia 2013).

Par ailleurs, les chondrocytes vont synthétiser des protéoglycanes de moindre qualité (les chaînes de chondroïtine-sulfate sont plus courtes, le rapport kérotane-sulfate/chondroïtine-4-sulfate diminue et la chondroïtine-6-sulfate est peu à peu remplacée par la chondroïtine-4-sulfate, plus facilement extractible de la MEC). Cette segmentation des protéoglycanes associée aux modifications structurelles facilite l'extraction des protéoglycanes hors de la matrice collagénique, ce qui diminue fortement la force de résistance à l'écrasement et

³ TGF- β : Transforming Growth Factor β , IGF : Insulin Like Growth Factor , MEC : matrice extracellulaire, IL-1 : Interleukine-1, TNF α : Tumor Necrosis Factor α , MMPs : métalloprotéinases matricielles, TIMPs : *tissue inhibitors of metalloproteinases*

augmente la force de friction (ou frottement) entre les surfaces articulaires par altération de la lubrification à l'origine de la fissuration, c'est-à-dire à l'origine des *wear-lines* (Garcia 2013).

Les chondrocytes sont séparés de la MEC du cartilage par un espace péricellulaire particulier où le pH est plus acide (pH 6,1) que dans le reste du tissu (pH 7,4). Les enzymes lysosomiales (cathepsines B) qui y sont libérées, étant activées par un pH acide, peuvent donc dégrader la MEC.

L'activité du chondrocyte est régulée par des facteurs mécaniques (la déformation de la matrice engendre des signaux mécaniques), électriques et physico-chimiques. Des facteurs de croissance assurent la régulation de l'activité cellulaire. Il s'agit de l'IGF, du TGF- β et des BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*) qui, exprimés par le chondrocyte stimulent la synthèse des constituants de la matrice.

2. L'activité des cytokines cataboliques est amplifiée lors d'OA

La dégradation du cartilage articulaire dans le processus d'OA est due à des interactions complexes et à la participation accrue de plusieurs molécules cataboliques (Tableau 4, p44). Le mécanisme exact provoquant le développement de l'arthrose reste cependant obscur.

2.1 *Les cytokines pro-inflammatoires*

i. *IL-1*

L'IL-1 représente une famille de trois cytokines comprenant deux peptides agonistes : l'IL-1 α et IL-1 β et une protéine : l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1ra : *IL-1 receptor antagonist*).

Les effets biologiques des deux peptides agonistes d'IL-1 sont initiés par la liaison à un récepteur spécifique. Bien que ce même récepteur puisse se lier à l'IL-1ra avec une affinité similaire, elle le fait sans provoquer d'effet biologique.

Il a été montré que l'IL-1 β est l'une des cytokines cataboliques les plus importantes impliquées dans l'OA (Bonnet, Walsh 2005; Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Wieland et al. 2005). La proforme de l'IL-1 β est convertie en IL-1 β grâce à une enzyme de conversion nommée caspase 1, permettant ainsi d'obtenir la forme active d'IL-1 β . Cette forme active d'IL-1 β favorise alors l'expression d'un important facteur de transcription appelé facteur nucléaire κ - β (*nuclear factor κ - β*). Ce facteur participe à la régulation de plusieurs gènes, y

compris ceux qui produisent des peptides pro-inflammatoires secondaires (par exemple les IL-6, IL-8, ou l'IL-12), des chimiokines, des LTB₄, des PGE₂, des MMPs et de l'oxyde nitrique (Carmona, Prades 2009; Ross, Dyson 2010).

L'IL-1 β inhibe également les voies métaboliques des chondrocytes utilisés pour réparer la MEC endommagée, aboutissant alors à un relargage de protéoglycanes de la MEC vers le liquide synovial, une inhibition de la synthèse du collagène de type II, IX et XI, et une stimulation de la production de molécules de protéoglycanes anormales. Le catabolisme est de plus favorisé par l'inhibition de la synthèse d'inhibiteurs de MMPs tels que les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs). De plus, l'IL-1 stimule la synthèse de la prostaglandine E₂ et d'oxyde nitrique, dont les effets sont décrits ultérieurement (Carmona, Prades 2009).

Alors que l'IL-1 a longtemps été considérée comme le stimulateur principal du processus de la maladie dégénérative (Ross, Dyson 2010), des études récentes tendent à réfuter cette hypothèse.

Une étude a été menée par Clements *et al.* en 2003, afin d'étudier le développement de l'ostéoarthrose après section du ligament collatéral médial et ménisectomie médiale partielle chez les souris dont les gènes codant soit pour l'IL-1 β , ou pour l'enzyme de conversion de l'IL-1 β , ou pour la stromélysine 1, ou encore pour l'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS) ont été supprimés. Toutes les souris knock-out ont montré un développement accéléré de lésions d'arthrose du cartilage tibial interne après la chirurgie, par rapport aux souris de type sauvages. Les souris IL-1 β knock-out ont également développé des lésions d'arthrose dans le cartilage latéral de membres non opérés (Clements et al. 2003).

Par ailleurs, d'autres données provenant d'études utilisant un modèle *in vitro* de dégénérescence du cartilage équin (Little et al. 2005) montrent que les cytokines cataboliques (IL-1 et TNF- α) sont seules responsables de l'initiation de la dégénérescence du cartilage dans l'arthrose. Ces résultats suggèrent que l'IL-1 joue un rôle de régulation important dans le maintien de l'homéostasie normale du cartilage, mais que son rôle dans l'initiation et dans la progression de l'arthrose n'est peut-être pas aussi important que nous le pensions auparavant.

Une partie importante de la recherche sur l'arthrose a été focalisée sur l'IL-1 β . L'utilisation de la thérapie génique avec le gène codant pour l'IL-1ra a été évaluée dans l'arthrose induite expérimentalement chez les chevaux. Bien que les résultats de cette recherche aient été

encourageants, les effets ont été transitoires (sur 28 jours), et une synovite est apparue secondairement (Frisbie et al. 2002). Les traitements à base d'IL-1ra seront développés dans la deuxième partie.

Dans une approche différente, des résultats prometteurs ont été obtenus en utilisant un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'IL-1 dans un modèle expérimental de l'arthrose chez les rats (Wieland et al. 2005).

L'IL-1 peut également contribuer aux événements de prolifération dans l'arthrose. L'ostéophytose peut être due, au moins en partie, à la stimulation des cellules de type ostéoblaste par l'IL-1 (Ross, Dyson 2010)

ii. TNF α

Le TNF- α est une autre cytokine pro-inflammatoire. Elle est sécrétée par les macrophages, les chondrocytes, les synoviocytes et les ostéoclastes, en tant que précurseur qui est ensuite activé par une enzyme de conversion spécifique (Carmona, Prades 2009). Il a été montré que cette enzyme est présente dans une concentration plus élevée chez les hommes présentant une OA (Fernandes, Martel-Pelletier, Pelletier 2002); la même chose devrait être vraie chez les chevaux atteints d'OA.

Bien que le TNF- α semble avoir des effets cataboliques semblables à ceux de l'IL-1 sur le cartilage articulaire, il apparaît que le TNF- α joue un rôle plus important dans la physiopathologie de l'arthrite rhumatoïde. En effet, un moyen important de réduire les effets du TNF- α sur l'activité du cartilage articulaire chez les humains atteints de polyarthrite rhumatoïde est l'administration d'anticorps spécifiques anti-TNF- α . Ces anticorps ne sont cependant pas utilisés dans le traitement de l'arthrose (Carmona, Prades 2009).

Comme l'IL-1, le TNF- α stimule la synthèse d'enzymes dégradant la matrice et inhibe la synthèse de protéoglycanes et de collagènes par les chondrocytes. Le TNF- α semble être moins efficace que l'IL-1; cependant, les effets de l'IL-1 et du TNF- α sont potentialisés lorsqu'ils sont combinés. Par ailleurs, le TNF- α semble stimuler la synthèse d'IL-1 (Ross, Dyson 2010).

Cytokines	Espèces	Source naturelle	Activateurs	Inhibiteurs	Mécanisme d'action
IL-1	Équin, Humain	Chondrocytes Synoviocytes Macrophages Lymphocytes Fibroblastes	Traumatisme Infection TNFs	IL-1ra IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGFβ, PGE ₂	↑ MMPs, ↑ PGE ₂ , ↑ COX-2, ↑ NO, ↑ TNF, ↑ IL-6, et autres cytokines cataboliques, ↓ TIMPs, ↓ synthèse de la MEC
IL-2	Humain	Lymphocytes	IL-1, TNFs	IL-4, IL-10, IL-13, TGFβ, sIL-2R	↑ prolifération des LT et LB ↑ activité cellulaire des NK, ↑ TNF, ↑ IFN-γ
IL-6	Équin, Humain	Chondrocytes Synoviocytes Macrophages Lymphocytes Fibroblastes	IL-1 (équins)	IL-4, IL-10, IL-13, sIL-6R	↑ phase aigüe protéines, ↑ prolifération des LT, LB et des fibroblastes, ↑ <i>serine protease inhibitors</i>
IL-8	Humain	Macrophages Lymphocytes	IL-1	IL-4, IL-10, IL-13	↑ chimiotactisme des neutrophiles, ↑ néovascularisation, ↑ radicaux libres
IL-12	Humain	Macrophages	IL-1, TNFs	IL-10, IL-11	↑ IL-1, ↑ TNFs, ↑ IFN-γ, ↑ IL-18
IL-17	Humain	LT	IL-1 TNFs		↑ activité ostéoclastique, ↑ PGE ₂ , ↑ NO, ↑ chimiokines
IL-18	Humain	Lymphocytes Synoviocytes	IL-1 TNFs	IL-10	↑ IL-1, ↑ TNF, ↑ IFN-γ, ↑ molécules d'adhésion
TNFα	Équin Humain	Chondrocytes Synoviocytes Macrophages Lymphocytes Fibroblastes	Traumatismes Infection IL-1	IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGF-β, sTNFRs	↑ PGE ₂ , ↑ COX-2, ↑ NO, ↑ IL-1 et d'autres cytokines cataboliques, ↓ TIMPs, ↓ synthèse de la MEC

Tableau 4 - Les cytokines cataboliques impliquées dans l'OA humaine et équine d'après Carmona, Prades, 2009⁴

⁴ TNFα : Tumor Necrosis Factor α, IGF-1 : Insuline Like Growth Factor 1, TGFβ : Transforming Growth Factor β, IFN-γ : interféron γ, IL : interleukine, IL-1ra : *Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein*, COX-2 : cyclo oxygenase, MEC : matrice extracellulaire, MMPs : métalloprotéases; NK : *natural killer*, NO : monoxyde d'azote, PGE₂ : prostaglandine E₂, sIL-2R : *IL-2 soluble receptor*, sTNFR : *TNF soluble receptor*, TIMPs : inhibiteurs tissulaires des MMPs, LT : Lymphocytes T, LB : Lymphocytes B

2.2 Les enzymes de dégradation de la MEC

Plusieurs enzymes dégradant la MEC sont activées par l'IL-1 β et le TNF- α . Les principales enzymes liées à la dégradation de la MEC dans le cartilage sont les MMPs, les agrécanases, les protéases à sérine, les protéases aspartiques, et les protéases à cystéine. Alors que les MMPs et les protéases à sérine agissent à un pH neutre, les protéases aspartiques et les protéases à cystéine ont une plus haute activité à un pH acide (Carmona, Prades 2009).

Un déséquilibre dans la production de ces enzymes, à savoir une production excessive et non contrôlée, entraîne des dommages irréversibles sur les tissus articulaires ainsi qu'un auto-entretien de ce cercle vicieux.

i. Les MMPs ou métalloprotéinases

Comme dit précédemment, les MMPs appartiennent à un groupe d'endopeptidases zinc-dépendante. Elles sont sécrétées par les synoviocytes, les chondrocytes, les macrophages et les neutrophiles. Plusieurs membres de cette famille, y compris les collagénases (MMP-1, MMP-8, MMP-13), les gélatinases (MMP-2, MMP-9), et les stromélysines (MMP-3, MMP-10, MMP-11), sont impliqués dans la physiopathologie de l'OA (Tableau 5, p47). Ces enzymes sont sécrétées comme zymogènes inactifs (ou proenzymes) et sont activées par clivage enzymatique dans la région catalytique, qui contient le site de liaison au zinc. Les effets spécifiques des MMPs dépendent du niveau d'activité des enzymes et de la présence d'inhibiteurs tels que les TIMPs et les α 2-macroglobulines (Carmona, Prades 2009).

Il a été montré que la MMP-1 et la MMP-13 jouent un rôle majeur dans le développement de l'OA (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996; Tung et al. 2002; van den Boom et al. 2004). La MMP-1 est produite principalement par les cellules synoviales qui tapissent les articulations, et la MMP-13 est un produit des chondrocytes. La MMP-13 dégrade les agrécanes. L'activation d'autres MMPs, comme la MMP-2, la MMP-3 et la MMP-9, est également augmentée en cas d'OA, et ces enzymes dégradent des composants non collagéniques de la matrice au niveau des articulations (Carmona, Prades 2009).

ii. *Les agrécanases* (Carmona, Prades 2009; Pujol 2000; Ross, Dyson 2010)

Les agrécanases, également appelées ADAMT (*a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*) comprennent 19 membres numérotés de 1 à 20 (il n'existe pas d'ADAMTS-11). Un grand nombre de ces enzymes sont des protéinases et sont structurellement et fonctionnellement liées à des MMPs : elles sont également inactivées par les inhibiteurs des MMPs et donc par les TIMP-1 (Carmona, Prades 2009).

Deux formes d'agrécanases ont été impliquées dans l'OA: l'agrécanase-1 (ADAMTS-4) et l'agrécanase-2 (ADAMTS-5) : deux enzymes protéolytiques à l'origine de la dégradation des agrécanes au sein du cartilage dans les cas d'OA. Ces agrécanases clivent la protéine du noyau de l'agrécane et jouent ainsi un rôle important dans la physiopathologie de l'arthrose. La synthèse des ADAMTS-4 et ADAMTS-5 dans les chondrocytes semble être régulée par l'IL-1 β , et il semblerait que l'IL-1 β inhiberait la synthèse des agrécanases-1 (ADAMTS-4) sous certaines conditions (Carmona, Prades 2009).

Dans un modèle expérimental d'arthrose canine (Pelletier et al. 2005), il a été observé que le licofélone (inhibiteur des cyclooxygénase (COX) et des lipooxygénases (LO)) est à l'origine d'une inhibition de la synthèse des agrécanases. À notre connaissance, cet inhibiteur n'a pas été étudié chez les chevaux.

Les agrécanases sont considérées comme essentielles dans la dégradation des protéoglycanes. En effet, certains soutiennent que les agrécanases sont le principal médiateur de la réduction des protéoglycanes dans l'arthrose.

iii. *La protéase à sérine*

L'activateur du plasminogène, la bradykinine, la plasmine, la trypsine, la cathepsine G ainsi que l'élastase sont des membres importants de la famille des protéases à sérine, car ils peuvent cliver directement les molécules de la MEC. Cependant, l'effet catabolique principal de ces enzymes est l'activation de protéases latentes, comme les pro-MMPs (Carmona, Prades 2009).

Il a été démontré que l'IL-1 β peut favoriser l'action de ces enzymes par le biais de la PGE₂ qui induit une activation de l'activateur tissulaire du plasminogène.

La bradykinine est quant à elle un médiateur important lors de synovite. Un antagoniste spécifique des récepteurs B2 de la bradykinine a récemment donné des résultats encourageants dans le traitement de l'arthrose des genoux chez l'homme (Wieland et al. 2005).

Groupe enzymatique	Enzyme	Inhibiteurs	Substrats sensibles à la dégradation du cartilage
MMPs	Collagénases		
	MMP-1	TIMPs α_2 -Mg	Collagène II et X, collagène dénaturé de type II Agrécanes, protéine de liaison
	MMP-8		Collagène II, Agrécanes, protéine de liaison
	MMP-13		Collagène II, V, IX, X, agrécane, fibronectine
	Gelatinases		
	MMP-2	TIMPs α_2 -Mg	Collagène X et XI, élastine, collagène dénaturé de type II
	MMP-9		Collagène X et XI, agrécane, décorine, élastine, procollagènes, protéine de liaison
	Stromélysines		
	MMP-3	TIMPs α_2 -Mg	Collagène IV, IX, X et XI, agrécane, décorine, élastine, laminine, collagène dénaturé de type II, procollagène, protéine de liaison Protéoglycanes, fibronectines, laminines, collagène dénaturé de type II
	MMP-10		
MMP-11			
Protéases à sérine	Cathepsine G	α_1 -PI, α_2 -Mg	Collagène II, agrécane, élastine, TIMPs dénaturés
	Plasmine	α_2 -Mg, α_2 -AP	Pro MMPs actif
Protéases aspartiques	Cathepsine D	α_2 -Mg	Agrécane, collagène dénaturé de type II
Protéases à cystéine	Cathepsine B	Cystatines, α_2 -Mg	Agrécane, collagène II, activité des procollagénase
	Cathepsine K		Collagène II

Tableau 5 - Enzymes associées dans la dégradation de la MEC dans l'OA d'après Carmona, Prades, 2009⁵

⁵ α_2 -AP : α_2 antiplasmin; α_2 -Mg : α_2 macroglobulin; α_1 -PI : α_1 -plasminogen inhibitor; MMPs : matrix metalloproteinases; TIMPs : tissue inhibitors of metalloproteinases

2.3 Les eicosanoïdes

Il existe deux types d'eicosanoïdes : les leucotriènes et les prostanoïdes, parmi lesquels nous retrouvons les prostaglandines (dont la PGE₂), les thromboxanes et les prostacyclines. Les eicosanoïdes sont des métabolites de l'acide arachidonique principalement (et en minorité des acides dihomolinoléique γ et eicosapentaénoïque). Ils sont produits par les cellules inflammatoires, les chondrocytes et les synoviocytes (Carmona, Prades 2009).

Ces substances sont donc présentes dans les articulations enflammées, principalement en réponse à une activation de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) par des cytokines cataboliques ; les cyclo-oxygénases convertissant l'acide arachidonique en prostaglandine H₂, précurseur de tous les prostanoïdes (Figure 11, p74).

La PGE₂ a également des effets importants dans le processus inflammatoire, car elle favorise la dilatation vasculaire, réduit le seuil de stimuli douloureux, facilite l'activation de l'activateur du plasminogène, et favorise la dégradation des protéoglycanes. Cependant, la PGE₂ a également des effets anti-inflammatoires par l'activation de l'expression de cytokines anti-inflammatoires (Tableau 6, p53) et l'inhibition de l'expression des cytokines cataboliques et des MMPs. Par conséquent, la PGE₂ est un élément nécessaire dans le contrôle du processus inflammatoire (Carmona, Prades 2009).

Les leucotriènes sont produits via la voie de la lipoxygénase, entraînant une vasodilatation et un chimiotactisme pour les leucocytes sur les sites de l'inflammation. Il existe des preuves convaincantes de l'implication des leucotriènes, notamment les LTB₄, dans la pathogénie de l'arthrite. Par exemple, la densité des récepteurs de type II des LTB₄ est augmentée dans les membranes synoviales des humains atteints de polyarthrite rhumatoïde, suggérant que les leucotriènes ont un rôle important dans le développement de la synovite. De plus, une corrélation positive a été identifiée entre le nombre de leucocytes et la concentration du LTB₄ dans le liquide synovial chez les chevaux présentant une maladie articulaire (Bertone, Palmer, Jones 2001).

L'inhibition de la synthèse des eicosanoïdes semble donc être un point essentiel dans le traitement de l'arthrose chez les humains et les animaux. Les AINS et les corticoïdes ont été utilisés à cet effet et produisent un soulagement symptomatique de la douleur ainsi qu'une diminution de l'épanchement synovial. Toutefois, il est bien connu que les corticostéroïdes sont des anti-inflammatoires puissants, mais ils ont aussi des effets non seulement sur les

articulations, mais aussi le métabolisme et les réponses immunologiques au niveau systémique. Par ailleurs, les corticostéroïdes produisent un catabolisme du cartilage articulaire, en particulier lorsqu'ils sont administrés de façon répétée, comme nous le verrons ultérieurement.

2.4 Le monoxyde d'azote

L'oxyde nitrique – ou monoxyde d'azote, est un médiateur inflammatoire synthétisé par plusieurs types de cellules dans les articulations. Il entraîne la diminution de dépôt de sulfate dans les chaînes de GAG, la réduction de la synthèse du collagène, et interfère avec l'activation de l'IL-1ra. Par ailleurs, il entraîne également la diminution de l'activité de facteurs de croissance tels que le TGF- β et l'IGF-1. Il serait aussi associé à l'apoptose aberrante de chondrocytes dans la pathogenèse de l'arthrose (Carmona, Prades 2009).

En plus de l'oxyde nitrique, d'autres radicaux libres, par exemple le superoxyde, le peroxyde, et un groupe hydroxyle, entre dans le cadre de la réponse inflammatoire. À leur tour, ces médiateurs peuvent agir sur les chondrocytes et les fibroblastes synoviaux, modifier la biosynthèse des protéoglycanes, du collagène, de l'acide hyaluronique et entraînent ainsi la libération de médiateurs cataboliques (Carmona, Prades 2009; Ross, Dyson 2010).

L'administration d'inhibiteurs de l'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS) dans l'arthrose provoquée expérimentalement a entraîné une réduction de l'inflammation synoviale et de la destruction du cartilage et des os (Wieland et al. 2005).

3. L'activité des cytokines anaboliques se voit donc réduite lors d'OA

Lors du développement de l'OA, un ensemble de facteurs de croissance et de cytokines sont produits pour contrer les effets cataboliques exercés principalement par l'IL-1 β et les MMPs. Malheureusement, les effets des molécules cataboliques sont majoritaires, d'où la genèse de l'OA.

3.1. Les facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des peptides qui ont des effets multifonctionnels anabolisants et prolifératifs sur les chondrocytes et sur la MEC environnante. Parmi les nombreux facteurs de croissance identifiés dans la physiopathologie de l'OA, le plus important semble être ceux

de la famille des IGFs et le TGF- β . Il a été postulé que les facteurs de croissance anaboliques moins connus, tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF-BB pour *Platelet-derived growth factor isoform BB*) et le facteur de croissance fibroblastique (bFGF pour *basic Fibroblast growth factor*), pourraient également être importants dans la pathogenèse de la maladie.

i. IGFs

Les *Insuline Growth Factors* regroupent deux molécules (IGF-I et IGF-II) qui appartiennent à la famille de l'insuline et sont produites principalement par le foie. Ces facteurs sont également synthétisés par d'autres types cellulaires, y compris ceux du cartilage. La réserve primaire des IGFs est le plasma. L'IGF-I est transportée par six protéines de liaison qui modulent son activité biologique (Carmona, Prades 2009).

Bien que l'IGF-I soit exprimée en abondance dans le cartilage du poulain, son niveau d'expression est diminué chez les chevaux âgés (Nixon, Brower-Toland, Sandell 1999). L'IGF-I favorise la différenciation des chondrocytes fœtaux et l'entretien de la synthèse de la MEC. Dans le cartilage adulte, l'IGF-I est un antagoniste de l'IL-1 β et réduit le catabolisme de la MEC. Avec le vieillissement, la concentration d'IGF-I nécessaire pour maintenir une synthèse adéquate de MEC augmente considérablement.

Bien que les résultats des études *in vitro* indiquent que la concentration supra-physiologique de l'IGF-I n'agit ni sur la survie des chondrocytes ni sur la qualité de la MEC, l'injection intra-articulaire d'IGF-I semble favoriser la réparation des tissus (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996). Cette approche a été testée chez des chevaux présentant des défauts du cartilage induit expérimentalement. Les résultats montrent que l'injection intra-articulaire d'IGF-I produit de meilleures preuves de réparation du cartilage que ce qui est vu que dans les articulations n'ayant pas reçu d'IGF-I (Fortier et al. 2002).

L'effet anabolique et mitogénique de l'IGF-II a été étudié en incubant du cartilage articulaire dans un milieu standard avec ou sans IL-1 β équine et contenant diverses concentrations d'IGF-II pendant 72 heures (Davenport-Goodall, Boston, Richardson 2004). Cette étude suggère que l'IGF-II peut avoir des effets positifs sur les chevaux. Cependant, à ce jour, il semblerait qu'aucune étude *in vivo* utilisant l'IGF-II ait été menée chez les chevaux.

Il est important de noter d'une part que la concentration d'IGF-I est augmentée chez les sujets atteints d'OA ; et d'autre part que l'expression d'une protéine spécifique de liaison à l'IGF est également augmentée. Or cette protéine de liaison à l'IGF réduit l'activité de l'IGF-I.

Il est donc possible que l'antagonisme de cette protéine de liaison puisse fournir une approche thérapeutique alternative à l'utilisation de l'IGF-I seule.

ii. *TGF- β*

Les membres de la superfamille des TGF- β comprennent le TGF- β 1, le TGF- β 2, le TGF- β 3, ainsi qu'une variété de protéines morphogénétiques osseuses (BMPs : *Bone morphogenetic proteins*).

Le TGF- β a des effets prolifératifs et anabolisants sur le cartilage articulaire et antagonise les effets cataboliques de l'IL-1 β (Davenport-Goodall, Boston, Richardson 2004; Frisbie et al. 2000; Nixon, Brower-Toland, Sandell 1999). Cependant, le TGF- β est moins puissant que l'IGF-I ou IGF-II à cet égard.

Il existe des informations contradictoires sur les effets anabolisants du TGF- β , principalement parce que ce peptide est associé à des troubles de la synthèse de la MEC (par exemple, les déséquilibres dans l'assemblage des protéoglycanes) et favorise la synthèse de la fibromoduline rapport à celle de la décorine et du biglycane. Par ailleurs, il a été montré que le TGF- β favorise la formation d'ostéophytes dans les articulations (Carmona, Prades 2009).

iii. *bFGF et PDGF*

Le rôle du *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF) dans l'homéostasie et dans la régénération du cartilage est contradictoire selon les études (Chetina, Pul 2008; Ellman et al. 2013; Li et al. 2013; Mori et al. 2014). Des études antérieures ont suggéré que l'effet mitogène du bFGF est un signe de dégénérescence plutôt que de régénération. Toutefois, dans diverses expériences sur les animaux, le bFGF exogène a accéléré la réparation du cartilage et la formation de l'os sous-chondral.

Le *Platelet-derived growth factor isoform BB* (PDGF-BB) est également un agent mitogène. Il a été montré dans certaines études que l'application locale de PDGF-BB et d'IGF-1 était une stratégie prometteuse pour l'induction de la réparation du cartilage (Joos et al. 2013).

Le rôle de ces cytokines et leur impact réel dans la dégradation articulaire chez le cheval restent donc à définir.

3.2 Les cytokines anti-inflammatoires

Plusieurs cytokines anti-inflammatoires sont produites dans le cadre de la réponse inflammatoire et modulent les effets des cytokines cataboliques et d'autres métabolites inflammatoires. Les plus importantes d'entre elles comprennent l'IL-1ra, IL-4, IL-10 et IL-13. L'IL-1ra bloque les effets cataboliques de l'IL-1 en s'associant à son récepteur membranaire. L'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13 activent l'expression de l'IL-1ra (Carmona, Prades 2009).

L'utilisation d'un sérum équin autologue riche en IL-1ra a été évaluée dans un modèle d'arthrose équine (Frisbie, Kawcak, McIlwraith 2005). Ce traitement a amélioré de manière significative la boiterie clinique et l'aspect histologique de la membrane synoviale des chevaux traités par rapport à ceux du groupe placebo, cela semble offrir d'intéressantes perspectives dans le traitement de l'OA.

Cytokines	Espèces	Origine dans l'OA	Activation	Mécanisme d'action
IGFs	Équin Humain	Cartilage articulaire	MEC, réduction de PG, leptine	↑ synthèse de la MEC, ↑ les cytokines cataboliques, ↓ dégradation des PG
IL-1ra	Équin Humain	Monocytes Synoviocytes	IL-4, IL-10, IL-13, TGF-β	Antagonise l'effet catabolique de l'IL-1
IL-4	Humain	LT	PGE ₂	↓ IL-1, ↓ TNF, ↓ IL-8, ↓ IFN-γ
IL-10	Humain	LT	PGE ₂	↑ prolifération des lymphocytes, ↑ synthèse des immunoglobulines, ↑ IL-1ra, ↑ inhibiteurs des protéases à sérine, ↓ IL-1, ↓ TNF, ↓ IL-8, ↓ IFN-γ, ↓ PGE ₂ , ↓ NO, ↓ MMPs, ↓ PLA ₂
IL-11	Humain		PGE ₂	↑ phase aiguë des protéines, ↓ IL-1, ↓ TNF, ↓ IL-12, ↓ IFN-γ
IL-13	Humain	LT	PGE ₂	↑ prolifération des LB, ↑ IL-1ra, ↓ IL-1, ↓ TNF, ↓ IL-8, ↓ IFN-γ, ↓ PGE ₂
IFN-γ	Humain	LT	IL-2, IL-12, IL-18	Cytokines immunomodulateurs
Leptine	Humain	Adipocytes	Obésité Réduction des PG ?	↑ TGF-β, ↑ IGFs
TGF-β	Équin Humain	Cartilage articulaire	Leptine	↑ synthèse de la MEC, ↑ cytokines cataboliques, ↓ dégradation des PGs, ↑ déséquilibre de la membrane synoviale dans la synthèse des PG, ↑ ostéophytes

Tableau 6 - Facteurs de croissance et cytokines anti-inflammatoires intervenant dans l'OA chez les humains et chez les chevaux d'après Carmona, Prades, 2009⁶

⁶ MEC : matrice extracellulaire, IFN-γ : interféron γ; IGF : insulin-like growth factor; IL : interleukine; MMPs : matrix métalloprotéinases; NO : nitroxyde d'azote; PG : protéoglycanes; PGE₂ : prostaglandine E₂; PLA₂ : phospholipase A₂; TGF-β : transforming growth factor β; TNF : tumor necrosis factor

C. Conséquences sur l'articulation

Les chevaux atteints d'arthrose peuvent présenter différents degrés de douleur, un épanchement synovial, ainsi qu'une gêne fonctionnelle. Tous ces signes sont le reflet des effets des molécules cataboliques au sein de l'articulation atteinte.

La douleur se manifeste généralement par une boiterie, résultant de l'inflammation articulaire, de l'exposition de l'os sous-chondral, d'une néovascularisation et de la néo-réinnervation, mais aussi de l'augmentation de la pression intramédullaire osseuse. Il n'y a cependant aucune corrélation entre le degré apparent de la douleur et la sévérité des lésions articulaires (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996).

1. Modifications structurelles et mécaniques de la matrice: modifications de l'os sous chondral et de la jonction périoste-cartilage

Sur un plan macroscopique, cette pathologie dégénérative correspond à une dégradation du cartilage. Progressivement apparaissent des fissures ou *wear-lines*, un remaniement de l'os sous chondral et le développement d'ostéophytes sur les zones non portantes pour aboutir aux pincements puis à la disparition de l'espace articulaire (Figure 9, p57). Plusieurs grilles de score pour l'évaluation des lésions du cartilage existent, sans qu'il y ait de consensus à l'heure actuelle. La classification la plus ancienne est celle d'Outerbridge. Une des classifications les plus utilisées en France est celle de Beguin et Locker (Tableau 7, p57).

Étant donné que cette chronologie semble évoluer en trois stades, nous présenterons ici l'évolution de la maladie selon trois stades. Il est cependant important de noter que sur une même surface cartilagineuse, les lésions ne sont pas forcément toutes au même stade évolutif.

1.1. Stade initial

Au stade initial, le cartilage est œdématié. Cette réponse à l'agression initiale du tissu peut être assimilée à une tentative de réparation du cartilage sous l'effet de facteurs de croissance, tentative qui va échouer pour des raisons encore mal comprises. Ainsi l'activation des chondrocytes va augmenter leur activité anabolique et catabolique (Buckwalter et coll. 1998).

Dans un premier temps, l'équilibre entre production des protéines matricielles et enzymes de dégradation est maintenu.

Très rapidement s'installe une synthèse défailante avec des protéoglycanes de taille inférieure et la synthèse d'un néocollagène (de type I), dont les propriétés biomécaniques sont moins bonnes (Garcia 2013; Grange 2007; Tamba 2005) .

Cette activité anabolique va également se traduire par la production d'ostéophytes sous l'influence de facteurs de croissance tels que le TGF- β . L'os sous-chondral, riche en facteurs de croissance semble jouer un rôle dans la tentative de réparation des lésions cartilagineuses (Neumann et al. 2008). L'orientation des fibres de collagène proches de la surface va progressivement disparaître et l'espace entre les fibres va s'accroître, aboutissant à une diminution de la résistance du cartilage responsable de fissures que l'on va voir apparaître dans le stade intermédiaire.

Quoi qu'il en soit, il en résulte une surproduction de protéoglycanes, ce qui entraîne une hyperhydratation néfaste, aboutissant alors au ramollissement du cartilage (chondromalacie).

1.2. Stade intermédiaire

Le stade 2 est caractérisé par l'apparition de fissures superficielles, les *wear-lines*, dues à une protéolyse matricielle exacerbée. Une hyperactivité catabolique des chondrocytes a lieu à ce stade, libérant ainsi des cytokines pro inflammatoires : l'IL-1 β et le TNF- α (Garcia 2013; Grange 2007; Tamba 2005) .

Sous l'influence de ces cytokines, les chondrocytes libèrent d'autres facteurs pro inflammatoires comme les dérivés radicalaires de l'oxygène, le monoxyde d'azote, des enzymes protéolytiques (métalloprotéinases et agrécánases) et glycolytiques, mais aussi de la phospholipase A2, et des prostaglandines. L'hyperactivité enzymatique va petit à petit déborder les capacités d'inhibition enzymatique.

En parallèle, ces cellules ont aussi une activité anabolique forte, mais qui va progressivement s'épuiser ; aboutissant donc à la destruction du cartilage (destruction autocrine). La destruction est d'autant plus rapide que les cytokines produites (IL-1 β et TNF- α) commandent aussi l'inhibition de la synthèse des composants naturels du cartilage.

De plus, le chondrocyte peut se différencier en un fibrochondrocyte synthétisant des composants normalement absents ou présents en faible quantité, comme le néocollagène de type I, le versicane, ou la fibronectine et d'autres protéines non collagéniques de qualité et de

résistance moindre que les composants normaux du cartilage (Garcia 2013; Grange 2007; Tamba 2005).

Par ailleurs, sous l'action délétère de l'IL-1 β ou du NO, il existe une accélération du cycle de maturation cellulaire qui amène à une prolifération des chondrocytes puis à leur hypertrophie et enfin à leur mort par apoptose (Dozin et al. 2002). À ce stade, l'os sous-chondral est un acteur important dans l'altération du cartilage. Il est en effet le siège d'une augmentation du remodelage osseux en faveur de l'ostéoformation, médié par des cytokines synthétisées par les ostéoblastes adjacents au cartilage.

Toutes ces modifications conduisent à plus ou moins long terme à des remaniements de l'os sous-chondral avec apparition de macro géodes (Figure 9, p57).

Finalement, défaut de réponse anabolique, déséquilibre entre enzymes et inhibiteurs, mort cellulaire par nécrose ou par apoptose du chondrocyte, s'additionnent et contribuent à la dégradation de la matrice extracellulaire.

1.3. Stade final

À un stade avancé, la destruction gagne les couches profondes mettant à nu l'os sous-chondral.

Il persiste des chondrocytes hypertrophiques, ou en voie d'apoptose, ainsi qu'un tissu fibrocartilagineux.

L'activation de la membrane synoviale, par les débris du cartilage et/ou les microcristaux libérés dans la cavité synoviale, pourrait contribuer à la chondrolyse, avec libération de MMPs, de cytokines telles que l'IL-1 β et de dérivés radicalaires de l'oxygène.

De même, les altérations de l'os sous-chondral contribuent également à maintenir la maladie.

Classification d'Outerbridge	Classification de Beguin et Locker
Grade I : Ramollissement cartilagineux	Stade 0 : Cartilage d'aspect et de consistance normale
Grade II : Fragmentation, fissures chondrales de moins de 1,27cm de diamètre	Stade 1 : Ramollissement cartilagineux ou surface normale, lisse et ma consistance est anormale
Grade III : Fragmentation, fissures de plus de 1,27cm de diamètre	Stade 2 : Fissures uniques ou érosions superficielles
Grade IV : Exposition de l'os sous-chondral	Stade 3 Fissures ou ulcérations profondes Stade 4 : Exposition de l'os sous-chondral

Tableau 7 – Classification d'Outerbridge et de Beguin et Locker d'après Garcia, 2013

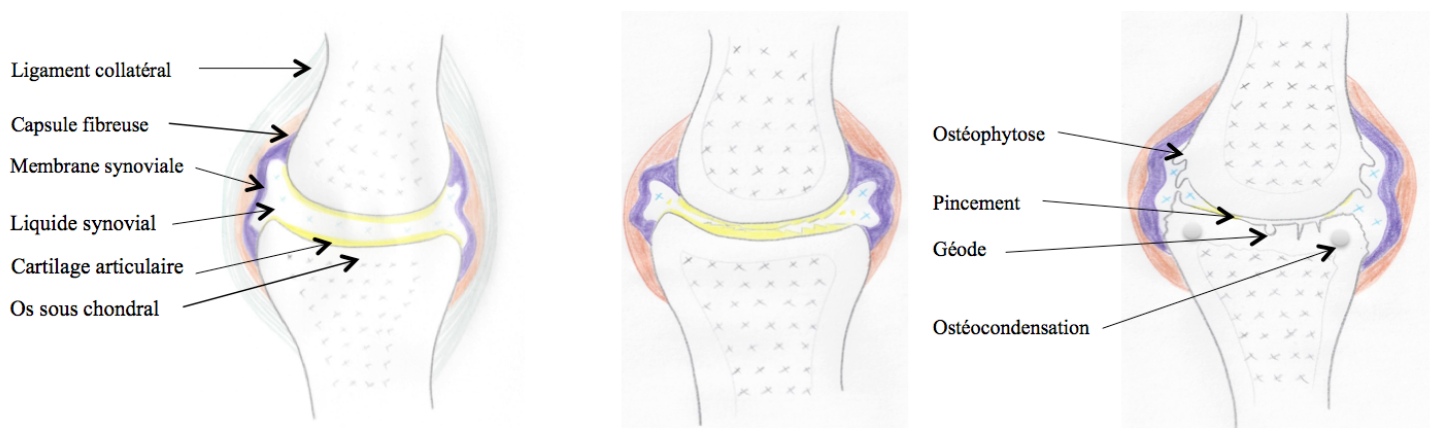


Figure 9 - Évolution de l'arthrose d'après Grangé, 2007

L'arthrose correspond à une dégradation progressive du cartilage jusqu'à apparition de fissures, d'un remaniement de l'os sous chondral associé à l'apparition de géodes, ainsi qu'un développement d'ostéophytes sur les zones non portantes. À terme un pincement articulaire va apparaître, puis une disparition progressive de l'espace articulaire.

2. Modifications de la composition du liquide synovial – Altération des propriétés lubrifiantes

Un défaut de sécrétion d'un des trois composants essentiels du liquide synovial peut participer à l'érosion cartilagineuse. Par exemple, l'IL-1 diminue la sécrétion de lubricine par les chondrocytes et le TGF- β augmente sa sécrétion.

Lors d'arthrose, est observée dans le liquide synovial : (Blewis, 2010)

- une augmentation de certaines cytokines (IL-1, IL-17, IL-32, TGF- β et TNF- α)
- une diminution de la concentration en acide hyaluronique et en SAPLs (*Surface active phospholipids*, bicouches lipidiques autoassemblées intervenant dans la composition du liquide synovial).

En plus du facteur quantitatif, un facteur qualitatif intervient : l'altération structurelle de l'acide hyaluronique (HA) par diminution de son poids moléculaire sous l'effet de cytokines ou d'hyaluronidases d'origine phagocytaire ou bactérienne entraîne une fluidification du liquide synovial et une non-formation des complexes HA-phospholipides à l'origine d'une augmentation des frictions entre les surfaces articulaires, responsable ainsi de la dégradation du cartilage articulaire.

La composition du liquide synovial peut également être altérée par la modification de la perméabilité membranaire. Certaines cytokines, mais aussi l'étirement de l'articulation peuvent modifier la composition du liquide synovial en altérant la perméabilité de la membrane synoviale. Les molécules de haut poids moléculaire par exemple le fibrinogène ne franchissent pas la membrane synoviale à l'état physiologique ; c'est pourquoi le liquide synovial ne coagule pas. Lors d'altération de la membrane synoviale par un processus inflammatoire, du fibrinogène peut être présent dans le liquide synovial, d'où la formation de flocons de fibrine au sein de l'articulation, associée à la coagulation du liquide synovial.

3. L'épanchement articulaire

L'épanchement articulaire apparaît comme conséquence de la synovite : le flux sanguin augmente et les protéines plasmatiques fuient vers le secteur extravasculaire. Ces phénomènes sont associés à une augmentation de la production du liquide synovial.

Bien qu'une synovite modérée puisse avoir un effet positif sur la nutrition du cartilage articulaire, une synovite sévère entraîne un épanchement synovial, délétère pour la fonction

articulaire. De plus, ce degré d'épanchement peut conduire à une fibrose de la capsule articulaire, qui à son tour, affecte la fonction articulaire, provoquant ainsi une boiterie mécanique (Carmona, Prades 2009).

4. Quels sont les différents facteurs à l'origine du maintien ou de l'altération du phénotype articulaire des chondrocytes ?

La dégradation du cartilage articulaire résulte d'un manque de la part des chondrocytes à assurer l'homéostasie entre la synthèse et la dégradation de la matrice. Au fur et à mesure de l'évolution de l'OA, les processus cataboliques prennent le dessus sur les processus anaboliques ; entraînant ainsi la perte du cartilage articulaire et la formation d'ostéophytes (Martel-Pelletier et al. 2008). La réaction inflammatoire impliquant la membrane synoviale est souvent présente comme nous avons pu le voir précédemment.

Il a été montré plusieurs fois (van der Kraan 2012) que c'étaient les chondrocytes eux-mêmes qui participaient à cette dégradation via la synthèse d'enzymes de dégradation de la matrice extracellulaire ; on parle même de « chondrolyse chondrocytaire ou *chondrocytic chondrolysis* ». Or nous avons vu précédemment que ces chondrocytes étaient à l'origine du maintien homéostatique dans un cartilage sain. Se pose donc la question de savoir s'il existe un changement du phénotype des chondrocytes lors d'une altération du cartilage.

Lors d'une altération du cartilage, certaines études (Gelse et al. 2012) confirment que l'expression des gènes par les chondrocytes est dirigée vers une activité ostéophytique avec synthèse de BMP-8B (*Bone morphogenetic protein*), de sclerostine et de Runx2. Par ailleurs, l'expression de certaines enzymes à l'origine d'un remaniement tissulaire est également plus élevée lors d'un processus ostéophytique (MMP-9 et MMP-13).

En contrepartie, si nous nous intéressons à l'expression génétique des chondrocytes dans une articulation saine, nous nous rendons compte qu'il existe une synthèse plus élevée d'inhibiteurs des BMPs et des « wnt-signaling pathways ». Par exemple, l'inhibiteur « BMP gremlin » est le gène ayant la plus grande expression au sein d'une articulation saine par rapport à une articulation présentant des ostéophytes. Une expression élevée en « BMP gremlin » suggérerait un blocage du signallement des BMPs dans le cartilage articulaire, inhibant ainsi la différenciation finale des chondrocytes (van der Kraan 2012).

Ainsi, un blocage de cette expression et une concentration élevée en BMPs seraient à l'origine d'une dégradation de la matrice et de la levée d'inhibition sur l'ossification sous chondrale des chondrocytes.

5. Quel est le rôle de l'inflammation dans l'OA ?

Bien qu'une grande partie des patients atteints d'OA présente une inflammation de l'articulation atteinte, le rôle de l'inflammation dans le développement et la progression de l'OA n'est pas encore élucidé à ce jour (van der Kraan 2012).

Il a été rapporté que les protéines du système du complément sont différemment exprimées dans le liquide synovial des patients atteints d'OA par rapport au liquide synovial sain (Mobasher 2012; Wang et al. 2011). Il a également été montré que la membrane synoviale contribue également à l'activation importante du complément dans la pathogenèse de l'OA.

Les auteurs ont par ailleurs étudié le rôle du complément dans un modèle de souris atteintes d'OA induite par ménisectomie médiale, en comparant des souris déficientes en C5 et des souris sauvages.

Pour rappel, le complément est un ensemble de protéines plasmatiques et membranaires s'activant par une cascade de protéolyses enzymatiques et participant à la réponse immunitaire innée non spécifique. Différentes voies sont à l'origine de la cascade d'activation du complément : la voie classique, la voie des lectines et la voie alterne. Les principales protéines du complément sont notées de C1 à C9 ; C3 étant le pilier de chacune des voies d'activation du complément, et C5 étant le pilier de la voie finale commune. L'activation de la voie finale commune aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire (*Membrane Attack Complex*, MAC) qui détruit la cible par lyse osmotique. Le complément a pour objectif la lutte contre les agents infectieux, l'élimination de complexes immuns et le contrôle de la réponse immunitaire adaptative.

Les résultats de l'étude mentionnée plus haut (Wang et al. 2011) ont montré que les souris déficientes en C5 ont été protégées contre l'arthrose et ont montré 16 semaines après la chirurgie une quantité moindre de lésions du cartilage, une synovite moins marquée et une diminution de la formation d'ostéophytes par rapport aux souris témoins. En revanche, chez les souris déficientes en CD59a, un inhibiteur du complexe d'attaque membranaire (MAC), l'arthrose développée était plus sévère et la synovite plus prononcée que chez les souris témoins. Ces données indiquent un rôle important de l'activation du complément dans la pathogenèse de l'arthrose.

Les composants libérés dans la MEC du cartilage ou exposés au cartilage arthrosique peuvent déclencher la cascade du complément. La dérégulation de l'expression des gènes dans les tissus articulaires peut contribuer à une prépondérance locale d'effecteurs du complément par rapport aux inhibiteurs de l'arthrose, ce qui permet l'activation du complément sans aucun contrôle. L'activation du complément entraîne à son tour à la formation de MAC dans les chondrocytes, qui tuent les cellules ou les conduisent à produire des enzymes dégradant la matrice, des médiateurs de l'inflammation, et d'autres effecteurs du complément, favorisant ainsi la pathologie articulaire.

Par ailleurs, l'inflammation de la membrane synoviale présente lors d'OA serait due à une réaction de cette membrane synoviale aux différents produits de dégradation de la matrice cartilagineuse (Garcia 2013). Les synoviocytes de type A sont alors activés, ce qui stimulerait à leur tour les synoviocytes de type B et les chondrocytes via l'IL-1. Ces deux derniers types de cellules libèreraient des enzymes cataboliques, des métalloprotéinases et des médiateurs pro-inflammatoires – notamment la PGE₂ via l'expression de la phospholipase A et de la cyclooxygénase-2 à partir de phospholipides membranaires. Ces médiateurs pro-inflammatoires augmentent la dégradation du cartilage, et stimulent ainsi la libération d'éléments pro-inflammatoires ; à l'origine du cercle vicieux, et donc d'une dégradation massive du cartilage.

Un rôle important a été donné aux macrophages synoviaux par leur capacité à promouvoir l'inflammation lors d'OA via les IL-6 et IL-8 et certaines métalloprotéinases (Bondeson et al. 2010)

6. Nocicepteurs et substance P

Le cartilage est non innervé : il n'est donc pas directement à l'origine de la douleur, contrairement à l'os sous-chondral, le périoste, la membrane synoviale, les ligaments et la capsule articulaire qui sont richement innervés (Carmona, Prades 2009).

Il existe deux types de stimuli : les stimuli mécaniques (dus aux changements mécaniques de l'articulation) et les stimuli chimiques (dus à l'inflammation directement). Ces stimuli

agissent sur quatre types de nocicepteurs, différents selon la localisation au sein de l'articulation.

- Le réseau primaire de nocicepteurs est composé de mécanorécepteurs polymodaux et ce réseau primaire est localisé dans la capsule articulaire. Les types de récepteurs I, II, et III y prédominent. Les mécanorécepteurs sont sensibles à la déformation mécanique, à une pression soutenue et les récepteurs polymodaux sont sensibles à la douleur, mais aussi à la température.
- Les os sous-chondraux et la membrane synoviale ont quant à eux une distribution plus discrète de nocicepteurs de type IV (terminaisons amyéliniques), qui jouent un rôle important dans la perception de la douleur chez les patients souffrant d'arthrose.

Les nocicepteurs de type IV sont stimulés par le lactate, les ions potassium, les quinines, la sérotonine, la PGE₂, et l'histamine. Ces stimuli aboutissent à la production de plusieurs tachykinines (par exemple, la substance P, la neurokinine A, le neuropeptide Y), le peptide relié au gène calcitonine (autre médiateur de la douleur), le peptide vasoactif intestinal, et d'autres substances. Ces substances stimulent la libération de médiateurs inflammatoires qui perpétuent la réponse inflammatoire. Cette cascade d'évènements est appelée « inflammation neurogène ».

La substance P est le neuropeptide principal lié à l'inflammation du cartilage articulaire. La substance P et d'autres neuropeptides ont été localisés dans la subintima synoviale des chevaux sains et dans celle des chevaux atteints d'OA. La substance P intensifie le catabolisme articulaire et l'inflammation synoviale en activant l'IL-1, les MMPs, et la PGE₂. La substance P produit également une hyperplasie synoviale, une vasodilatation locale, et l'extravasation des leucocytes et des protéines dans les zones innervées. Les résultats d'une étude portant sur un modèle d'arthrose canin suggèrent que l'antagonisme de la substance P avec un analogue de l'anticonvulsivant gabapentine réduit la synthèse des MMPs 1, 3 et 13 et de l'iNOS sans provoquer d'effet indésirable systémique (Boileau, Martel-Pelletier, Brunet 2005). Ces résultats suggèrent que la substance P peut être une cible thérapeutique dans le traitement de l'arthrose.

D. Bilan sur la physiopathologie de l'arthrose et les principales cytokines mises en jeu

L'arthrose est sans doute initiée sous l'influence de plusieurs facteurs de risque combinés à une susceptibilité propre du cartilage à développer l'arthrose. Le stress mécanique qui peut être une tension, une compression, un cisaillement ou un étirement agit donc à deux niveaux : directement sur le chondrocyte et sur la structure physique du cartilage.

Le stress mécanique peut donc agir directement sur la structure physique du cartilage au niveau de la trame fibrillaire et de l'os sous chondral. Des pressions anormales sur des fibres fragilisées peuvent rompre la trame collagénique et permettre une expansion anormale des protéoglycanes et donc une hyperhydratation du cartilage.

Ce cartilage hyperhydraté va donc perdre ses caractéristiques biomécaniques. La teneur en acide hyaluronique va diminuer, les agrégats de protéoglycanes se dépolymérisent, la taille des monomères eux-mêmes diminue. L'élasticité du tissu cartilagineux se réduit : il va moins bien amortir les pressions sur l'os sous-chondral. Les chondrocytes, sous l'influence de facteurs de croissance issus de la membrane synoviale et de l'os sous-chondral se différencient en chondrocytes matures et s'hypertrophient comme nous avons pu le voir précédemment. Ce mécanisme est alors à l'origine d'une ostéophytose réactionnelle.

Il a été admis (Neumann et al. 2008) que ce mécanisme serait une conséquence du remaniement de l'os sous chondral qui interviendrait comme une tentative de réparation de la trame osseuse. Enfin, ces ostéophytes sont un frein à l'amplitude de l'articulation, les mouvements se voient donc réduits. De plus, la fracture de ces ostéophytes, fréquemment observée, va léser directement le cartilage par friction et est à l'origine du déclenchement de la cascade inflammatoire. Les ostéophytes sont donc à l'origine de l'entretien et de l'autoaggravation de la maladie.

La destruction du cartilage aboutit donc à la libération de ces fragments cartilagineux, mais également à la libération des produits de dégradation (IL-1 et PGE₂). Ces derniers vont alors entraîner la synovite et l'activation des synoviocytes, à l'origine d'une sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires et cataboliques (IL-1, TNF α , PGE₂ et MMPs principalement). L'activation de ces facteurs procataboliques va contrebalancer l'équilibre métabolique du cartilage. L'activité anabolique du cartilage, engendrée par les IGFs et le TGF- β n'est plus

suffisante pour pallier les conséquences des facteurs procataboliques. Ainsi, en cas d'OA, l'équilibre fragile « catabolisme/anabolisme » permettant la fonction articulaire est rompu.

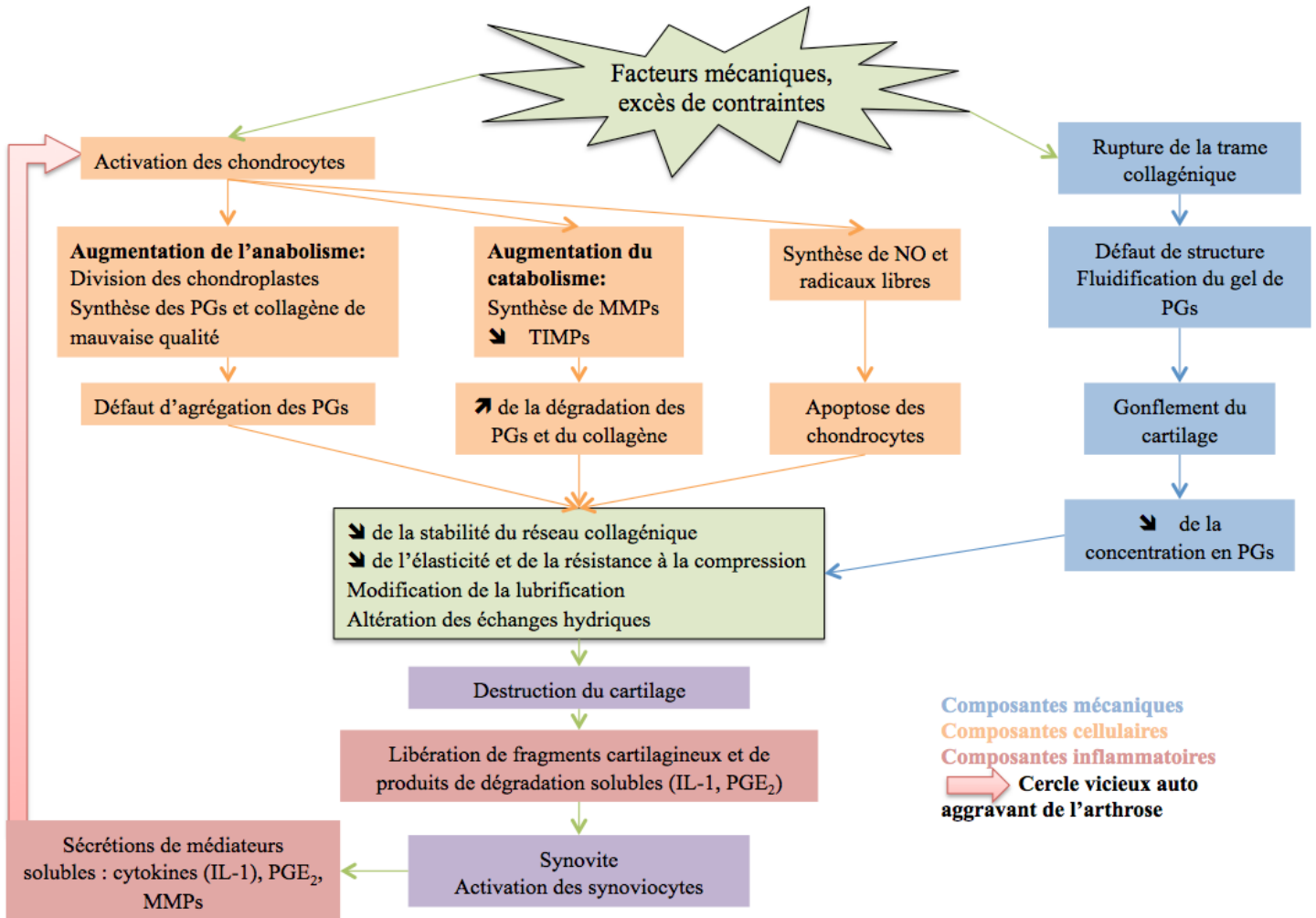


Figure 10 – Bilan des différents phénomènes intervenant dans l'arthrose d'après Grangé, 2007

L'arthrose est sous l'influence de plusieurs facteurs de risque combinés à une susceptibilité propre du cartilage à développer l'arthrose. Le stress mécanique qui peut être une tension, une compression, un cisaillement ou un étirement agit donc à deux niveaux : directement sur le chondrocyte et sur la structure physique du cartilage en créant une rupture de la trame collagénique. À la suite d'une activation des chondrocytes, plusieurs phénomènes cellulaires vont être à l'origine d'un défaut d'agrégations des protéoglycanes (PGs) associé à une augmentation de leur dégradation, ainsi que celle du collagène. L'apoptose des chondrocytes va s'associer à ces événements. La rupture de la trame collagénique va également être à l'origine d'une diminution de la concentration en PGs. Ainsi, par tous ces phénomènes il en résultera une destruction du cartilage par diminution de la stabilité du réseau collagénique et de l'élasticité et de la résistance à la compression, une modification de la lubrification et une altération des échanges hydriques. Cette destruction du cartilage va donc entraîner une synovite et une activation des synoviocytes par libérations de produits de dégradation. Une sécrétion de médiateurs pro-inflammatoire en résultera donc, à l'origine du cercle vicieux auto-aggravant de l'arthrose.

2^e partie : DONNÉES ACTUELLES SUR LES TRAITEMENTS UTILISÉS CONTRE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL ET LIMITES DE CEUX-CI

L'ostéoarthrose (OA) est l'une des affections les plus courantes chez le cheval de course entraînant une diminution de la performance, voire un arrêt de l'activité sportive (Goodrich, Nixon 2006). Comme vu précédemment, il s'agit d'une maladie dégénérative caractérisée par une destruction progressive du cartilage, un remaniement de l'os sous-chondral, une synovite secondaire à la dégénérescence du cartilage articulaire, la formation d'ostéophytes, pouvant aller jusqu'à la perte de la fonction articulaire (Carmona, Prades 2009; Ross, Dyson 2010). Un cercle vicieux dégénératif se met alors en place.

À l'heure actuelle, aucun traitement ne permet de « guérir » l'arthrose. Le réel challenge va être de contrôler l'inflammation aiguë et la douleur dans un premier temps, mais surtout de contrôler le phénomène dégénératif à long terme en arrêtant ce cercle vicieux.

I. INJECTION INTRA-ARTICULAIRE DE GLUCOCORTICOÏDES ET ADMINISTRATION PAR VOIE GÉNÉRALE D'ANTI-INFLAMMATOIRES NON STÉROÏDIENS ET DE BISPHOSPHONATES

A. Les injections intra-articulaires de glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes (GC) sont des corticostéroïdes ayant une action sur le métabolisme protidique et glucidique. Les GC physiologiques sont la cortisone et le cortisol (encore appelé hydrocortisone). Il existe différents GC de synthèse : à effet court (prednisone, prednisolone, méthylprednisolone), à effet intermédiaire (triamcinolone, paraméthasone) ou encore à effet prolongé (bétaméthasone, dexaméthasone), il s'agit des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).

Dans les tissus cibles, les GC se fixent sur des récepteurs intracellulaires dont l'activation aboutit à la régulation de gènes spécifiques. La réponse physiologique au sein d'une cellule sensible passe donc par l'induction ou la répression d'une synthèse protéique. Les GC permettent donc la modulation de l'expression des gènes cibles après pénétration au sein du noyau de la cellule cible.

L'activation du récepteur des GC induit la synthèse de la licoportine, protéine qui inhibe la phospholipase A2 (PAL2), enzyme permettant la transformation des phospholipides membranaires en acide arachidonique. En inhibant la phospholipase A2, les acides gras tels que l'acide arachidonique, ne peuvent plus être oxygénés par la COX et la lipoxygénase, deux enzymes à l'origine de la formation des eicosanoïdes : les leucotriènes et les prostanoïdes (Figure 11, p74). Ce blocage conjoint de la production des prostanoïdes et des leucotriènes pourrait expliquer, au moins en partie, la supériorité des effets anti-inflammatoires des AIS par rapport aux AINS, qui ne bloquent que la formation des prostanoïdes (Goodrich, Nixon 2006; Maurin 2010).

De plus, l'activation du récepteur des GC induit également la répression de nombreuses cytokines, notamment de l'IL-1 β , cytokine considérée comme le médiateur le plus important dans la dégradation du cartilage, et du TNF α (McILWRAITH 2010). La répression des collagénases et de la stromélysine (enzymes impliquées dans la destruction du cartilage dans les arthropathies inflammatoires) est également induite par l'activation du récepteur des GC (Goodrich, Nixon 2006). Les GC inhibent notamment le NF- $\kappa\beta$ (Nuclear Factor $\kappa\beta$) en augmentant la production d'une protéine qui bloque spécifiquement NF- $\kappa\beta$ (Goodrich, Nixon 2006). Comme vu précédemment, NF- $\kappa\beta$ a un rôle majoritaire dans la production de cytokines inflammatoires : l'inhibition de cette molécule diminue donc considérablement l'inflammation (Goodrich, Nixon 2006; Maurin 2010).

Par ailleurs, les GC sont également à l'origine d'une diminution de l'activité des macrophages, une diminution des lymphocytes circulants et une augmentation des polynucléaires neutrophiles circulants (Maurin 2010).

1. Effets sur le cartilage

Il existe de nombreux rapports décrivant les effets délétères des corticostéroïdes sur le cartilage (Goodrich, Nixon 2006). Ces effets incluent: la diminution de la taille des chondrocytes, la perte de GAG ainsi que la diminution de leur synthèse, mais aussi l'inhibition de la synthèse de protéoglycanes, et la nécrose des chondrocytes. Dans plusieurs études de modèles d'inflammation articulaire chez le cheval, les corticostéroïdes améliorent les signes cliniques; mais une dégénérescence du cartilage articulaire et une nécrose osseuse locale ont été observées histologiquement (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996).

Une hypothèse sur ces résultats serait qu'il s'agisse de la forte concentration et de l'exposition prolongée utilisée dans les études antérieures qui engendreraient les effets néfastes des GC sur le cartilage.

Certaines études sur les corticostéroïdes ont montré les effets à la fois sur les GAG et la synthèse d'ADN dans une culture de chondrocytes lorsque des doses plus «physiologiques» ont été utilisées (Goodrich, Nixon 2006). L'utilisation de petites doses d'hydrocortisone dans des chondrocytes humains arthrosiques a également montré une inhibition de la synthèse de métalloprotéinases et du catabolisme des protéoglycanes (Pelletier, Cloutier, Martel-Pelletier 1989). Plus récemment, Wu et. al ont montré que la déhydroépiandrostérone joue un rôle protecteur contre la dégradation du cartilage et contre l'inflammation synoviale chez les lapins atteints d'arthrose. Ce rôle peut être atteint grâce à la régulation de la MMP-3, du TIMP-1, et de l'expression du gène IL-1 β dans le cartilage et la synoviale (Wu et al. 2006). Huebner et. al ont également montré que la dexaméthasone diminue l'inflammation des articulations et la dégradation des tissus articulaires en diminuant l'expression de la MMP-13, du bFGF, de l'IL-8 et en induisant une diminution de l'expression des MMP-3 et du TGF β ⁷ (Huebner, Shrive, Frank 2014).

Par conséquent, la sagesse conventionnelle de la littérature récente suggère des effets bénéfiques lorsque les GC sont utilisés judicieusement.

Se pose ensuite la question du rôle de la reprise d'activité lors d'utilisation de GC chez le cheval.

Voici un extrait de la thèse d'A. GUEZENNEC intitulée « Gestion pratique de la douleur chez le cheval » (Guézennec 2006) concernant la reprise d'activité suite à une injection IA de GC :

« L'usage intra-articulaire des corticoïdes doit se faire de manière aseptique, après s'être assuré de l'absence de fracture, et le cheval ne doit pas travailler trop fort le mois suivant, sous peine d'aggraver les lésions. Cependant, il convient de préciser que des études menées sur certaines molécules tempèrent ces considérations générales sur l'effet délétère des AIS sur le cartilage, notamment lorsque les chevaux sont travaillés rapidement après le traitement. En effet, une étude in vivo réalisée sur des modèles de

⁷ MMP : Métalloprotéinase matricielle, TIMP-1 : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1, IL : Interleukin, bFGF : basic Fibroblast Growth Factor, TGF β : Transforming Growth Factor

fragmentation osseuse du carpe n'a pas mis en évidence d'effet délétère de l'injection intra-articulaire de bétaméthasone (2 doses de 15 mg à 20 jours d'intervalle) sur le cartilage des chevaux travaillés après le traitement (2 minutes de trot, 2 minutes de galop, puis 2 minutes de trot) (Foland et al. 1994).

Enfin, une étude similaire menée avec l'acétate de triamcinolone suggère que cette molécule aurait même un effet chondroprotecteur. Deux injections de 12 mg de triamcinolone à 15 jours d'intervalle dans des carpes sains et atteints d'ostéochondrose furent réalisées avant une mise à l'entraînement sur tapis roulant. Deux mois et demi après le traitement, les chevaux traités présentaient une augmentation de concentration intra-articulaire en acide hyaluronique en comparaison des chevaux témoins (Robinson, Sprayberry 1998). Si ces études ne mettent pas en évidence d'altération du cartilage chez des chevaux mis au travail après le traitement, certains auteurs conseillent cependant de laisser le cheval 8 à 10 jours au box avant de reprendre progressivement le travail sur une semaine (Robinson 2008). »

Un autre point soulevé par la littérature est l'apparition d'une synovite induite par cristallisation des corticoïdes au sein de l'articulation. Certains corticoïdes se présentent sous forme de suspension contenant des microcristaux renfermant la molécule sous forme de prodrogue, dont le but est de retarder le relargage du produit utilisé. Ces cristaux sont alors intégrés aux chondrocytes et aux leucocytes, puis une fois le glucocorticoïde libéré hors de la sphère, il se lie à un récepteur cytoplasmique (Pinoteau 2014). Ces microcristaux se concentreraient préférentiellement dans les chondrocytes ostéoarthritiques plutôt que dans les chondrocytes sains (Pelletier, Cloutier, Martel-Pelletier 1989). En 1986 est apparu le concept de « synovite microcristalline » : ces cristaux seraient considérés comme des corps étrangers provoquant alors une réaction inflammatoire (Autefage, Alvinerie, Toutain 1986).

Localement, l'articulation infiltrée apparaît chaude, oedématiée et douloureuse. Cette inflammation est le plus souvent transitoire (quelques heures), mais peut durer jusqu'à quelques jours. Elle est a priori sans incidence et une persistance des symptômes doit faire penser à une éventuelle arthrite septique (Harkins, Carney, Tobin 1993). Il semblerait qu'une inflammation de la membrane synoviale subsiste à cause de l'activité phagocytaire des synoviocytes, dirigée vers les microcristaux de la suspension de corticostéroïdes (Carter et al. 1996). L'incidence de cette complication serait toutefois diminuée avec l'utilisation des formes longue action d'esters ramifiés (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996). Les esters ramifiés sont par exemple l'acétate ou succinate de méthylprednisolone, les dexaméthasones estérifiées

(exemple : Drexadreson® qui est un dexaméthasone estérifié avec un phosphate disodique) ou encore l'acétate de triamcinolone. L'acétate de méthylprednisolone est une forme insoluble lente contrairement au succinate de méthylprednisolone qui est une forme soluble rapide.

2. L'acétate de méthylprednisolone (AMP)

L'AMP est un corticostéroïde couramment utilisé chez les chevaux. De nombreuses études ont été réalisées pour observer les effets bénéfiques et néfastes de l'AMP sur le cartilage, l'os sous-chondral, et le synovium (Caron et al. 1996; Farquhar et al. 1996; MacLeod et al. 1998; McILWRAITH 2010). Parmi les effets bénéfiques, l'AMP minimise la transcription de molécules nocives telles que l'IL-1 β , la MMP-13 (collagénase 3) et d'autres cytokines à l'origine de la dégénérescence de la matrice. Les effets néfastes de l'AMP sont l'induction de la nécrose des chondrocytes, l'inhibition de la structure protéique à la base des protéoglycanes (*core protein*) et l'inhibition de la synthèse de procollagène (Goodrich, Nixon 2006).

Dans sa publication de 2010, McIlwraith fait référence à une étude réalisée sur 8 chevaux traités avec une injection IA de 120mg d'AMP une fois par semaine durant 8 semaines au niveau des articulations radio-carpiennes et intercarpienne de l'antérieur droit. Une diminution de la population de GAG a été observée au sein du cartilage articulaire, associée à une nécrose des chondrocytes, une hypocellularité et une fibrillation du cartilage articulaire (McILWRAITH 2010). Il rapporte que la teneur en protéoglycanes du cartilage articulaire a été réduite de 56,52% par rapport au contrôle. McIlwraith précise à juste titre que les doses utilisées dans cette étude sont très supérieures à celles recommandées (une seule injection de 40 à 100mg et non 8 injections de 120mg comme utilisée ici). Il s'agirait donc en réalité de l'action répétée d'injection d'AMP qui serait la cause d'une dégradation de l'intégrité articulaire. En effet, McIlwraith présente dans son étude bibliographique un travail réalisé par Murray et. al en 2002 faisant référence à l'utilisation de 100mg d'AMP 4 fois à 15 jours d'intervalle, aboutissant à une dégradation du cartilage articulaire (mais sans atteinte de l'intégrité de l'os sous-chondral ni de l'os spongieux). Dans cette même étude bibliographique (McILWRAITH 2010), McIlwraith précise qu'une seule injection d'AMP ne cause pas d'effet néfaste sur la qualité de la réparation tissulaire à long terme (sur 180 jours).

La dose de l'AMP à utiliser doit donc se faire selon l'équilibre délicat entre l'inhibition de l'inflammation avec des effets bénéfiques globaux sur l'articulation et la destruction de la matrice associée aux perturbations du métabolisme normal des chondrocytes. Des études sont en cours pour déterminer quel niveau d'AMP inhibe la cascade dangereuse de l'inflammation

tout en préservant l'environnement articulation normale. Il semble que «des doses plus faibles» entre 10 et 40 mg par articulation inhibent l'inflammation tout en préservant l'environnement articulation normale (Farquhar et al. 1996; Murphy et al. 2000; Todhunter et al. 1996).

D'autres études cliniques sont donc nécessaires pour définir avec plus de précision la dose optimale d'AMP à utiliser chez le cheval.

3. Bétaméthasone

Comme l'AMP, le bétaméthasone est considéré comme un GC ayant une durée d'action intermédiaire à longue.

Dans une étude clinique, le bétaméthasone a été administré à une dose de 15,9 mg à deux semaines d'intervalle dans les articulations de chevaux à l'exercice ayant des fragments ostéochondraux (Foland et al. 1994). Bien que cette étude suggère des effets bénéfiques principalement pour l'utilisation du bétaméthasone, les praticiens doivent être conscients que les travaux *in vitro* suggèrent encore des effets néfastes potentiels tels que l'inhibition de la synthèse des protéoglycanes.

4. L'acétate de triamcinolone

Les études des effets de faibles doses d'acétate de triamcinolone sur les chondrocytes et la matrice extracellulaire ont fourni des résultats plus qu'encourageants (Frisbie et al. 1997; McILWRAITH 2010; Richardson, Dodge 2003). L'acétate de triamcinolone peut potentiellement inhiber la plupart des molécules néfastes qui résultent de l'inflammation sans effet négatif sur la transcription des gènes de la matrice extracellulaire (Richardson, Dodge 2003). Frisbie *et al.* ont montré que l'administration de 12 mg de triamcinolone deux fois à deux semaines d'intervalle réduit le développement de l'arthrose induite par une fracture de la plaque ostéochondrale. Après ce traitement, les chevaux présentaient une diminution de la boiterie, une diminution du taux de protéines dans l'articulation associée à une augmentation d'acide hyaluronique et de la concentration en GAG dans le liquide synovial. D'un point de vue histologique, la membrane synoviale présentait également une quantité diminuée en cellules inflammatoires, une hyperplasie de l'intima et une fibrose de la subintima (Frisbie et al. 1997). À la lumière de ces résultats, 1-2 mL (6-12 mg) de triamcinolone par articulation devrait être une dose adéquate pour les effets anti-inflammatoires sans effet secondaire délétère pour le cartilage articulaire.

5. Bilan

En résumé, plusieurs points sont à considérer (McILWRAITH 2010):

1) Les corticostéroïdes utilisés en IA sont des agents anti-inflammatoires puissants. Les esters de bétaméthasone (Celestone Soluspan®, Celestène®) n'ont pas d'effet secondaire délétère, l'acétate de triamcinolone (Vetalog®, Kenacort®) est en fait chondroprotecteur, alors que l'acétate de méthylprednisolone (Dépo-Medrol®, Solu-Médrol®) a été montré comme ayant des effets délétères à forte dose.

2) La généralisation sur les effets nocifs des injections IA de corticostéroïdes est inappropriée et la recherche a défini des effets à la fois bénéfiques et néfastes.

3) L'efficacité des injections IA de corticoïdes a été démontrée à moyen terme : à 56 ou 70 jours après un traitement à 14 et 28 jours.

4) L'efficacité prolongée serait due à l'interaction des corticostéroïdes avec les récepteurs cytoplasmiques et initiant une autoactivation de leurs effets.

5) Il existe certaines preuves qu'une période de repos facilite une meilleure absorption et une meilleure efficacité thérapeutique des corticostéroïdes injectés en IA, mais l'exercice ne favorise pas d'effet négatif.

6) Il n'existe aucune preuve à notre connaissance que les corticostéroïdes utilisés en IA causent des dommages au niveau de l'os sous-chondral.

8) Les travaux in vitro ont contribué à définir des doses minimales nécessaires d'acétate de méthylprednisolone

Les effets nocifs des AIS dans une articulation dépendraient alors de la molécule utilisée et également de la dose administrée. En effet, la posologie des AIS n'a pas fait l'objet d'études sur la quantité minimale active. Face aux lacunes des connaissances sur les corticoïdes utilisés par voie intra-articulaire, il est difficile d'établir avec précision les doses, la puissance et leur durée d'action. Dans leur livre traitant des maladies articulaires, McIlwraith et Trotter proposent un classement basé sur leur expérience clinique qui est présenté ci-dessous. Les doses indiquées sont issues de l'« Adam's lameness in the horse» (Baxter 2011).

	Molécule	Dose recommandée par le fabricant (selon taille de l'articulation)	Concentration du produit (mg/mL)	Nom déposé (liste non exhaustive)	Durée d'action	Commentaire
+ puissant	Acétate de bétaméthasone Bétaméthasone phosphate	3-18 mg	6 mg/mL	Celestone Soluspan®	I à L	N'aurait pas d'effet délétère sur l'articulation
	Fluméthasone	1,25-2,5 mg	0,5 mg/mL	Flucort®	L	
	Acétate de triamcinolone	6-18 mg	6 mg/mL	Vetalog®	I	Serait chondroprotecteur
- puissant	Acétate de méthylprednisolone	40-100 mg	40 mg/mL	Dépo-Médrol®	L	Aurait des effets délétères sur le cartilage à haute dose

Tableau 8 – Corticostéroïdes communément utilisés par voie intra-articulaire (Goodrich, Nixon 2006)
C : court, I : intermédiaire, L : long

Concernant les produits utilisables en France, voici un tableau résumant les doses conseillées par :

- l'« Adam's lameness in the horse » (Baxter 2011) (marqué par * dans le tableau)
- le « Guide Pratique de médecine Equine » (Maurin 2010) (marqué par ** dans le tableau)

	Molécule	Dose recommandée (selon taille de l'articulation)		Nom déposé (liste non exhaustive)	Durée d'action	Commentaire
		*	**			
+ puissant	Acétate de bétaméthasone Bétaméthasone phosphate	6-12 mg	4-10 mg	Celestène®	I à L	N'aurait pas d'effet délétère sur l'articulation
	Fluméthasone	1,5-2,5 mg		Cortexilar®	C à I	
	Acétate de triamcinolone	5-15 mg	1-3mg par site, max 18mg	Kenacort®	I	Serait chondroprotecteur
- puissant	SMP AMP	40-100 mg	10-60 mg	Solu-Médrol® Dépo-Médrol® Dépo-Médrol®	I à L Dépo-Médrol® jusqu'à 1 mois	Aurait des effets délétères sur le cartilage à haute dose, dose préférable à utiliser : 10-40mg par articulation selon les articles

Tableau 9 – Corticostéroïdes communément utilisés en France par voie intra-articulaire

* : dose recommandée par l'Adam's lameness in the horse (Baxter 2011)

** : dose recommandée par le Guide Pratique de médecine équine (Maurin 2010)

SMP : Succinate de méthylprednisolone, AMP : Acétate de méthylprednisolone, C : court, I : intermédiaire, L : long

B. Les AINS

L'utilisation des AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien) a commencé il y a plus de 100 ans avec l'introduction d'acide salicylique (plus connu sous le nom d'aspirine®) pour le traitement des maladies rhumatismales. Actuellement, les AINS représentent la classe pharmaceutique la plus utilisée en raison de leurs propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires (Goodrich, Nixon 2006).

Les AINS sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX). La COX ou prostaglandine-endoperoxydase synthase est une enzyme permettant la formation de prostaglandines H_2 , précurseurs de tous les prostanoïdes et de thromboxane A_2 , à partir d'acide arachidonique (Figure 11, p74). Par conséquent, les AINS entraînent l'inhibition de la formation de prostaglandines et de thromboxane (Frisbie, Donnell 2014; Goodrich, Nixon 2006; Lees 2003; Viel, Ben Ammar, Eledjam 2006).

Trois isoenzymes COX sont actuellement connues: COX-1 ou cyclo-oxygénase constitutive, COX-2 ou cyclo-oxygénase inducible et COX-3 dont le rôle est encore mal connu (Viel, Ben Ammar, Eledjam 2006). Le gène de la COX-2 est inducible et possède des sites de fixation pour des régulateurs transcriptionnels. L'expression de la COX-2 est de fait régulée par plusieurs facteurs impliqués dans les phénomènes inflammatoires comme les interleukines 1β , 4, 13 et 10, et le TNF (Frisbie, Donnell 2014; Goodrich, Nixon 2006; Lees 2003). L'activité de la COX-1, nécessaire à l'homéostasie, prédomine dans les conditions physiologiques. À l'inverse, les COX-2 n'ont qu'une faible activité à l'état physiologique et sont responsables de la synthèse de la plupart des prostaglandines produites à la suite d'un processus inflammatoire. Cette production est induite par des médiateurs de l'inflammation, notamment les lipopolysaccharides, les cytokines et le TNF ainsi que par l'hypoxie et/ou l'ischémie localisée. Le gène inducible qui code pour la COX-2 appartient à une famille de gènes qui comprend également le gène inducible de la NO-synthase (iNOS), dont l'activité est également accrue lors des processus inflammatoires (Viel, Ben Ammar, Eledjam 2006). La COX-2 est donc principalement associée à la cascade inflammatoire entraînée par les macrophages et les cellules synoviales (Frisbie, Donnell 2014). Il est à noter par ailleurs que la COX-1 est également inducible lors de processus inflammatoires et que la COX-2 possède également des fonctions à l'état physiologique, ce qui rend complexe la compréhension de ces deux isoenzymes dans les processus inflammatoires. « En résumé, la COX-1 doit être très schématiquement considérée comme une enzyme de régulation homéostatique, tandis que la

COX-2 apparaît comme une enzyme d'adaptation de l'organisme. » (Viel, Ben Ammar, Eledjam 2006).

Dans ces conditions, l'action préférentielle d'un AINS donné sur l'une des deux isoformes de la COX est d'un intérêt primordial. De manière schématique, l'inhibition de l'activité COX-1 est à l'origine d'une inhibition du rôle physiologique des prostaglandines et donc d'un certain nombre d'effets aderses, notamment rénaux, digestifs et hémostatiques. Elle n'est de ce fait pas recherchée à l'inverse de l'effet anti-COX-2 qui est privilégié dans la recherche des effets antalgiques. C'est tout l'objet de la recherche pharmacologique et industrielle actuelle orientée vers la mise à disposition d'AINS anti-COX-2 sélectifs, ou au moins, anti-COX-2 préférentiels. » (Viel, Ben Ammar, Eledjam 2006).

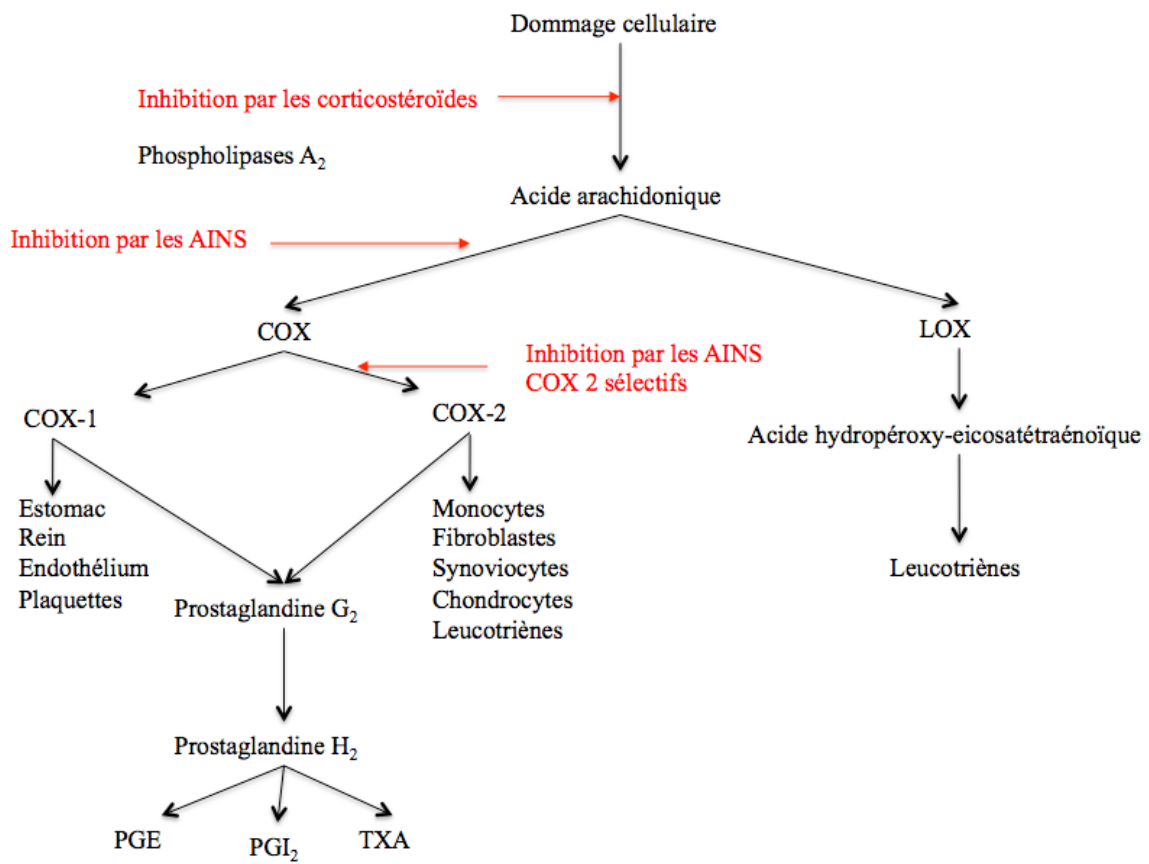


Figure 11 - Schéma représentant l'inhibition de la cascade inflammatoire par les AINS et les corticostéroïdes (Frisbie, Donnell 2014)

Les corticostéroïdes inhibent les phospholipases A₂ : les acides gras tels que l'acide arachidonique ne peuvent donc plus être oxygénés par la COX et la LOX. Cette inhibition est à l'origine d'un blocage conjoint de la formation des prostanoides et des leucotriènes. Les AINS, quant à eux n'agissent qu'en aval par rapport aux corticostéroïdes : ils inhibent la COX seulement. Cette inhibition est donc à l'origine d'un blocage de la formation des prostanoides uniquement.

COX : cyclooxygénase, LOX : lipooxygénase, PGE : Prostaglandine de type E, PGI₂ : Prostaglandine I₂, TXA : Thromboxane A₂

1. Phénylbutazone (PBZ)

1.1. *Pharmacocinétique*

L'efficacité, la disponibilité et le faible coût des PBZ continuent d'en faire l'AINS le plus utilisé chez le cheval. Il est fortement lié aux protéines dans le plasma (> 99%), métabolisé dans le foie, et excrété dans les urines. Lorsque la PBZ est administrée par voie intraveineuse (IV) à la dose de charge recommandée de 4,4 mg/kg, le temps de demi-vie⁸ plasmatique est d'environ 5h30 chez les chevaux et poneys. Cette demi-vie augmente chez les chevaux de plus de 10 ans et diminue chez les poneys et jeunes chevaux. (Goodrich, Nixon 2006).

L'administration orale est la voie la plus utilisée (Equipalazone® chez le cheval). Il est à savoir que la durée du temps d'absorption peut varier en fonction de la quantité de nourriture présente dans l'estomac au moment de l'administration : chez des chevaux à jeun les concentrations plasmatiques maximales peuvent être atteintes en 1 à 6h, contre 13h si le foin est en libre accès. Les concentrations plasmatiques diminuent 6 h après l'administration, mais la demi-vie plasmatique ainsi que la durée de l'action peuvent durer jusqu'à 24 h.

Le délai dopage est estimé à 7 jours après diverses doses sur la base de 8,8mg/kg/j pendant 10 jours (liste FEI).

1.2. *Utilisation*

La PBZ a été utilisée pour le traitement de l'arthrose et des maladies articulaires tout au long des dernières décennies. Bien qu'elle puisse être administrée en IV (Phenylarthrite®) le clinicien doit être conscient des effets irritants périvasculaires de la PBZ.

Une dose d'attaque de 4 mg/kg deux fois par jour est recommandée le premier jour, suivi d'une dose d'entretien de 2 mg/kg matin et soir du 2^e au 5^e jour, puis une dose de 1mg/kg du 6^e au 9^e jour pour la formulation orale (Fauchier et al. 2013). En ce qui concerne la voie IV, la posologie recommandée est de 13,3 mg/kg par jour (Fauchier et al. 2013).

Il y a étonnamment peu de recherches récentes sur les effets cliniques de la PBZ sur les maladies articulaires chez les chevaux compte tenu de sa place prépondérante dans la pharmacopée équine. Il existe cependant plusieurs études controversées sur le rôle de la PBZ dans l'inhibition de la synthèse de protéoglycanes (Goodrich, Nixon 2006). En se basant sur

⁸ « Le temps de demi-vie d'un médicament est le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique diminue de moitié. » - www.pharmacorama.com

l'amélioration clinique de la boiterie, peu d'études ont également été réalisées : (Owens et al. 1996) décrivent un effet significatif sur la boiterie chez les chevaux ayant une synovite induite expérimentalement (Owens et al. 1996) et Raekallio *et al.* ont montré que les effets de la PBZ étaient significativement plus élevés par rapport au kétoprofène (Raekallio, Taylor, Bennett 1997).

1.3. Toxicité

La PBZ ne doit pas être administrée à des quantités supérieures à la dose de charge de 4,4 mg/kg deux fois par jour pendant deux jours, suivie par 2,2 mg/kg deux fois par jour (Goodrich, Nixon 2006). Les doses supérieures à cette recommandation sont toxiques et peuvent entraîner anorexie, neutropénie, hypoprotéïnémie allant jusqu'à la mort selon d'anciennes études (MacKay et al. 1983). Les autopsies des chevaux, poneys et poulains morts à cause d'une dose toxique de PBZ ont révélé une ulcération gastro-intestinale, une nécrose papillaire rénale et une thrombose vasculaire. Une ulcération buccale peut également se produire à la suite d'intoxication locale de PBZ administrée par voie orale (Mackay et al., 1983). Il convient également de noter que les effets toxiques des AINS sont additifs, étant donné que beaucoup ont une capacité commune à inhiber la COX.

2. Flunixinine méglumine

2.1. Pharmacocinétique

Contrairement à la PBZ, la demi-vie de la flunixinine est relativement courte : elle est comprise entre 1,6 et 2,5h (Goodrich, Nixon 2006). Les concentrations plasmatiques maximales sont rapidement atteintes (dans les 30 minutes après l'administration orale si le cheval est à jeun). Toutefois, les concentrations plasmatiques maximales peuvent être prolongées jusqu'à 7,5h chez les chevaux ayant un libre accès à la nourriture. Le fait que les concentrations plasmatiques soient similaires entre l'administration orale et par IV suggère que l'absorption est majoritairement gastro-intestinale.

Le délai dopage est quasiment identique que pour la PBZ, il est estimé à 6 jours après une injection IV à 1mg/kg (liste FEI).

2.2 Utilisation

La flunixinine est utilisée à la dose de 1,1 mg/kg, une fois par jour par voie orale (Finadyne® granulés ou pâte orale) ou en IV (Finadyne® injectable). Le début de l'analgésie se produit

habituellement dans les 2h après administration et peut persister jusqu'à 30h (Goodrich, Nixon 2006). Il est supposé que l'accumulation rapide du médicament au sein des foyers inflammatoires soit responsable de la longue durée d'action par rapport à sa demi-vie courte. La flunixin est également utilisée dans le traitement des problèmes musculo-squelettiques tels que l'arthrose, mais le moindre coût du PBZ justifie le fait qu'il est souvent préféré à la flunixin.

2.3 Toxicité

La flunixin est un AINS relativement sûr avec une toxicité rapportée lorsqu'environ cinq fois la dose quotidienne recommandée de 1,1 mg/kg est administrée (Goodrich, Nixon 2006). Seulement un cheval sur cinq a développé une nécrose de la crête rénale dans une étude de Macallister *et al.*, où cinq chevaux ont reçu 1,1 mg/kg trois fois par jour (deux fois plus que l'administration recommandée) pendant 16 jours (trois fois plus longtemps que la durée recommandée qui est de 5 jours) (MacAllister et al. 1993). L'auteur ne recommande pas personnellement l'injection intramusculaire (IM) de flunixin en raison de cas signalés de myonécroses à *Clostridium* développées après une injection IM, bien que cela ne soit pas strictement associé à la flunixin.

3. Kétoprofène

3.1. Pharmacocinétique

Le kétoprofène existe sous deux formes d'énantiomères (R et S) qui sont rapidement absorbées et éliminées. Il a un faible volume de distribution⁹ et est fortement lié aux protéines plasmatiques (Goodrich, Nixon 2006). Avec une dose recommandée de 2,2 mg/kg chez l'adulte, des études recommandent d'augmenter la dose d'une fois et demie chez les poulains âgés de moins de 2 jours en raison d'un volume de distribution plus grand.

Par ailleurs, dans des modèles de pathologie synoviale équine, il semblerait que l'articulation enflammée serve de site de séquestration pour le kétoprofène pouvant alors conduire à une efficacité améliorée et prolongée dans les articulations enflammées par rapport aux articulations saines (Owens, Kamerling, Barker 1995). De plus, les résultats de cette étude

⁹ Le volume apparent de distribution (Vd) est le volume fictif, exprimé en litres ou en litres par kilogramme, dans lequel se serait distribué le médicament en supposant que sa concentration soit homogène, c'est-à-dire que la concentration tissulaire moyenne soit identique à celle du plasma - www.pharmacorama.com

indiquent que la pharmacocinétique plasmatique peut être modifiée par une inflammation dans les compartiments périphériques tels que les articulations.

Le kétoprofène est limité à une administration IV et IM chez le cheval (Ketofen® 10%).

Le délai dopage est estimé à 4 jours après une injection IV à 2,2mg/kg/j pendant 5 jours (liste FEI).

3.2. Utilisation

Le kétoprofène fournit une bonne à une excellente analgésie en cas de douleur musculo-squelettique, mais son efficacité ne doit pas être considérée comme supérieure à d'autres AINS. Dans un essai clinique d'un modèle de synovite chez le cheval qui a comparé la PBZ au kétoprofène, il a été montré que la PBZ était plus efficace dans le traitement de l'inflammation articulaire aiguë (Owens et al. 1996).

La posologie recommandée du Kétofen® 10% (kétoprofène) est de 2,2 mg/kg/j pendant 3 à 5 jour en IV ou IM (Fauchier et al. 2013).

3.3. Toxicité

Le kétoprofène semble avoir une faible toxicité chez le cheval. Sa marge de sécurité semble être beaucoup plus large que pour les autres AINS comme la PBZ.

Dans une étude réalisée par Macallister *et al.* du kétoprofène, de la flunixin et de la PBZ ont été administrés trois fois par jour (au lieu d'une fois par jour comme recommandé) pendant 12 jours. L'autopsie a confirmé que les chevaux ayant reçu du kétoprofène n'ont pas eu de lésion, à la différence des chevaux dans les deux autres groupes qui ont développés des lésions intestinales et gastriques associées à une nécrose de la crête rénale.

La tendance naturelle du kétoprofène à s'accumuler aux sites d'inflammation aiguë et à se dégrader rapidement au sein de l'organisme peut partiellement expliquer le faible degré de toxicité.

4. Naproxène

4.1. *Pharmacocinétique*

Chez le cheval, la biodisponibilité¹⁰ du naproxène est d'environ 50% et son temps de demi-vie est d'environ 4 à 5h. Les concentrations plasmatiques maximales sont obtenues 2 à 3h après son administration (Goodrich, Nixon 2006).

4.2. *Utilisation*

Le naproxène est habituellement administré par voie orale à la dose de 10 mg/kg, mais peut être également administré par voie IV. Il n'existe pas de formulation disponible en France pour les chevaux (il existe une formulation « granulés » pour les chevaux (Equiproxen®) dont l'administration est de 10 mg/kg une à deux fois par jour).

5. Carprofène

5.1. *Pharmacocinétique*

Le mécanisme d'action du carprofène n'est pas complètement élucidé. Comme le kétoprofène, le carprofène existe sous forme de deux énantiomères, mais possède un temps de demi-vie beaucoup plus long : de 18 à 22h (Goodrich, Nixon 2006).

5.2. *Utilisation*

Le carprofène est administré en IV à la dose de 0,7 mg/kg ou par voie orale à la dose de 1,4 mg/kg (deux fois la dose recommandée) chez le cheval (Goodrich, Nixon 2006). Il n'existe cependant pas de formulation vétérinaire pour chevaux disponible en France.

L'efficacité du carprofène a également été comparée avec celle de la PBZ et de la flunixin dans une étude clinique qui a mesuré la durée d'analgésie postopératoire (Johnson et al., 1993). Le carprofène confère une analgésie suffisante pour 11,7 h, juste derrière la flunixin à 12,7 h, là où la PBZ fournit une analgésie pendant seulement 8,4 h.

Selon certains auteurs, le carprofène peut avoir un rôle dans le traitement de l'arthrose. Des rapports confirment que le carprofène peut retarder la progression de l'arthrose et entraîner une amélioration des symptômes chez le chien (Liesegang, Limacher, Sobek 2007; Monteiro-Steagall, Steagall, Lascelles 2013), mais les études sur le cheval sont limitées.

¹⁰ « La biodisponibilité désigne le pourcentage du médicament administré qui parvient dans le compartiment central.» - www.pharmacorama.com

Contrairement à de nombreux AINS, le carprofène semble avoir des effets potentiellement bénéfiques sur le métabolisme des protéoglycanes des chondrocytes équin (Armstrong, Mow 1982). Le carprofène permet de surmonter les effets inhibiteurs de l'IL-1 sur la production de PGE₂ par les chondrocytes non stimulés par l'IL-1 (Armstrong, Lees 1999). Une autre étude a comparé la libération des protéines inflammatoires au sein d'explants de cartilage équin non traité (témoin), traité avec de l'IL-1 β (10 ng/mL), du carprofène (100 μ g/mL), ou du carprofène (100 μ g/mL) associé à de l'IL-1 β (10 ng/mL) (Williams et al. 2013). Les auteurs ont rapporté que la stimulation à l'IL-1 β augmente la libération des MMP-1, MMP-3 et MMP-13. L'IL-1 β a également stimulé la fragmentation de fibronectine-1 et augmenté la mort cellulaire des chondrocytes. L'ajout de carprofène a significativement diminué la libération des MMPs et l'apparition du fragment de 60kDa de fibronectine-1, sans causer de cytotoxicité détectable des chondrocytes. Les auteurs ont conclu que le carprofène présentait des effets anti-inflammatoires et anti-cataboliques bénéfiques sur le cartilage équin in vitro.

Bien que les effets positifs du carprofène sur l'arthrose aient été démontrés in vivo chez le cheval, le médicament continue à être rarement utilisé, en raison de ses effets indésirables (taux de créatinine sérique élevée), des questions quant à son inhibition sur la COX, et du manque de données cliniques. Si ces résultats in vitro peuvent être répétés chez le cheval, le carprofène pourrait devenir l'AINS de choix dans le futur.

6. Firocoxib

Une étude a été réalisée pour tester l'efficacité de deux formulations de firocoxib sur l'inhibition de la COX (Barton et al. 2014). Cette étude a inclus huit chevaux adultes dont chacun a reçu 57mg de firocoxib une fois par jour pendant 7 jours, soit la posologie recommandée de 0,1mg/kg. Parmi ces huit chevaux : quatre ont reçu 57 mg de pâte Equioxx® (AMM cheval) et quatre ont reçu un comprimé de 57 mg de Previcox® (AMM chien), dissous dans 5mL d'eau associés à 5mL de sirop de maïs dont le but est d'augmenter l'appétence. Les 10 chevaux du groupe témoin n'ont reçu aucun médicament durant ces 7 jours. Le sang a été recueilli une heure avant l'administration de firocoxib le 1^{er} jour. Le 7^e jour, le sang a été prélevé une heure avant et une heure après l'administration de firocoxib. Dans le groupe des chevaux traités au firocoxib une diminution de l'activité de la COX a été mise en évidence, sans différence entre les deux formulations vétérinaires disponibles (Barton et al. 2014). Nous rappelons cependant que dans le respect de la cascade, il est obligatoire

d'utiliser en premier lieu les médicaments ayant une AMM pour l'espèce cible, à savoir dans ce cas présent l'utilisation de l'Equioxx® est prioritaire.

6.1. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique de l'administration par voie orale et IV de firocoxib a été étudiée lors d'administration unique ou multiple chez le cheval (Frisbie, Donnell 2014).

L'administration d'une dose unique de firocoxib à 0,1 mg/kg PO (dose recommandée) a une biodisponibilité de 79%, avec une concentration plasmatique maximale de 75 ± 33 ng/mL à quatre heures et un temps de demi-vie de $30 \pm 7,5$ heures. La concentration maximale de l'administration intraveineuse de la même dose était de $210 \pm 0,05$ ng/mL, avec un temps de demi-vie de 34 ± 11 heures.

Une étude a étudié la pharmacocinétique du firocoxib en administrant une dose d'attaque le premier jour (0,3 mg/kg de pâte orale) puis une dose d'entretien les neuf jours suivants (0,1 mg/kg de pâte orale). La concentration plasmatique moyenne était de 150 ± 45 ng/mL, et la concentration maximale après la dernière dose était de 199 ± 97 ng/mL. Les auteurs de cette étude ont déclaré que «le principal avantage d'inclure une dose de charge est la réalisation de concentration proche de l'état d'équilibre après le premier jour de traitement plutôt que sept jours après le début du traitement. » (Cox et al. 2013)

La longue demi-vie terminale de firocoxib chez le cheval est très probablement le résultat d'un grand volume de distribution, mais aussi d'une faible clairance corporelle totale¹¹. Par rapport à la phénylbutazone, le kétoprofène, et la flunixin méglumine, le firocoxib a un temps de demi-vie terminale de 5 à 30 fois plus long. Ceci est une indication pour dire que le firocoxib a une durée d'action plus longue une fois qu'il atteint une concentration stationnaire par rapport à d'autres AINS.

Par ailleurs, l'intégration d'une dose de charge (0,3 mg/kg) de firocoxib peut diminuer le temps de déclenchement de l'action par rapport à d'autres AINS.

¹¹ «La clairance est la fraction d'un volume théorique totalement épuré (c'est-à-dire ne contenant plus le médicament concerné) par unité de temps. » - www.pharmacorama.com

6.2. Utilisation

Le firocoxib est administré à la dose de 0,1 mg/kg en PO (Equioxx® Pâte orale) ou alors à la posologie de 0,09 mg/kg en IV (Equioxx® Solution injectable). La durée recommandée est celle permettant une amélioration clinique, sans toutefois dépasser 14 jours.

Le temps de détection pour le dopage est estimé à 13 jours (non confirmé sur la liste FEI).

6.3. Toxicité

Peu d'effets indésirables sont signalés à la suite de l'administration orale ou IV de firocoxib lorsqu'il est administré seul à la dose recommandée de 0,1 mg/kg sur une durée de 42 jours (là où les recommandations sont de ne pas dépasser 14 jours de traitement) (Frisbie, Donnell 2014).

Les effets indésirables, tels qu'un œdème de la lèvre, des épisodes mineurs de colique, une légère ulcération buccale ou encore une léthargie ont été décrits chez 4 des 476 chevaux (0,9%). Une autre étude note également la présence de cet œdème labial et lingual associé à une hyper salivation chez 1 cas parmi les 48 chevaux traités (2%) avec la dose recommandée de firocoxib en pâte orale. (Frisbie, Donnell 2014)

L'administration IV de firocoxib a entraîné une inflammation périvasculaire au site d'injection chez les chevaux ayant reçu d'une à cinq fois la dose recommandée.

Avec des effets indésirables relativement faibles, l'utilisation de firocoxib est sécuritaire lorsqu'il est administré aux doses recommandées. En l'absence de rapports sur l'ulcération gastrique comme effet indésirable après une administration prolongée, le firocoxib apparaît être une alternative sûre aux AINS non préférentiels, en particulier chez les chevaux qui sont diagnostiqués ou supposés avoir des ulcères gastriques.

Par ailleurs, l'étude des effets d'une administration conjointe de firocoxib et de phénylbutazone aux doses recommandées (respectivement de 0,1mg/kg et 4,4 mg/kg) pendant 10 jours a signalé une augmentation de la créatinine et des protéines totales au 10^e jour (Kivett, Taintor, Wright 2014). Les résultats indiquent que la co-administration de la phénylbutazone et du firocoxib peut causer une maladie rénale. Cette étude fait également référence comme autres effets secondaires : un changement de comportement, une diminution de l'appétit et de la consistance des crottins, des signes de colique ainsi qu'une ulcération de la muqueuse buccale.

6.4. Comparaison avec les autres AINS

Il a été montré que la COX-1 a un effet protecteur sur la muqueuse gastroduodénale chez les animaux de laboratoire et chez l'homme. Le plus grand degré de lésions de la muqueuse gastroduodénale est généralement provoqué par les AINS qui inhibent préférentiellement la COX-1 (Wallace et al. 1998). D'autres études semblent nuancer ces propos, d'autant plus que l'ulcération gastrique qui a été rapportée comme effet indésirable de la PBZ a eu lieu chez les poneys et les chevaux adultes qui ont reçu plus de deux fois la dose recommandée (10 mg/kg) (MacAllister 1983; MacKay et al. 1983). Une étude placebo a identifié l'effet de la PBZ sur l'expression du gène de la COX-1 et de la COX-2 au niveau de la muqueuse buccale, la muqueuse glandulaire gastrique et l'épithélium vésical chez 12 chevaux sains (Nieto et al. 2012). Nieto *et al.* ont conclu dans cette étude que la COX-2 est exprimée de manière constitutive dans les muqueuses gastriques glandulaires et dans l'épithélium vésical, mais pas dans la muqueuse buccale chez les chevaux sains. L'administration orale de PBZ à la dose maximale recommandée (4,4 mg/kg) pendant 7 jours n'a pas affecté l'expression de la COX-1 ni de la COX-2.

En raison de la possibilité des AINS non préférentiels pour la COX à provoquer une ulcération gastrique, il est actuellement décrit que l'utilisation des AINS COX-2 préférentiels est une alternative sûre aux AINS non préférentiels chez les chevaux.

Nous concluons donc que sans rapport identifiant une ulcération gastrique comme effet néfaste des AINS non préférentiels lorsqu'ils sont utilisés à la dose recommandée, les AINS COX-2 préférentiels ne sont probablement pas plus sûrs que la PBZ ou la flunixin méglumine, sauf lorsque la muqueuse gastrique est déjà compromise.

Concernant l'amélioration clinique, aucune différence significative n'a été observée à 7 jours et à 14 jours entre les 119 chevaux traités avec 4,4 mg/kg de PBZ PO une fois par jour pendant 14 jours et les 123 chevaux ayant reçu 0,1 mg/kg de firocoxib PO une fois par jour pendant 14 jours (Doucet et al. 2008). Une différence a cependant été notée au niveau de la douleur à la manipulation et à la palpation, à la taille de l'articulation et à l'amélioration dans l'amplitude du mouvement : le firocoxib apparaissant comme fournissant de meilleurs résultats bien qu'il n'y ait pas de différence sur l'évolution du degré de boiterie (Doucet et al.

2008). Aucun effet secondaire n'a été souligné dans cette étude, ni pour le firocoxib, ni pour la PBZ.

En conclusion, nous pouvons dire que le firocoxib semble un choix plus judicieux par rapport à la PBZ étant donné qu'il permet certes une amélioration clinique identique, mais aussi une amélioration supérieure de la fonction articulaire.

7. Méloxicam

Le méloxicam, comme le carprofène est bien plus souvent utilisé chez le chien que chez le cheval. L'action inhibitrice COX-2 sélectif du méloxicam par rapport à la PBZ et à la flunixin méglumine est encore discutable de nos jours. Il ne semblerait pas que ni méloxicam ni le carprofène soit plus sélectif que la PBZ et la flunixin méglumine aux concentrations supérieures à l'IC₅₀, concentration inhibitrice médiane (Frisbie, Donnell 2014).

Une étude croisée contrôlée par placebo a identifié les effets du méloxicam sur les biomarqueurs de l'inflammation, sur l'activité des MMP, et sur les biomarqueurs du cartilage chez six chevaux présentant une synovite induite après avoir reçu méloxicam par voie orale (0,6 mg/kg) une fois par jour pendant 1 semaine (de Grauw et al. 2009). Le méloxicam a provoqué une réduction significative de la boiterie à 8h et à 24h post injection et aurait tendance à réduire la synovite. De plus, le méloxicam a diminué significativement la présence des PGE₂ et de la substance P dans le liquide synovial à 8h post injection, de la bradykinine dans le liquide synovial à 24h post injection en comparaison avec le groupe placebo. Les auteurs ont conclu qu'un traitement oral précoce avec du méloxicam améliore non seulement les signes cliniques, mais aussi l'inflammation de l'articulation dans le cas d'une synovite aiguë.

7.1. *Pharmacocinétique*

À une posologie de 0,6 mg/kg, le temps de demi-vie semble être relativement court chez les poulains (2,48 ± 0,25 heures) et chez les chevaux adultes (4,99 ± 1,11 heures) (Frisbie, Donnell 2014).

7.2. *Utilisation*

Le méloxicam doit être administré à une dose de 0,6 mg/kg en PO (Métacam® 15mg/ml Suspension orale pour chevaux) une fois par jour pendant maximum 14 jours ou alors à la

posologie de 0,6 mg/kg en IV (Métacam® 20mg/ml Solution injectable pour bovins, porcins et chevaux).

Le temps de détection pour le dopage est estimé à 3 jours (Liste FEI).

7.3. Toxicité

Bien que les auteurs indiquent qu'il n'y ait pas d'augmentation significative de l'ulcération gastrique par rapport au début de l'étude, ils ont rapporté une augmentation de l'ulcération gastrique chez 4 des 16 (25%) chevaux, et l'un des 16 (6%) chevaux a développé une grave réaction d'hypersensibilité (au 8^e jour) à une dose orale de 0,6 mg/kg pendant 14 jours (de Grauw et al. 2009).

8. Védaprofène

8.1. Pharmacocinétique

Le temps de demi-vie est de 5,8 à 8,3 heures et le védaprofène est rapidement absorbé après une administration orale (Fauchier et al. 2013). Le temps de demi-vie finale est de 6 à 8 heures (Kahn 2005). La biodisponibilité après une administration orale est de 80 à 90%, mais se voit significativement réduite en cas d'administration conjointe avec des aliments (Fauchier et al. 2013).

Le temps de détection pour le dopage est estimé à 14 jours (non confirmé sur la liste FEI).

8.2. Utilisation

Le védaprofène est indiqué pour le traitement de la douleur et de l'inflammation associées aux troubles musculo-squelettiques chez les chevaux à la posologie de 1 mg/kg, deux fois par jour et pour le traitement de la douleur associée aux coliques chez les chevaux à la posologie de 2 mg/kg, IV, en une seule injection.

Le védaprofène est disponible sous forme de gel oral (Quadrisol® Gel oral pour chevaux) dont la dose initiale est de 2 mg/kg toutes les 12 heures, suivi d'une dose d'entretien de 1 mg/kg à administrer toutes les 12 heures, sur une durée maximale de 14 jours (Fauchier et al. 2013).

8.3. Toxicité

Aucune étude ne semble être disponible sur la toxicité du védaprofène. Les effets secondaires annoncés par le fabricant sont : lésions du tractus digestif et saignement, diarrhées, urticaire, léthargie et inappétence (Fauchier et al. 2013).

9. Acide méclofénamique

Bien qu'il soit efficace dans le traitement de la fourbure chronique, l'acide méclofénamique a un indice thérapeutique plus faible que celui des autres AINS.

9.1. Pharmacocinétique

Chez les chevaux, l'acide méclofénamique est rapidement absorbé, mais l'alimentation avant l'administration peut retarder l'absorption. Le début d'action est lent, nécessitant 2 à 4 jours de traitement pour voir apparaître les premières améliorations cliniques (Kahn 2005). Il s'agit d'un inhibiteur non spécifique des COX-1 et COX-2.

Le temps de détection pour le dopage n'est pas connu.

9.2. Utilisation

Voici un extrait du JORF n°0156 du 8 juillet 2010 page 12601, texte n° 107 « Considérant que le médicament DYNOTON PATE ORALE est destiné à l'espèce équine et qu'il contient de l'acide méclofénamique, substance non inscrite dans l'une des annexes du règlement LMR pour cette espèce ; Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments décide : L'autorisation de mise sur le marché de la spécialité DYNOTON PATE ORALE des LABORATOIRES BIOVE est supprimée à compter du 26 mars 2010. »

La posologie recommandée était de 2,2 mg/kg/jour pendant 5-7 jours chez les chevaux.

10. Conclusion

Voici un tableau bilan des principaux AINS autorisés en France

Molécule	Action	Nom déposé	Posologie	Délai dopage	Commentaires
PBZ	NS	Equipalazone®	J1 : 4 mg/kg BID, PO J2-J5: 2 mg/kg BID, PO J6-J9: 1mg/kg BID, PO	7j	Amélioration de la boiterie supérieure qu'avec du kétoprofène Interdit si cheval destiné à la consommation humaine
		Phénylarthrite®	13,3 mg/kg/j		
Flunixin méglumine	Anti-COX-1 P	Finadyne®	1,1 mg/kg SID, PO ou IV Maximum 5j	6j	Plus cher que la PBZ
Kétoprofène	Anti-COX-1 P	Kétofen ®10%	2,2 mg/kg SID IV, IM 3 à 5 jours	4j	Moins efficace que la PBZ Faible degré de toxicité
Naproxène	NS	Non disponible en France	10 mg/kg SID ou BID PO ou IV	Non disponible en France	
Carprofène	Anti-COX-2 P	Pas AMM CV	0,7 mg/kg PO 1,4 mg/kg IV	Non connu	Effet analgésique juste après la PBZ Effet potentiellement bénéfique sur le métabolisme des PB des chondrocytes équin : voie d'avenir ?
Firocoxib	Anti-COX-2 S	Equioxx®	0,09 mg/kg IV 0,1 mg/kg PO SID Maximum 14j	13j	Serait plus sécuritaire Aussi efficace sur l'amélioration clinique que la PBZ Plus efficace sur l'amélioration de la fonction articulaire que la PBZ Intérêt d'une dose de charge
Méloxicam	Anti-COX-2 P	Métacam®	0,6 mg/kg IV 0,6 mg/kg PO SID Maximum 14j	3j	
Védaprofène	Anti-COX-1 P	Quadrisol®	2 mg/kg PO BID le 1 ^{er} jour puis 1 mg/kg PO BID Maximum 14j	4j	
Acide méclofénamique		Dynoton®		Retiré du marché en 2010	

Tableau 10 – AINS communément utilisés en France, liste non exhaustive

PBZ : Phénylbutazone, Anti COX- P : anti-COX- préférentiel, Anti-COX- S : anti-COX- sélectif, NS : non sélectif, PO : Per os, IM : Intramusculaire, IV : intraveineux, SID : une fois par jour, BID : bis in die pour deux fois par jour, PBZ : Phénylbutazone

C. Les bisphosphonates

Les bisphosphonates ont été créés dans les années 1960 comme analogues de pyrophosphates endogènes, produits chimiques qui inhibent la calcification vasculaire (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008). Les bisphosphonates sont considérés comme les inhibiteurs les plus puissants de la résorption osseuse cliniquement disponible chez l'homme (Woo, Adachi 2001). Le représentant de la famille des bisphosphonates chez le cheval est le tiludronate (Tildren®).

1. Mode d'action

Les bisphosphonates ont comme structure chimique de base deux groupes phosphates liés à un atome de carbone et sont divisées en deux catégories sur la base des composantes de leurs chaînes latérales contenant ou non de l'azote. Le tiludronate est dans la catégorie des bisphosphonates non azotés. Les bisphosphonates contenant de l'azote sont plus puissants que la classe non azotée (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

La principale cellule cible des bisphosphonates est l'ostéoclaste mature, bien que certaines études aient montré qu'il existait des effets sur leurs précurseurs et sur les ostéoblastes (Delguste 2008). Les bisphosphonates contenant de l'azote affectent la circulation intracellulaire des protéines régulatrices clés en agissant sur la voie du mévalonate. Cette voie métabolique crée des enzymes qui activent les ostéoclastes et les macrophages. En inhibant la voie du mévalonate, la régulation cellulaire est interrompue, et les ostéoclastes et macrophages sont inactivés et subissent l'apoptose. Les bisphosphonates non azotés, comme le tiludronate, peuvent être incorporés dans des molécules d'adénosine triphosphate (ATP), créant ainsi des analogues non hydrolysables d'ATP, appelées ATP cytotoxiques. Cela peut perturber la phosphorylation d'ATP, perturbant ainsi l'activation et la désactivation des enzymes régulatrices. Les bisphosphonates non azotés agissent donc sur les ostéoclastes par accumulation intracellulaire d'ATP cytotoxiques menant à l'apoptose des ostéoclastes (Delguste 2008; Duesterdieck-Zellmer, Driscoll, Ott 2012; Drake, Clarke, Khosla 2008; Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Le tiludronate a également une action inhibitrice puissante sur les pompes à protons ATP dépendant situées dans la membrane plasmique des ostéoclastes. Les pompes à protons sont nécessaires pour acidifier l'espace entre les ostéoclastes et la surface osseuse. L'acidification de la matrice osseuse est la première étape du processus de résorption osseuse. Par ailleurs, le tiludronate peut perturber l'adhésion des ostéoclastes à la surface de l'os en modifiant la

phosphorylation des protéines du cytosquelette, avant même que les phénomènes de résorption osseuse soient initiés. En influant sur le métabolisme de l'ATP, les pompes à protons, et la phosphorylation, le tiludronate peut entraîner une diminution de l'activité des ostéoclastes conduisant ainsi à une diminution de la résorption osseuse (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Le tiludronate a également été montré comme ayant des propriétés anti-inflammatoires en réduisant la quantité d'oxyde nitrique et de cytokines pro-inflammatoires libérés par les macrophages activés. Comme nous l'avons vu précédemment, l'oxyde nitrique et les cytokines agissent sur les leucocytes et les cellules endothéliales pour promouvoir des réponses inflammatoires, phénomènes initiant l'activation des macrophages (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Une étude in vitro utilisant le tiludronate sur des ostéoblastes a montré que le tiludronate diminue la phosphorylation d'enzymes de régulation induites par les PGE₂. Ces enzymes activent des médiateurs inflammatoires qui provoquent inflammation et douleur dans les circonstances normales (Yoshida et al. 2005). Il a également été montré que le tiludronate était à l'origine d'une inhibition de l'activité de métalloprotéinases matricielles (MMP-1 et MMP-3), molécules clés dans la physiopathologie de l'arthrose (Nakaya et al. 2000).

2. Pharmacocinétique

En 2001, l'Agence européenne des médicaments a compilé un rapport de synthèse sur les principes pharmacologiques de la forme de sel disodique de tiludronate chez le cheval. Le rapport cite la maladie naviculaire, l'arthrose tarsienne distale et les enthésopathies du ligament suspenseur du boulet comme maladies pouvant être traitées avec le tiludronate.

Après l'administration intraveineuse sous forme de bolus, le tiludronate a une demi-vie plasmatique allant de 3,13 à 6,94 heures pour que des doses de 0,05 mg/kg à 0,2 mg/kg chez le cheval. À 96 heures, les plus hauts niveaux de tiludronate ont été trouvés dans les os, avec des concentrations plus élevées chez les mâles par rapport aux femelles. Le foie et les reins contiennent également des taux significatifs de tiludronate à 96 heures, bien qu'ils contiennent respectivement environ 17 fois et 3 fois moins de tiludronate par rapport à l'os. Pour déterminer la dose correcte pour contrer la résorption osseuse chez les chevaux, les études de la résorption osseuse ont été réalisées sur des rats. Lorsque le tiludronate a été injecté à une dose totale de 1 mg/kg administrée en 10 doses quotidiennes de 0,1 mg/kg, les concentrations

du médicament dans l'os à la fin du traitement étaient dans la gamme des concentrations pharmacologiquement actives pour inhiber la résorption osseuse. Il a de plus été montré que l'épuisement du tiludronate présent dans la moelle est lent et le médicament était toujours présente dans l'os 3 à 6 mois après un traitement de 1 mg/kg, mais la signification pharmacologique des concentrations mesurées à cette échelle de temps reste incertain (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Nous retiendrons donc que suite à leur administration, les bisphosphonates se lient fermement à l'hydroxyapatite des surfaces osseuses, provoquant ainsi une phase de clairance initiale rapide du plasma (phase de distribution et d'élimination précoce). Par ailleurs, leur accumulation dans l'os (environ la moitié de la dose absorbée est retenue au niveau osseux (Morales-Piga 1999)) leur confère un très grand volume de distribution. Concernant le tiludronate en particulier, il a été démontré chez l'homme que les bisphosphonates se lient préférentiellement aux sites où le minéral osseux est bien exposé (Lin et al., 1992; Masarachia et al., 1996), soit plutôt dans l'os trabéculaire que dans l'os cortical, ainsi qu'aux sites en cours de résorption.

Les bisphosphonates sont progressivement libérés de leur site de fixation (principalement dans l'os trabéculaire et sur les sites en cours de résorption) lors de la dégradation de la matrice minérale osseuse par les ostéoclastes actifs, sur lesquels ils exercent leur action inhibitrice (Delguste 2008; Morales-Piga 1999). Ils peuvent également être séquestrés dans de l'os nouvellement formé, et rester ainsi stockés sous forme latente pendant des années, ce qui engendre une très longue demi-vie, comparable à celle des minéraux osseux. Les bisphosphonates sont également caractérisés par une biodisponibilité orale très faible (celle du tiludronate chez l'homme est de l'ordre de 5%) une absence de métabolisation et une excrétion par voie quasi exclusivement urinaire (Delguste 2008).

3. Utilisation

3.1. *Chez l'homme*

Les bisphosphonates ont tenu un rôle important dans les maladies osseuses en médecine humaine (principalement l'ostéoporose post-ménopausique chez la femme, la maladie de Paget, les tumeurs osseuses et le myélome multiple).

L'etidronate, premier bisphosphonate non azoté étudié à usage médical, a été utilisé dans le traitement de la maladie de Paget (ostéite déformante) pendant une vingtaine d'années. La

maladie de Paget est caractérisée par un remodelage osseux rapide conduisant à une désorganisation de la structure osseuse, des douleurs osseuses et des fractures pathologiques généralement situées focalement dans le squelette axial (bassin, crâne), mais aussi sur les os longs. Cette maladie est répandue chez les hommes âgés de plus de 50 ans, il s'agit de la deuxième maladie la plus commune de l'os après l'ostéoporose : 3% à 4% des Américains seraient touchés par la maladie de Paget. Trois études différentes comparant l'alendronate, le risédronate, l'etidronate et le tiludronate ont été publiées ensemble dans un article de revue. Bien que la comparaison directe entre tiludronate et l'alendronate ou risédronate ne puisse pas être utilisée à travers ces études, les résultats conduisent à penser que le tiludronate serait moins efficace que l'alendronate et le risédronate pour abaisser la phosphatase alcaline à un niveau normal chez les patients atteints de la maladie de Paget. Par conséquent, le tiludronate à la dose publiée de 400 mg/jour semble être incapable d'empêcher la résorption osseuse chez les personnes atteintes de la maladie de Paget dans la même mesure que les bisphosphonates azotés (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Le tiludronate a également été étudié chez les patientes souffrant d'ostéoporose post-ménopausique, bien qu'il ne s'agisse pas du traitement de choix à l'heure actuelle (les bisphosphonates azotés comme l'alendronate et le risédronate ont été privilégiés à la place).

Par ailleurs, les bisphosphonates auraient une activité antitumorale et anti-métastatique intrinsèque qui dépasse la simple activité anti-résorptive au niveau des métastases osseuses, ce qui élargit considérablement leurs bénéfices en oncologie et suscite un vif intérêt scientifique actuellement (Delguste 2008).

3.2. Chez le cheval

Les recherches utilisant le tiludronate chez le cheval ont commencé il y a environ 10 ans. La grande partie de cette recherche est soutenue par Ceva Santé Animale. Le Tildren® est la forme intraveineuse du tiludronate utilisé chez les chevaux et actuellement autorisé dans huit pays européens: France, Allemagne, Autriche, Italie, Espagne, Luxembourg, Grèce, Norvège et Pays-Bas (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008). L'effet de tiludronate sur la croissance et le remodelage osseux chez les jeunes chevaux n'a pas encore été étudié.

Les résultats cliniques montrent que le tiludronate peut améliorer la boiterie chez les chevaux atteints de la maladie naviculaire et d'arthrose de l'articulation intertarsienne distale (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008). Des résultats encourageants ont été observés 6 mois après le

traitement (Denoix, Thibaud, Riccio 2003), même si aucun résultat à long terme (plus de 7 mois après le traitement) n'est actuellement disponible dans la littérature. Il semble donc encore incertain de savoir si le tiludronate peut potentiellement endiguer ces boiteries.

Étant donné que le tiludronate se concentre dans les os, il est important de se rappeler que son utilisation doit se faire à l'apparition de la maladie osseuse.

L'étude la plus connue de l'effet du tiludronate chez le cheval a été publiée dans l'*Equine Veterinary Journal* en 2003 (Denoix, Thibaud, Riccio 2003). Cinquante chevaux atteints de maladies naviculaires ont été inclus à l'étude, 39 ont reçu 0,1 mg/kg de tiludronate pendant 5 ou 10 jours (la dose totale était donc de 0,5 mg/kg ou 1,0 mg/kg). Les 11 chevaux restants représentaient le groupe placebo. Les cas ont été répartis en deux groupes: maladie aiguë (les signes cliniques ont commencé moins de 6 mois avant l'inscription à l'étude) et chronique (les signes cliniques ont commencé plus de 6 mois avant l'inscription à l'étude).

Chaque cas a été documenté par vidéo, et ni le vétérinaire, ni l'observateur ne savaient dans quel groupe de traitement était le cheval. Les résultats de l'étude ont montré une certaine efficacité du tiludronate à la dose de 1,0 mg/kg. La dose de 0,5 mg/kg avait des scores très similaires à ceux du groupe placebo.

- Les résultats pour le groupe « maladie aiguë » ont montré que 8 chevaux sur les 12 traités avec 1,0 mg/kg (66,7%) présentaient une réponse positive au traitement par rapport à 1 cheval sur 8 (12,5%) du groupe placebo à 192 jours post traitement. 6 des 12 chevaux du groupe traité avec 1,0 mg/kg (50%) et 1 cheval sur les 8 du groupe placebo (12,5%) n'ont pas manifesté de boiterie notable à la fin de l'étude. Cependant, concernant les chevaux présentant une boiterie à la fin de l'étude, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes (non traités/traités à la posologie de 1,0 mg/kg). Par ailleurs, aucune différence n'a été observée entre les groupes ne prenant en compte les paramètres : flexion et extension, clichés radiographiques.
- Les résultats pour le groupe « maladie chronique » n'ont montré aucune amélioration significative avec le traitement à base de 1,0 mg/kg de tiludronate. Certains des chevaux dans ce groupe ont été retirés de l'étude en raison de l'absence d'amélioration,

deux chevaux ont été traités à nouveau avec 1,0 mg/kg de tiludronate, et un cheval a reçu deux doses supplémentaires. Ces trois chevaux traités à plusieurs reprises ont montré une amélioration de leur boiterie 2 mois après le traitement final de tiludronate.

Nous voyons donc ici encore que par le manque d'effectif dans les études il est difficile de tirer des conclusions pertinentes : en nous rapportant à un paramètre (chevaux qui ne boitent pas) nous obtenons une réponse positive significative au traitement, mais en prenant le paramètre opposé (chevaux qui boitent), aucun résultat significatif n'est obtenu. D'autres études sont donc nécessaires pour gagner la confiance dans l'efficacité de tiludronate et ses indications spécifiques pour l'utilisation.

Concernant l'effet du tiludronate dans les cas d'arthrose de l'articulation intertarsienne distale, un essai en double aveugle contrôlé par placebo sur 108 cas cliniques d'éparvin a été entrepris dans une étude de Gough *et al.* (Gough, Thibaud, Smith 2010). Les chevaux ont été évalués et traités au jour 0 avec soit une solution de tiludronate en voie intraveineuse à la posologie de 1 mg/kg ou alors une solution placebo. Les chevaux ont été réévalués au 60^e jour. Durant la durée de l'étude, tous les chevaux ont suivi un protocole de rééducation strict. Un deuxième traitement a été donné aux chevaux qui ne répondaient pas et tous les chevaux ont été réexaminés à J120. Les niveaux d'exercice ont été enregistrés lors de chaque examen. L'équipe conclue que sur les 97 chevaux ayant terminé l'étude, les chevaux ayant reçu du tiludronate étaient significativement moins boiteux que les chevaux du groupe placebo ($p = 0,0318$). Les chevaux traités au 60^e jour avec du tiludronate ont montré une nouvelle amélioration de la boiterie au 120^e jour. Cette étude semble conclure que le traitement à base de tiludronate est efficace dans les cas d'éparvin chez les chevaux en association avec un programme d'exercice contrôlé.

4. Effets secondaires et toxicité

Dans l'étude de Kamm *et al.* sur l'examen de l'efficacité du tiludronate chez les chevaux (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008), ils concluent que le tiludronate semble être sans danger pour les traitements du cheval âgé. Tous les effets indésirables observés dans les études chez le cheval ont été jusqu'ici transitoires, se terminant dans les 6 heures suivant l'administration de doses de 1,0 mg/kg. Un des points de préoccupation concerne les effets gastro-intestinaux des bisphosphonates : une douleur gastro-intestinale étant l'effet secondaire du tiludronate le plus fréquent chez les hommes (10,9% des patients). Il faut cependant spécifier que le

tiludronate est administré par voie orale chez l'homme, et non par voie intraveineuse comme chez les chevaux.

Cinq chevaux ont été étudiés pour les effets à court terme de tiludronate à la dose de 1,0 mg/kg par perfusion intraveineuse lente. Une petite augmentation de la fréquence cardiaque chez certains chevaux à 30 et 120 minutes après injection a été notée. Une légère hypocalcémie transitoire a également été observée chez tous les animaux à 30 minutes après l'injection. Par ailleurs, 1 cheval sur les 50 chevaux ayant reçu un traitement à la posologie de 0,1 mg/kg tiludronate a entraîné des coliques légères dans une étude publiée par l'Agence Européenne des Médicaments. Afin d'éviter ces coliques, il est conseillé de réaliser un traitement à base de flunixin méglumine ou une sédation avant injection de tiludronate (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Dans une étude de Duesterdieck-Zellmer *et al.* a cependant montré que de faibles concentrations de tiludronate eu quelques effets chondroprotecteurs, tandis que des concentrations élevées de tiludronate (≥ 19 mg/L) nuisaient à cartilage articulaire équin. (Duesterdieck-Zellmer, Driscoll, Ott 2012).

L'administration de tiludronate intra-articulaire chez les chevaux peut être nuisible, en fonction de la dose utilisée. Des études *in vivo* sont nécessaires avant que l'administration intra-articulaire de tiludronate aux chevaux puisse être recommandée.

5. Limites ?

Le tiludronate est-il le meilleur bisphosphonate pour les problèmes orthopédiques chez le cheval?

Comme nous l'avons vu précédemment, l'alendronate et le risédronate, deux bisphosphonates azotés, ont dépassé l'efficacité du tiludronate dans une étude portant sur la maladie de Paget en médecine humaine. Il ne semble pas y avoir de donnée en médecine vétérinaire équine allant dans ce sens.

Cependant, les données publiées chez le cheval sur le pamidronate, un autre bisphosphonate azoté, ne donnent pas de preuve de la supériorité de ce médicament par rapport au tiludronate. Une étude *in vitro* publiée en 2002 a testé l'effet de pamidronate sur les ostéoclastes équins (Gray, Davies, Jeffcott 2002). Les résultats ont montré que des doses élevées de pamidronate ont diminué la résorption osseuse, tandis que de faibles doses ont augmenté la résorption.

Dans une étude clinique menée au *Royal Veterinary College* de Londres et contrôlée par placebo, le pamidronate n'a pas été démontré comme améliorant la maladie naviculaire chez les chevaux quand il est administré par perfusion après 3 mois de ferrures correctrices. Dans cette petite étude, la maladie naviculaire a été diagnostiquée sur la base de signes cliniques, d'anesthésie locale, la radiographie ou la scintigraphie (Kamm, McIlwraith, Kawcak 2008).

Le tiludronate semble avoir des effets bénéfiques pour les maladies aiguës de la résorption osseuse, mais des recherches complémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre les effets et actions du tiludronate. Dans l'avenir, il serait bénéfique d'envisager d'inclure à long terme, des essais prospectifs en utilisant des techniques avancées d'imagerie comme l'IRM afin de déterminer le rôle du tiludronate dans la pratique clinique.

II. AUTRES TRAITEMENTS DISPONIBLES : LES TRAITEMENTS ADJUVANTS

A. L'acide hyaluronique

1. Généralités

L'acide hyaluronique (HA pour *hyaluronic acid*) est un polymère de disaccharides : c'est un grand glycosaminoglycane non sulfaté et non ramifié composé d'unités répétées d'acide D-glucuronique et de N-acétylglucosamine liés entre eux par des liaisons glycosidiques (Bietrix 2004; Goodrich, Nixon 2006). Au pH physiologique, l'acide hyaluronique se trouve sous forme ionisée, on parle alors de hyaluronate (Bietrix 2004).

Sa synthèse est réalisée par les synoviocytes de type B de la membrane synoviale, il s'agit donc d'un constituant présent dans le liquide synovial à l'état physiologique. La concentration du liquide synovial en acide hyaluronique varie selon les espèces et l'articulation concernée. Il semblerait que les plus petites articulations contiennent plus d'acide hyaluronique que les grandes articulations (Bietrix 2004). Pour plus de détail sur le rôle de l'acide hyaluronique, se référer à la première partie concernant la physiologie de l'articulation saine.

L'acide hyaluronique est également un élément important de la matrice du cartilage articulaire et est synthétisé localement par les chondrocytes. La concentration de hyaluronane intra-articulaire chez l'homme est de 2,5 à 4 mg/mL. La demi-vie de l'acide hyaluronique est de quelques heures à quelques jours, en moyenne 12 heures (conférence du Dr Orhant, « visco-induction » de la 10^e journée régionale de Médecine et kinésithérapie du Sport, 26 Novembre 2005)

NB : le hyaluronane désigne l'acide hyaluronique et ses formes de sels (hyaluronate de sodium).

2. Mécanisme d'action

Le mode d'action de l'acide hyaluronique se base sur deux grands mécanismes : d'une part un effet purement mécanique du fait de sa présence physique, et d'autre part un effet anti-arthrosique (Goodrich, Nixon 2006; MCILWRAITH 2010).

2.1. Augmentation de la viscoélasticité du liquide synovial

Il est admis que l'administration exogène de hyaluronate de sodium supplémenterait, ou remplacerait même les actions du hyaluronane endogène appauvri ou dépolymérisé dans le liquide synovial (Goodrich, Nixon 2006; Hunter 2015; Kaderli et al. 2015). Cette administration restaurerait ainsi la viscoélasticité, l'encombrement stérique et la lubrification des tissus mous articulaires (Goodrich, Nixon 2006).

2.2. Mise en évidence d'un effet chondroprotecteur

Une étude menée par Kim et al. utilise un modèle d'arthrose induite chirurgicalement au niveau de l'articulation temporo-mandibulaire chez le mouton. Les animaux traités par injections intra-articulaires d'acide hyaluronique montrent une diminution des modifications morphologiques. Cette diminution est mise en évidence par la radiographie avec notamment une réduction significative de l'ostéophytose par rapport au groupe témoin. L'examen histologique révèle de plus un aspect lésionnel moins sévère pour le groupe traité par rapport au lot témoin (Kim et al. 2001).

Ces résultats suggèrent un effet chondroprotecteur et structuromodulateur d'un traitement intra-articulaire à base d'acide hyaluronique.

L'étude de la concentration en kératane sulfate du liquide synovial après administration d'acide hyaluronique a permis de confirmer également cet effet chondroprotecteur (Dougados 2000). Le kératane sulfate est un marqueur du catabolisme cartilagineux. Il est retrouvé à des concentrations inférieures dans le liquide synovial d'articulations traitées à l'acide hyaluronique. Cela suggère une diminution des dégradations cartilagineuses.

2.3. Diminution de la dégradation du cartilage et effet sur la membrane synoviale et les structures périarticulaires

Kawcak *et al.* ont étudié l'effet d'un traitement à base d'injection IV d'acide hyaluronique sur un modèle d'OA induite par création d'un fragment ostéochondral dans l'articulation intercarpienne (Kawcak et al. 1997). Les chevaux traités par l'acide hyaluronique ont montré une réduction de la boiterie, un amincissement moindre du cartilage articulaire, et une réduction de la fibrillation présente à la surface du cartilage articulaire par rapport aux chevaux traités avec une solution saline (placébo).

Par ailleurs, l'acide hyaluronique diminue la perméabilité de la membrane synoviale, il protège et favorise la cicatrisation du cartilage articulaire. L'acide hyaluronique diminue la raideur articulaire et la formation d'adhérences entre les tendons et les gaines tendineuses (McIlwraith 1997).

2.4. *Effets anti-inflammatoires*

Des études *in vitro* sur les effets d'une supplémentation en hyaluronate exogène ont mis en évidence la présence d'une inhibition du chimiotactisme des macrophages et une réduction de la capacité des lymphocytes à proliférer et à migrer (Goodrich, Nixon 2006). De plus, il a été montré que le hyaluronate de sodium diminuerait la formation et la libération de prostaglandines E₂ par les macrophages lors de la phagocytose et aurait un rôle dans l'inhibition de la formation de radicaux libres (Goodrich, Nixon 2006; MCILWRAITH 2010).

Le mécanisme d'action exacte de l'acide hyaluronique à l'échelle cellulaire reste cependant à clarifier. Certains ont suggéré que l'effet anti-inflammatoire résulterait de l'encombrement stérique avec les cellules cibles. Des données récentes suggèrent que l'inhibition du chimiotactisme et la phagocytose des neutrophiles activés seraient médiées par l'interaction de l'acide hyaluronique avec des récepteurs cellulaires CD 44 présents sur la membrane des neutrophiles (Goodrich, Nixon 2006).

Les premiers essais cliniques chez l'homme d'injection IA de dérivé d'acide hyaluronique datent de 1972. De nombreux rapports cliniques ont soutenu l'utilisation de l'acide hyaluronique dans les maladies articulaires chez les chevaux (Swanstrom, 1978; Rose, 1979; Vernon, 1983; Ruth et Swites, 1985; Cannon, 1985; Gaustad et Larsen, 1995). Bien que les critères de succès de traitement varient, l'impression clinique générale est favorable. Comme c'est souvent le cas dans les essais cliniques, la durée des périodes d'observation post-traitement est variée et très courte. Des études plus objectives ont été réalisées pour fournir une évaluation impartiale de la réponse clinique au traitement par l'acide hyaluronique en utilisant une analyse de la plaque de force (Gingerich et al., 1979).

2.5. *Stimulation des synthèses de la matrice extracellulaires*

L'acide hyaluronique exogène serait à l'origine d'une stimulation de la synthèse d'acide hyaluronique endogène par les fibroblastes et les cellules synoviales (Bietrix 2004).

2.6. *Importance du poids moléculaire*

Un sujet reste encore controversé concernant l'utilisation d'acide hyaluronique : faut-il utiliser l'acide hyaluronique de haut poids moléculaire ou de faible poids moléculaire ? À ce jour, il ne semble pas exister de consensus, les premiers auteurs disaient qu'il est préférable d'utiliser de l'acide hyaluronique de faible poids moléculaire. Les articles récents semblent cependant conseiller l'utilisation d'acide hyaluronique de haut poids moléculaire (Bietrix 2004; Goodrich, Nixon 2006).

Parmi les études plus récentes, McIlwraith a démontré que l'acide hyaluronique stimule la synthèse d'acide hyaluronique endogène lorsque son poids moléculaire dépasse $5 \cdot 10^5$ Da (McIlwraith 1997). De même, l'inhibition de la synthèse des prostaglandines E_2 est plus importante pour des acides hyaluroniques ayant un poids moléculaire élevé (McIlwraith 1997). La majorité des études réalisées à ce jour prônent donc pour une efficacité plus importante pour les acides hyaluroniques de fort poids moléculaire. D'autre part, la perte des propriétés du liquide synovial lors d'ostéoarthrose est due en partie aux modifications de la structure de l'acide hyaluronique, qui devient de poids moléculaire plus faible. Il semble donc logique d'apporter à l'articulation de l'acide hyaluronique de poids moléculaire proche des conditions physiologiques (Dougados 2000).

Les traitements à base d'acides hyaluroniques se présentent la plupart du temps sous forme d'acides hyaluroniques de fort poids moléculaire. Ceci explique pourquoi la plupart se trouvent sous forme d'injectables.

3. Utilisation

La plupart du temps, l'acide hyaluronique est donc utilisé par voie intra-articulaire (IA). Il est à noter que l'absorption intestinale de l'acide hyaluronique n'a fait l'objet d'aucune étude pharmacocinétique jusqu'à ce jour. Toutefois, la fragilité et le fort poids moléculaire de la molécule ne laissent pas présager d'une bonne biodisponibilité de la molécule lors d'une administration orale.

L'administration d'acide hyaluronique est généralement très bien tolérée chez l'homme et le cheval. Une étude réalisée chez l'homme a montré une absence de modification des paramètres sanguins suite l'administration IA d'acide hyaluronique (Bietrix 2004). La plus grande source de complication est en fait liée à l'administration sous forme injectable : si elle est mal réalisée peut provoquer des complications septiques au sein de l'articulation.

Nom déposé	Posologie – voie IV	Posologie – voie IA	Protocole
Hyonate®	4mL soit 40mg d'AH	2mL soit 20mg d'AH	3 injections à une semaine d'intervalle
Synvet®		2,5mL soit 50mg d'AH	1 ou 2 injections à 2 ou 3 semaines d'intervalle

Tableau 11 – Hyaluronates de sodium communément utilisés en France ayant une AMM cheval, liste non exhaustive
IV : intraveineux, IA : intra-articulaire, AH : acide hyaluronique

B. Glycosaminoglycane Polysulfaté

Les glycosaminoglycane polysulfatés (GAGP) modifient la progression de l'OA par le maintien et la promotion de l'activité métabolique des chondrocytes et inhibent les effets néfastes des cytokines ou des prostaglandines sur le cartilage (Goodrich, Nixon 2006). De plus, les GAGP auraient un effet inhibiteur sur l'inflammation dans d'autres tissus par exemple le tissu synovial. La thérapie avec cette classe de médicament peut prévenir, retarder ou inverser les lésions cartilagineuses morphologiques de l'arthrose (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996).

1. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action exact reste inconnu. Il a été émis l'hypothèse que les GAGP forment des complexes stables avec les fibres de collagène et la fibronectine, et sont déposés dans le cartilage (Andrews, Sutherland, Ghosh 1985). Il a été démontré que les GAGP inhibent une multitude d'enzymes de dégradation qui contribuent au processus d'OA. Certains de ces enzymes de dégradations comprennent des élastases lysosomales, des cathepsines, des hydrolases lysosomales, des protéases à sérine, des métalloprotéinases neutres, des activateurs du plasminogène, et des iNOS (Goodrich, Nixon 2006). Un rôle anti-inflammatoire sur la base de ses effets inhibiteurs sur la migration des leucocytes et les niveaux d'interleukine a également été suggéré (Goodrich, Nixon 2006). Les lignes directrices de la ligue internationale contre le rhumatisme (*The International League Against Rheumatism – ILAR*) ont classé les GAGP en tant que médicaments « modificateurs de l'OA » (*Disease modifying OA drugs – DMOAD*), ce qui semble être une preuve convaincante de l'efficacité de ce choix thérapeutique.

2. Efficacité

Lors du *17th Kentucky Equine Research – Nutrition conference*, McIlwraith a présenté un travail de synthèse sur la gestion des maladies articulaires chez le cheval de sport. Dans ce sujet de synthèse (MCILWRAITH 2010) il rapporte que trois études *in vitro* travaillant sur l'effet des GAGP sur le cartilage équin se sont montrées quelque peu contradictoires.

Initialement, il a été signalé que les GAGP sont à l'origine d'une augmentation de la synthèse de collagènes et de glycosaminoglycanes, à la fois dans des explants de cartilage articulaire et dans des cultures de cellules de cartilage articulaire, chez les chevaux sains comme chez les chevaux arthrosiques (Glade, 1990). Cependant, d'autres travaux ont montré une inhibition dose-dépendante de la synthèse des protéoglycanes, un faible effet sur la dégradation des protéoglycanes, et aucun effet sur la taille des monomères de protéoglycanes (Caron et al., 1991). Dans une autre étude, une réduction significative de l'érosion et de la fibrillation du cartilage articulaire, une diminution du nombre de chondrocytes morts, et une teneur nettement améliorée en GAG ont été mises en avant (Trotter et al. 1989). L'administration de GAGP n'a cependant eu aucun avantage sur la guérison des lésions du cartilage articulaire initialement présentes. Ce dernier point a également été démontré dans une étude portant chez les poneys (Todhunter et al., 1993).

De nombreuses études utilisant les GAGP aussi bien chez les chevaux que chez d'autres espèces ont cependant montré qu'ils sont efficaces dans le traitement et la prévention de l'arthrose. La plupart des études initiales ont été effectuées chez les chiens (Altman et al. 1989) et les lapins (Olijhoek et al. 1988; Vanharanta 1983). Plus récemment, les avantages biomécaniques des GAGP sur un cartilage traumatisé ont été démontrés, à savoir une diminution de la raideur de l'articulation (Ewers, Haut 2000). Par ailleurs, il a été également montré que l'administration intra-articulaire de GAGP chez les chevaux a empêché ou réduit les signes cliniques d'une arthrite induite naturellement ou chimiquement (Goodrich, Nixon 2006).

Au regard de ces avis divergents, il semble délicat de donner un avis quant à l'efficacité des GAGP.

3. Utilisation

L'Adequan® (glycosaminoglycane polysulfaté ou GAGP) semble être le seul produit ayant une AMM chez les chevaux pour le traitement de la boiterie due à des affections articulaires aseptiques dégénératives, autrement dit dans le traitement de l'arthrose. Cependant, la voie d'administration n'est pas la voie intra-articulaire, mais la voie intramusculaire. La posologie recommandée est d'une ampoule de 5 mL (soit 500 mg de glycosaminoglycane polysulfaté) par animal, tous les 4 jours, pour un total de 7 injections, en voie IM profonde.

Dans autre étude citée par McIlwraith (MCILWRAITH 2010), il est souligné que même si les GAGP ont été jugés plus efficaces que l'acide hyaluronique pour le traitement de l'OA subaiguë (Caron, Eberhart, Nachreiner 1991), il n'existe que peu de preuves d'une efficacité certaine avec l'administration intramusculaire. Les concentrations en GAGP au sein du cartilage articulaire après l'administration intramusculaire seraient capables d'inhiber certaines enzymes dégradant le cartilage (Burba et al., 1993), mais la durée de la concentration efficace n'est pas claire.

McIlwraith conclut donc dans sa gestion des maladies articulaires chez le cheval de sport, qu'en l'absence d'études scientifiques complémentaires sur l'administration intramusculaire il soit difficile de prouver ou de réfuter l'efficacité de l'utilisation des glycosaminoglycanes polysulfatés (MCILWRAITH 2010).

C. Compléments alimentaires anti-arthrosiques

Les composés vendus comme suppléments oraux dans le cadre d'un traitement contre l'arthrose contiennent généralement des composants présents dans le cartilage et des précurseurs tels que la chondroïtine de sulfate et le chlorhydrate de glucosamine. Ces médicaments s'inscrivent également dans la catégorie des DMOAD (*Disease modifying OA drugs*), à savoir les médicaments modificateurs de l'OA.

Comme vu dans la première partie, lors d'un phénomène arthrosique une perte de la structure cartilagineuse associée à une diminution du taux de glycosaminoglycanes et de protéoglycanes a lieu. C'est par ce constat qu'il semble cohérent de proposer une supplémentation de glycosaminoglycanes dans le traitement de l'ostéoarthrose afin d'augmenter l'apport en matières premières nécessaires à la fabrication du cartilage.

1. Glucosamine

La glucosamine (GS) est un monosaccharide aminé dérivé de la chitine, constituant majeur de la cuticule des arthropodes (insectes, crustacés...), mais présent également dans un grand nombre de tissus et sécrétions (Goodrich, Nixon 2006). La glucosamine joue le rôle de précurseur dans la fabrication d'un certain nombre de macromolécules comme les glycoprotéines, les glycolipides et elle entre directement dans la composition d'autres glycosaminoglycanes comme la chondroïtine sulfate, l'acide hyaluronique ou encore les protéoglycanes du cartilage articulaire (Bietrix 2004).

Lorsque la GS est ajoutée dans une culture cellulaire, une élévation intracellulaire d'uridine diphosphate-N-acétylglucosamine (UDP-GlcNac) est observée. Or il s'avère que ce constituant est essentiel à la formation des GAG présents dans le cartilage tels que l'acide hyaluronique, le sulfate d'héparine et le sulfate de kératine. Par conséquent, en apportant des GS comme compléments, le but est de fournir des précurseurs pour les constituants de la matrice extracellulaire (Goodrich, Nixon 2006).

Le mécanisme d'action de la glucosamine n'est pas encore élucidé bien qu'il existe plusieurs études démontrant les avantages de son utilisation. Ses effets anti-inflammatoires comprennent l'inhibition des protéases, du NO¹² et des MMPs, la modification de la PLA₂ et de l'activité de la collagénase, l'inhibition de l'IL1-β et par conséquent une inhibition de

¹² NO : Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique, MMPs : Métalloprotéinases matricielles, PAL₂ : Phospholipase A₂, IL1-β : Interleukine 1β, NF-κβ : Nuclear Factor κβ

l'activation du NF- κ B (Goodrich, Nixon 2006). Les effets sur l'amélioration de la matrice seraient dus à une augmentation de la synthèse protéique et de la production d'ARNm de la structure protéique ou *core protein* de l'aggrécane, ce qui augmenterait la capacité à réparer le cartilage.

2. Chondroïtine sulfate

La chondroïtine de sulfate (CS) est un polymère à longue chaîne d'unités répétées de disaccharides contenant du sulfate de galactosamine et de l'acide glucuronique. Il s'agit d'un composant présent dans la majorité des GAGs du cartilage hyalin (Bietrix 2004; Goodrich, Nixon 2006). Il s'agit donc d'un composant naturellement présent de la matrice du cartilage. Elle est le plus souvent isolée de la trachée ou de la cloison nasale des bovins, du squelette des requins, mais peut provenir d'autres sources naturelles. Même si la structure de base reste inchangée il semblerait que la chondroïtine de sulfate varie dans sa composition en fonction des espèces animales. La pharmacopée européenne considère par conséquent que cette substance n'est pas absolument identique d'une espèce à l'autre.

Comme pour la glucosamine, le mécanisme d'action de la chondroïtine de sulfate n'est pas bien caractérisé. Les données publiées indiquent que la chondroïtine de sulfate contribue à l'élaboration d'un pool de substrats disponibles pour le dépôt de la matrice du cartilage. Elle aurait également d'autres effets, à savoir l'inhibition de protéases, la stimulation la synthèse des GAGs et du collagène et l'amélioration de la viscosité du liquide synovial par l'augmentation des concentrations en acide hyaluronique (Goodrich, Nixon 2006). Il a également été montré que la chondroïtine de sulfate aurait une action inhibitrice sur l'élastase, médiateur de la dégradation du cartilage et stimulerait la synthèse des protéoglycanes par les chondrocytes (Baici, Bradamante 1984).

3. Efficacité

L'efficacité de l'utilisation des CS et des GS est cependant controversée en humaine aux États-Unis (Clegg et al. 2006). Plusieurs études ont évalué l'efficacité de la glucosamine et de la chondroïtine de sulfate. Certaines études ont démontré leur efficacité, mais ont été critiquées par la suite comme ayant le principal défaut d'avoir un faible nombre d'échantillons. Une autre limite de ces études est le biais potentiel représenté par le fait que les fabricants de ces suppléments alimentaires aient parrainé ces études. Par ailleurs, ces études ont généralement recruté des patients avec des niveaux de douleur du genou légère à

modérer et ont omis de montrer une amélioration des scores de douleur WOMAC (index dans l'évaluation de l'arthrose pour les membres inférieurs, pour plus d'explication se reporter à la 3^e partie, II.B.1.4).

La glucosamine et la chondroïtine utilisées seules ou en association ne démontrent pas leur efficacité dans le cas des douleurs légères à modérées d'arthrose du genou, même s'il pourrait exister une efficacité dans les cas où les douleurs seraient plus importantes. La conclusion de Clegg *et al.* est que la combinaison de glucosamine et de chondroïtine de sulfate peut avoir une certaine efficacité chez les patients présentant des symptômes modérés à sévères, mais doit être confirmée par d'autres essais. Ils montrent également que la réponse clinique est beaucoup plus rapide avec le célécoxib (AINS inhibiteur sélectif COX-2), qu'avec la glucosamine, la chondroïtine de sulfate, ou les deux en combinaison (Clegg *et al.* 2006). La poursuite des recherches est donc nécessaire pour établir l'efficacité potentielle. Dans une autre étude plus récente, Wandel *et al.* vont dans le même sens. Ils concluent que la glucosamine, la chondroïtine, ou leur combinaison n'aboutissent pas à une réduction significative de la douleur articulaire par rapport au placebo. Certains patients sont cependant convaincus que ces préparations sont bénéfiques (Wandel *et al.* 2010).

Une autre étude intéressante est le lien entre les suppléments oraux en GS et CS et les fréquences des injections IA de corticostéroïdes ou d'acide hyaluronique. Rodgers montre que la supplémentation en GS et CS (5,5 g BID sur 6 ans) a réduit la fréquence des injections IA : avant supplémentation, les chevaux recevaient en moyenne 1,7 injection par an, puis, après supplémentation la moyenne est descendue à 0.85 injection par an. Cette baisse notable de la fréquence d'injection est apparue après 5 à 8 mois de supplémentation (Rodgers 2006).

Bien que les données cliniques chez l'homme en ce qui concerne l'efficacité de la GS et de la CS fassent défaut aux États-Unis, il existe de nombreuses études cliniques européennes publiées (Goodrich, Nixon 2006).

Toutefois, peu d'études sont randomisées ou utilisent une conception de commande en double aveugle. Dans une étude clinique chez l'homme, l'administration de 500mg de GS TID per os pendant 4 semaines s'est avérée aussi efficace que l'administration de 400mg d'ibuprofène TID per os pendant 4 semaines pour traiter l'arthrose du genou ; l'ibuprofène ayant plus d'effets secondaires (Müller-Fassbender *et al.* 1994). Une étude prospective récente sur trois ans a révélé une diminution significative du pincement de l'interligne articulaire chez les patients recevant de la glucosamine comme traitement contre l'arthrose du genou (Bruyere *et*

al. 2003). Cette étude est la seule à ce jour à évaluer les effets structuromodulateurs de la glucosamine utilisée seule chez l'homme. Il convient cependant de préciser que le nombre de patients ayant quitté l'étude (33% dans le groupe placebo et 36% dans le groupe traité) rend les résultats difficiles à interpréter.

L'idée d'associer la glucosamine et la chondroïtine de sulfate dans les préparations vient du fait que ces deux éléments possèdent des effets relativement complémentaires. En effet, la glucosamine agit surtout en stimulant la synthèse des constituants de la matrice tandis que la chondroïtine inhibe leur dégradation.

Goodrich *et al.* citent dans leur article (Goodrich, Nixon 2006) deux études ayant travaillé sur les effets de l'administration de Cosequin® (médicament composé de GS et de CS) chez des chevaux atteints d'arthrose (Hanson, 1996) ou d'un syndrome naviculaire (Hanson et al., 1997). Le Cosequin® est le composé le plus couramment utilisé dans les essais cliniques chez l'homme et le chien.

Dans les deux essais cliniques, les chevaux ont reçu un total 16g de poudre BID dans leur alimentation. Dans la première étude par Hanson *et al.*, 25 chevaux atteints d'arthrose ont reçu du Cosequin® et ont été évalués tous les 15 jours sur une période de six semaines. Le grade boiterie, les tests de flexion et la longueur de foulée ont été pris en compte pour l'évaluation clinique. Dans les deux semaines suivant l'administration, les chevaux présentaient une amélioration significative des scores de boiterie. Les tests de flexion et la longueur de foulée n'ont cependant pas été modifiés (Hanson, 1996). Dans la deuxième étude de 1997, le Cosequin® a été donné chez des chevaux ayant un syndrome naviculaire. Les évaluations ont été réalisées par des cliniciens ignorant si les chevaux ont reçu le traitement ou le placebo. Il ressort de cette étude que les scores de boiterie chez les chevaux traités avec du GS ont été significativement améliorés à huit semaines (Hanson et al., 1997).

La combinaison de CS et de GS est censée être synergique. Leurs effets combinés chondroprotecteurs sont beaucoup plus importants qu'utilisés seul, étant donné que la production des glycosaminoglycanes est stimulée par la glucosamine et la dégradation de la matrice est inhibée par la chondroïtine de sulfate (Goodrich, Nixon 2006).

4. Utilisation

La question de l'absorption et de la biodisponibilité orale reste indéterminée.

La CS est une grosse molécule, et son poids moléculaire suggère que l'absorption à travers la muqueuse gastro-intestinale est faible. L'évaluation de l'absorption orale de CS est difficile à étudier à cause d'un manque de méthodes analytiques permettant de quantifier suffisamment ce composé (Goodrich, Nixon 2006). De même, la GS est une substance endogène utilisée rapidement par le corps pour la biosynthèse d'autres constituants physiologiques, ce qui rend sa pharmacocinétique difficile à enquêter.

La pharmacocinétique de la CS a été étudiée chez le rat, le chien et l'homme et plus récemment chez le cheval. Selon la synthèse réalisée par Goodrich *et al.* la biodisponibilité semble être de 5% pour le chien, et de 22 à 32% chez le cheval. En ce qui concerne la GS, la biodisponibilité semble varier d'environ 12% chez le chien à 2% chez le cheval. Chez le chien, des doses multiples de CS augmente sa biodisponibilité jusqu'à 200-278% (Goodrich, Nixon 2006).

Un autre point important à souligner est le fait qu'il existe beaucoup de produits contenant de la CS et de la GS. Un article d'Adebowale *et al.* (2000) rapporte que 84% des produits testés ne respectaient pas l'étiquette. Par conséquent, les produits non utilisés dans les essais cliniques devraient être examinés avec soin. S'il n'existe pas de donnée pour un produit particulier, alors l'efficacité doit être remise en question, car ces produits ne sont pas contrôlés par la FDA (*Food and Drug Administration* « Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux »).

5. Temps nécessaire pour l'apparition d'améliorations

Il est important de préciser aux propriétaires que lorsque les traitements nécessitent une dose d'attaque, si le traitement n'est pas suivi au long terme, il ne sera d'aucune efficacité.

Dans une étude de Dorna *et al.* menée sur 15 juments adultes atteintes d'arthrite induite en regard du carpe gauche, un traitement oral de 30 jours à base de 10 mL/j d'une solution de chondroïtine sulfate (à 250 mg/mL) a permis d'obtenir les résultats encourageants en ce qui concerne le temps d'apparition des premières améliorations. Une diminution significative de la circonférence articulaire, mais de la capacité de flexion par rapport au contrôle est apparue

dès le deuxième jour de traitement, une amélioration significative de la boiterie est apparue dès le 23^e jour (Dorna I., Guerrero 1998).

Dans l'étude traitant de l'efficacité du Cosequin® sur 25 chevaux atteints d'arthropathie dégénérative publiée par Hanson *et al.* mentionnée plus haut, les auteurs ont constaté une diminution de la boiterie ainsi qu'une amélioration du test de flexion et de la longueur des foulées dès la deuxième semaine de traitement. Certains chevaux ont même repris la compétition à deux semaines de traitement (Hanson et al., 1997).

Nom déposé	Posologie	Début d'apparition des effets	Principaux composants
Arthroflex®	Cure de 2 sachets PO SID pendant 15 jours puis 1 sachet PO SID		CS, HP
Chondroïtine®	Cure de 50g PO BID pendant 3 jours puis 50g PO SID		Pour 100g de poudre : 7125 mg CS
Cortaflex®	Poudre : 14g SID pendant 10j puis 7g SID le temps nécessaire Solution : 30 mL par jour	60 mL/j pendant 5j puis 30 mL/j pendant 9j (Clayton et al. 2002) (Clayton et al., 2003)	GS, CS, MS, HA, Mn
Cosequin®	- Dosage d'attaque (2-4 semaines): 2 à 4 mesures selon taille du cheval (6,6 à 13,2 g), BID - Dosage d'entretien : 1 à 2 mesures (3,3 à 6,6 g), BID	Dès 2 semaines avec une dose d'attaque entre 9 et 12g sur 12 semaines (Hanson et al., 1997)	CS, Glucosamine-HCl, Vit E, Mn
Ekyflex Arthro granulé® Existe en solution	Cures de 30g PO SID, 2 mois, 3/an pour chevaux sains Cures pour chevaux suivis pour troubles articulaires : - dose d'attaque : 60g PO SID, 1 mois puis, - dose d'entretien : 30g PO SID, 4-6 mois Cures pour chevaux âgés : 30g PO SID		GS, hydrolysate de collagène marin, concentré protéique de soja, CS
Equistro® Artrhyton	100-150g PO, aussi longtemps que nécessaire ou en cure de 10j à renouveler tous les mois		Cassis, HP, Prêle, Saule blanc, Vergerette, Glucosamine HCL 2,5%
Stride® Existe en solution	Chevaux à l'entraînement : 1 sachet PO SID Poneys : ½ sachet PO SID Cure d'au moins 30j consécutifs Peut être suivi par une cure en continu de Stride® MP à la dose de 1 sachet PO SID		Pour 100 g de poudre de Stride® : 7200 mg GS, 4750 mg de CS, 20g de MS
Top-flex®	50g PO SID par cheval lors des entraînements ou des compétitions		GS, CS
Twydil® Artridil	En cas de problèmes articulaires : 2 sachets PO SID minimum 1 mois En préventif : 1 sachet PO SID minimum 1 mois		GS, HP

Tableau 12 – Glucosamines et chondroïtines de sulfate communément utilisés en France ayant une AMM cheval, liste non exhaustive

PO : per os, SID : une fois par jour, BID : deux fois par jour, GS : Glucosamine, CS : Chondroïtine Sulfate, HA : acide hyaluronique, HP : Harpagophytum procumbens MS : Méthylsulfonylméthane, Mn : manganèse

D. Combinaison acide hyaluronique, GAGP et glucocorticoïdes

1. Acétate de méthylprednisolone et acide hyaluronique

Les injections IA de corticoïdes ont souvent été combinées avec de l'acide hyaluronique. L'idée générale était que l'acide hyaluronique serait protectrice contre les effets délétères de l'AMP (acétate de méthylprednisolone). Cette perception a été basée sur la tradition plutôt que la preuve scientifique.

Deux études in vitro chez les chevaux ont étudié si l'acide hyaluronique pouvait avoir un effet d'atténuation contre les effets délétères de l'APM (McILWRAITH 2010).

L'AMP en combinaison avec l'acide hyaluronique a été considérée comme ayant des effets bénéfiques sur le métabolisme des protéoglycanes (Yates et al. 2006). Des chondrocytes issus de chevaux euthanasiés pour des raisons sans relation avec une quelconque atteinte du système musculo-squelettique ont été traités avec différents milieux :

- IL-1 à 10ng/ml (contrôle positif),
- milieu neutre (contrôle négatif),
- un milieu contenant de l'IL-1 à 10 ng/mL et 0,05 ou 0,5 mg/mL d'AMP
- un milieu contenant de l'IL-1 à 10 ng/mL et de l'acide hyaluronique à 0,2 ou 2 mg/mL,
- un milieu contenant de l'IL-1 à 10 ng/mL et de l'acide hyaluronique à 0,2 ou 2 mg/mL associé à de l'AMP à 0,05 ou 0,5 mg/mL.

Il a été montré que l'AMP à 0,5 mg/mL entraînait une augmentation de la synthèse en protéoglycanes, alors que l'acide hyaluronique seul n'avait aucun effet. La combinaison de l'AMP (à 0,05 mg/mL et à 0,5 mg/mL) avec l'acide hyaluronique à 2 mg/mL a augmenté la synthèse des protéoglycanes, par rapport aux témoins ayant reçu l'IL-1. Tous les groupes de traitement contenant une forte concentration d'AMP (0,5 mg/mL) et une forte concentration d'acide hyaluronique (2,0 mg/mL) ont montré une teneur accrue en GAG. L'ajout d'acide hyaluronique a provoqué une augmentation de la teneur en GAG dans les milieux, indépendamment du traitement à l'AMP. L'expression de l'ARNm en COX-2 et en aggrecane a été significativement réduite avec le traitement à base d'AMP. (Yates et al. 2006)

Dans une autre étude, Doyle *et al.* ont conclu que l'AMP avait causé une diminution de la synthèse des protéoglycanes, alors que l'acide hyaluronique n'a eu aucun effet. Seule la

combinaison de l'AMP à une concentration de 0,05 mg/mL et de l'acide hyaluronique à une concentration de 1,0 mg/mL a augmenté la synthèse des protéoglycanes, par rapport aux explants de contrôle. L'AMP a entraîné une augmentation du relargage de GAG dans les milieux 48 et 72h après traitement. En combinaison, l'acide hyaluronique n'a eu aucun effet protecteur sur la libération de GAG induite par l'AMP.

Schaefer *et al.* ne semblent pas du même avis ; dans leur étude, ils concluent que la combinaison de l'AMP et de l'acide hyaluronique semble augmenter la synthèse de protéoglycanes (Schaefer et al. 2009).

La question quant à l'ajout d'acide hyaluronique reste donc ouverte. Si l'ajout d'acide hyaluronique ne semble pas forcément bénéfique, il n'est cependant pas nuisible.

2. Acétate de triamcinolone, acide hyaluronique et GAGP

Il existe une preuve indirecte de l'utilisation de l'acide hyaluronique avec l'acétate de triamcinolone comme effet cliniquement bénéfique chez le cheval (McILWRAITH 2010).

Dans une étude récente de Frisbie *et al.* 8 chevaux ont reçu 20mg d'acide hyaluronique et 125mg d'amikacine par voie IA, 8 ont reçu 250mg de GAGP associés à 125mg d'amikacine par voie IA et 8 ont reçu 2mL de solution de NaCl à 0,9% associés à 125mg d'amikacine par voie IA après induction d'une fragmentation au niveau de l'articulation intercarpienne (Frisbie et al., 2009). Toutes les injections IA ont été réalisées à 14, 21 et 28 jours. Il a été conclu qu'il y avait beaucoup moins de fibrillation du cartilage lorsque l'acide hyaluronique est associé au traitement au 70^e jour, malgré une réduction moins impressionnante de l'épanchement synovial et de la vascularisation de la membrane synoviale et de la fibrose subintimale rapport à l'utilisation d'Adequan® (Frisbie, Kawcak, et al. 2009).

La combinaison de l'acétate de triamcinolone et de l'acide hyaluronique semble donc être une bonne pratique.

E. Conclusion

1. Les anti-inflammatoires

1.1. Les corticoïdes en injection intra-articulaire

Des effets contradictoires ont également été observés en ce qui concerne l'utilisation de corticostéroïdes par voie IA.

i. Effets néfastes sur le cartilage ?

Comme nous l'avons vu dans la première partie, il existe de nombreux rapports décrivant les effets délétères des corticostéroïdes sur le cartilage (Goodrich, Nixon 2006). Ces effets incluent: la diminution de la taille des chondrocytes, la perte de glycosaminoglycanes ainsi que la diminution de leur synthèse, mais aussi l'inhibition de la synthèse de protéoglycanes, et la nécrose des chondrocytes. Dans plusieurs études de modèles d'inflammation articulaire chez le cheval, les corticostéroïdes améliorent les signes cliniques; mais une dégénérescence du cartilage articulaire et une nécrose osseuse locale ont été observées histologiquement (Mc Ilwraith, CW, Trotter 1996) (Richardson, Dodge 2003; Schaefer et al. 2009). Une hypothèse sur ces résultats serait qu'il s'agisse de la forte concentration et de l'exposition prolongée qui soient à l'origine des effets néfastes des glucocorticoïdes sur le cartilage.

Dans l'étude bibliographique de McIlwraith, il est précisé qu'une seule injection d'acétate de méthylprednisolone ne cause pas d'effet néfaste sur la qualité de la réparation tissulaire à long terme (McILWRAITH 2010). L'acétate de triamcinolone pourrait également inhiber la plupart des molécules néfastes qui résultent de l'inflammation sans effet négatif sur la transcription des gènes de la matrice extracellulaire (Richardson, Dodge 2003).

En bilan, nous concluons qu'il s'agit des injections répétées ou à fortes doses qui entraineraient un effet néfaste sur le cartilage. Il semble donc que « des doses plus faibles » pour l'acétate de méthylprednisolone, comprise entre 10 et 40 mg par articulation inhibent l'inflammation tout en préservant l'environnement articulation normale (Farquhar et al. 1996; Murphy et al. 2000; Todhunter et al. 1996).

ii. Induction de fourbure ?

La question de l'induction de la fourbure suite à l'administration de corticostéroïdes reste entière, étant donné qu'aucune étude ne semble prouver ce lien avec certitude. Les seuls cas rapportés de fourbure suite à l'usage de corticoïdes se sont révélés être des chevaux ayant reçu des doses bien supérieures à celles utilisées en routine (Pinoteau 2014).

Voici un extrait de la thèse de Pinoteau sur ce sujet :

« Il a été supposé que le taux de cortisol, et/ou une résistance à l'insuline pouvaient être en lien avec le déclenchement d'une fourbure. Dans ce sens, on comprend que les glucocorticoïdes, en augmentant le taux de cortisol circulant, et en étant susceptibles d'induire une résistance à l'insuline, pourraient avoir une implication dans le processus de fourbure. Toutefois, cette implication serait nettement plus marquée si le produit est injecté par voie générale.

De plus, il est connu que les corticoïdes ont une action catabolique sur les protéines et peuvent induire la destruction de certains tissus. Or, dans le processus de fourbure, ce même type de phénomène est impliqué. De même, les corticoïdes ont un impact sur la muqueuse intestinale, ces lésions peuvent à leur tour générer une fourbure. Cependant, ceci s'applique à un emploi par voie générale des corticoïdes. Ces effets sont réduits lors d'usage en intra-articulaire.

Un autre facteur impliquant les corticoïdes dans l'apparition de fourbure pourrait être leur propriété vasoconstrictrice. L'ischémie alors induite ferait partie des phénomènes précoces de la fourbure. »

Il semblerait donc que l'utilisation de corticostéroïdes par voie IA ne soit pas un risque majeur d'induction de fourbure si les doses utilisées sont en accord avec les posologies recommandées, et qu'aucun traitement à base de corticostéroïdes par voie générale n'y est associé.

iii. Temps de dopage

Un autre argument à prendre en considération lors de l'utilisation des corticoïdes est l'aspect « doping ». En effet, le vétérinaire est souvent confronté à adapter les traitements selon les échéances sportives, quand la santé du cheval le permet bien entendu.

Une des difficultés rencontrées lorsque nous parlons des délais dopages en ce qui concerne les injections intra-articulaires est le manque de donnée dans la littérature. Les délais dopage sont connus pour toutes injections systémiques, mais en ce qui concerne les injections intra-articulaires, les molécules agissent dans l'articulation avant de se retrouver dans le plasma, et être ainsi détectable.

Au sein de l'articulation, l'acétate de méthylprednisolone reste détectable dans les 10 premières heures post-injection, mais elle n'est plus détectée après quelques jours (3 à 6 jours). Cependant, il semblerait que l'acétate de méthylprednisolone reste en quantité supérieure au seuil de détection jusqu'à 39 jours après injection. D'après une récente étude de Knych *et al.*, 9 mg d'acétate de triamcinolone injectés dans l'articulation radiocarpienne sont détectables au 7^e jour post injection IA dans le plasma et au 8^e jour post injection IA dans les urines (Knych *et al.* 2013).

Malgré l'élaboration de modèles se rapprochant au mieux de la cinétique observée, il est nécessaire de garder en tête qu'il existe de grandes variations d'un individu à l'autre, d'autant plus si l'on utilise une forme retard de corticoïdes.

Un tableau des listes des temps de détections des AINS et des corticoïdes selon la Fédération Equestre Internationale (FEI) et le Comité Européen de Liaison Scientifique des Chevaux (EHSLC pour *European Horserace Scientific Liaison Committee*) est présenté dans la page suivante. Pour plus de détails, se référer aux annexes 1 et 2.

Substances	Noms déposés	Posologie	VA	Temps de détection (heures)	
				FEI	EHSLC
PBZ	Equipalazone®	4,4 mg/kg/5j BID FEI 4,7 mg/kg/5j BID EHSLC	PO	168 (7j)	
	Equipalazone®	8,8 mg/kg J1 BID puis 4,4 mg/kg/10j BID	PO	168	
	Phénylarthrite®	8,8 mg/kg/5j BID	IV	168	
Flunixin méglumine	Finadyne®	1 mg/kg	IV	144 (6j)	
Carprofène	Rimadyl®	0,7 mg/kg	IV	NP	264 (11j)
Kétoprofène	Ketofen®	2,2 mg/kg/5j SID	IV	96 (4j)	
Dipyron (Métamizole)	Vetalgin®	30 mg/kg	IV	72 (3j)	
Meloxicam	Métacam®	0,6 mg/kg/14j	PO	72 (3j)	
Védaprofène	Quadrisol®	2mg/kg	IV	NP	96 (4j)
Naproxène	Naprosyn® Non disponible en France	10 mg/kg/5j SID	PO	NP	> 360 (15j)
Firocoxib	Equioxx®	100 µg/kg/7j SID	PO	NP	360 (15j)
Dexaméthasone	Solution aqueuse	10 mg phosphate sodique	IV	48 (2j)	NP
AMP	Dépo-médrol®	200mg en 3 articulations 100mg en 2 articulations	IA IA	672 (28j) 336 (14j)	NP
TA	Kénacort® retard 40	12mg en une articulation	IA	168 (7j)	NP
Bétaméthasone	Célestène® Soluspan®	30mg en total, dose utilisable pour 2 articulations max	IA	168 (7j)	NP

Tableau 13 – Liste FEI des temps de détection des substances utilisées chez les chevaux, d'après la FEI CleanSport, révision du 13 août 2014 et l'EHSLC (*European Horserace Scientific Liaison Committee*), révision du 27 août 2013
PBZ : Phénylbutazone, AMP : Acétate de méthylprednisolone, TA : Acétate de triamcinolone, SID : une fois par jour, BID : deux fois par jour, VA : voie d'administration, PO : *per os*, IV : intraveineuse, IA : intra-articulaire, NP : non présent sur la liste

1.2. Les AINS

i. Efficacités comparée des AINS ?

Concernant l'amélioration clinique, aucune différence significative n'a été observée entre la PBZ et le firocoxib. Les seules différences observées seraient liées aux critères d'évaluation (douleur à la manipulation et à la palpation, taille de l'articulation, amplitude du mouvement) où le firocoxib apparaît comme avoir de meilleurs résultats (Doucet et al. 2008).

En ce qui concerne le kétoprofène, il serait moins efficace que la PBZ dans le traitement de l'inflammation articulaire aiguë (Owens et al. 1996).

La flunixin est également utilisée dans le traitement des atteintes de l'appareil musculo-squelettiques, mais le moindre coût du PBZ justifie le fait qu'il est souvent préféré à la flunixin.

ii. Toxicité rénale et gastrique

L'utilisation des AINS doit toujours être réfléchié quant aux effets secondaires, notamment en ce qui concerne la toxicité rénale et gastrique.

Aucun effet secondaire n'a été souligné dans l'étude de Doucet *et al.*, ni pour le firocoxib, ni pour la PBZ lors d'une utilisation aux doses recommandées (Doucet et al. 2008). Il est même précisé que le firocoxib apparaît être une alternative sûre aux AINS non préférentiels, en particulier chez les chevaux qui sont diagnostiqués ou susceptibles d'avoir des ulcères gastriques.

iii. Effet sur le cartilage

Contrairement à de nombreux AINS, le carprofène semble avoir des effets potentiellement bénéfiques sur le métabolisme des protéoglycanes des chondrocytes équins (Armstrong, Mow 1982). Ses essais *in vitro* étant très prometteurs, le carprofène pourrait connaître un essor au cours des années à venir.

iv. Temps de dopage

Des délais dopages sont également indiqués par la FEI et l'EHSCL en ce qui concerne l'utilisation des AINS, comme indiqué dans le tableau 13, p114.

2. L'acide hyaluronique et les glycosaminoglycanes polysulfatés

Il apparaît au regard des différentes études que l'acide hyaluronique est une option thérapeutique intéressante pour le traitement de l'OA chez le cheval (MCILWRAITH 2010; Goodrich, Nixon 2006).

Cette conclusion semble cependant remise en question par une étude plus récente. Cette étude visait à comparer les efficacités d'injections IA d'acide hyaluronique, de solution saline et d'Orthokine® (IRAP, se référer à la partie suivante). Baltzer *et al.* ont conclu que tous les groupes ont présenté une réduction des symptômes ainsi qu'une amélioration de la qualité de vie. Cependant, les auteurs soulignent qu'il n'y a pas de différence significative entre les effets de l'acide hyaluronique et de la solution saline (Baltzer et al. 2009).

Il serait donc intéressant de se pencher de plus près sur la question de l'utilisation de l'acide hyaluronique pour le traitement des OA chez le cheval.

3. Les compléments alimentaires anti-arthrosiques : la glucosamine et la chondroïtine de sulfate

Les compléments anti-arthrosiques ont montré une efficacité clinique dans de nombreux modèles d'ostéoarthrose. Leur utilisation semble être conseillée dans des cas d'arthrose du genou, de la hanche, du carpe ou du tarse, ces situations ayant été les plus étudiées chez l'homme et chez le cheval.

Cependant, dans ces affections les compléments anti-arthrosiques doivent être considérés comme une thérapie adjuvante d'une thérapie anti-inflammatoire. Les anti-inflammatoires présentent une efficacité symptomatique qui est largement démontrée par des études cliniques, leur utilisation en première intention reste donc de rigueur. Cependant, l'utilisation de ces compléments permet de réduire considérablement l'utilisation des AINS, limitant ainsi l'apparition d'effets indésirables. Ainsi, une étude réalisée sur la glucosamine chez l'homme a permis de démontrer que son utilisation permet de réaliser une diminution de 2 à 2,7 fois la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (Deal, Moskowitz 1999).

Par ailleurs, l'utilisation d'AINS est souvent problématique dans le cas des chevaux de sport ou les chevaux âgés. Il n'est en effet pas rare que l'animal âgé souffre d'autres affections en plus de son arthrose. L'utilisation des AINS peut être contre-indiquée si l'animal souffre d'insuffisance rénale ou de problèmes gastro-intestinaux. Il peut alors être souhaitable

d'utiliser exclusivement les compléments anti-arthrosiques qui présentent moins de risque d'effets secondaires. En ce qui concerne le cheval de sport, l'utilisation d'AINS est à prévoir selon les durées de délai « dopage ». Dans les cas d'arthrose peu sévère, l'utilisation de ces compléments peut donc s'avérer intéressante.

Le schéma thérapeutique idéal consisterait donc à utiliser un complément anti-arthrosique pour le traitement de la forme chronique de l'arthrose, associé à un AINS pour le traitement ponctuel de la douleur aiguë ainsi que pour les premières semaines de traitement, jusqu'à ce que l'efficacité du complément soit perceptible. En cas d'échec thérapeutique, il convient également d'attendre un délai de quatre à six semaines avant de juger de l'éventuelle inefficacité du traitement (Bietrix 2004).

Face aux constats de ces limites, de nouvelles thérapies ont été proposées.

III. ACTUALITÉS DANS LES TRAITEMENTS CONTRE L'ARTHROSE

Les connaissances acquises de la physiopathologie de l'arthrose ont conduit à l'identification de nouvelles cibles pour les traitements contre l'arthrose. Deux cibles évidentes ont été identifiées : les métalloprotéinases et l'IL-1.

Nous verrons dans cette partie un aperçu des nouveaux traitements qui peuvent être proposés dans le cadre d'un traitement contre l'OA chez le cheval, avant de s'intéresser de plus près dans la 3^e partie à l'utilisation du plasma enrichi en plaquettes comme nouveau choix thérapeutique.

A. L'inhibition des métalloprotéinases

Plusieurs molécules sont à l'origine d'une inhibition des métalloprotéinases. Il peut s'agir d'inhibiteurs à base de peptides comme l'acide hydroxamique, d'inhibiteurs non peptidiques comme la doxycycline (tétracycline modifiée chimiquement), ou encore d'inhibiteurs naturels comme les acides gras ω 3 ou l'huile de poisson (MCILWRAITH 2010).

Aucune évaluation *in vivo* des inhibiteurs des métalloprotéinases n'a été faite chez le cheval. Cependant, une étude basée sur le modèle d'une arthrose expérimentale induite chez le chien n'a pas permis de démontrer l'efficacité d'inhibiteur des métalloprotéinases (MCILWRAITH 2010).

La perspective d'une utilisation future d'inhibiteurs des métalloprotéinases chez le cheval semble donc peu probable.

B. L'inhibition de l'IL-1 : apparition de l'IRAP

L'IRAP – pour *Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein (IL-1ra protein)* – a connu une effervescence au cours de ces dernières années.

Comme vue dans la première partie, le médiateur communément admis comme étant au sommet de la cascade de la dégradation du cartilage dans l'arthrose est l'interleukine-1 β (IL-1 β). L'IL-1 β active notamment les MMPs, l'agrécánases et la libération de PGE₂ par l'intermédiaire de récepteurs IL-1 présents sur les membranes cellulaires cibles.

Il existe deux méthodes possibles pour l'inhibition de l'IL-1 :

- La première consiste à l'utilisation d'un antagoniste compétitif se liant au même récepteur de l'IL-1 sans entrainer d'action biologique, et bloquant ainsi l'action de l'IL-1. Cette protéine antagoniste est appelée IL-1rap ou IRAP pour *interleukin-1 receptor antagonist protein*.
- La seconde méthode de blocage de l'IL-1 est l'utilisation de récepteurs solubles permettant à l'IL-1 de se lier, au même titre que l'IL-1 se lie sur son récepteur membranaire. Bien que cette dernière méthode ait été utilisée pour inhiber le TNF α , il n'existe à l'heure actuelle aucune technique permettant l'utilisation de récepteurs solubles à l'IL-1 utilisable sur un plan thérapeutique (MCILWRAITH 2010).

Le concept de l'IRAP a été développé en Europe avec l'avènement d'un produit nommé Orthokine® par une société allemande Orthogen AG. Le principe est que le sang périphérique est recueilli dans une seringue contenant des billes de verre trempées dans du sulfate de chrome et subit une incubation de 24 heures suivie par une centrifugation. Le sérum autologue modifié est alors ensuite utilisé dans une série d'injections intra-articulaires (Wehling et al. 2007).

Plusieurs études ont prouvé les bienfaits de l'utilisation de l'Orthokine® (Baltzer et al. 2009; Frisbie et al. 2007; Frizziero et al. 2012; Wehling et al. 2007; Yang et al. 2008).

Dans l'étude de Baltzer *et al.*, les auteurs ont comparé les effets d'injections intra-articulaires d'acide hyaluronique (120 patients ont reçu 2mL d'une solution d'AH à 1% d'un poids moléculaire de 1,4.10⁶D une fois par semaine, 3 fois), d'Orthokine® (50mL de sang ont été prélevés à 126 patients pour la préparation du produit, puis ont reçu une injection deux fois par semaine pendant 6 semaines) ou d'une solution saline (99 patients ont reçu une injection

de NaCl par semaine, 3 fois) sur 26 semaines, avec un contrôle téléphonique au bout de deux ans. Les auteurs de cette étude concluent que dans tous les groupes, les injections intra-articulaires ont produit une réduction des symptômes ainsi qu'une amélioration de la qualité de vie. Cependant, les améliorations induites par l'utilisation d'Orthokine® étaient significativement supérieures à celles induites par l'acide hyaluronique ou la solution saline. Ils soulignent également qu'il n'y a pas de différence significative entre les effets de l'acide hyaluronique et de la solution saline (Baltzer et al. 2009).

Yang *et al.* nuancent cependant les effets de l'Orthokine® par rapport au placebo dans leur étude de 2008. En se basant sur l'index WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, se conférer à l'annexe 3 pour un exemple de questionnaire), les résultats de leur étude ne semblent pas donner de différence significative entre les patients traités avec l'Orthokine® par rapport aux patients ayant reçu la solution saline. En se basant sur un autre indice de mesure, le KOOS (Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score, se conférer à l'annexe 4 pour un exemple de questionnaire), les auteurs concluent cependant à une amélioration du score KOOS pour les patients ayant reçu le traitement à base d'Orthokine® par rapport au traitement placebo (Yang et al. 2008).

En ce qui concerne les chevaux, Wehling *et al.* ont réalisé une étude à l'Université du Colorado sur les effets d'un traitement à base de sérum autologue conditionné (traitement Orthokine®) sur 16 chevaux ayant une OA induite expérimentalement. Le lot témoin est composé de 8 chevaux ayant reçu une solution de 6 mL de PBS (*phosphate-buffered saline*) et le lot traité est composé de 8 chevaux ayant reçu 6 mL de sérum autologue conditionné. Tous les chevaux ont reçu la solution par voie intra-articulaire aux 14^e, 21^e, 28^e et 35^e jours. La conclusion de cette étude est que les chevaux traités avec le sérum autologue conditionné ont montré une amélioration clinique significative par rapport au lot témoin (Wehling et al. 2007). L'étude de Frisbie *et al.* va dans le même sens (Frisbie et al. 2007).

Face aux résultats très prometteurs de ces études, il est intéressant de se pencher sur la comparaison de l'efficacité entre les injections intra-articulaires d'IRAP et de corticostéroïdes.

C. Les cellules souches

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) ont reçu une attention considérable et ont été utilisées chez le cheval en injections intra-articulaires pour de multiples indications (MCILWRAITH 2010).

Les cellules souches ont deux caractéristiques fondamentales: elles sont capables de s'autorenouveler en permanence et sont capables de se différencier en de nombreux types cellulaires spécialisés (Taylor, Smith, Clegg 2007).

- Les cellules souches totipotentes sont capables de créer un organisme entier.
- Les cellules souches pluripotentes sont récoltées à partir du blastocyste embryonnaire et sont capables de se différencier en cellules des trois lignées germinales de mammifères (mésoderme, endoderme et ectoderme) dans des conditions de signalisation spécifique.
- Les cellules souches multipotentes sont quant à elles capables de se différencier en un nombre limité de différentes lignées et aboutissant à des cellules plus spécialisées, par exemple ostéocytes, les chondrocytes et les adipocytes (Taylor, Smith, Clegg 2007). Ces cellules multipotentes sont obtenues à partir de la fraction non hématopoïétique de la moelle osseuse.

Le but de l'utilisation thérapeutique des cellules souches mésenchymateuses dans les maladies musculo-squelettiques est d'exploiter la nature de régénération de ces cellules en se concentrant sur leur potentiel de croissance pour la formation de nouveaux tissus et organes pour remplacer les tissus endommagés, ainsi que leur effet immunomodulateur (Taylor, Smith, Clegg 2007). L'isolement en laboratoire des cellules souches mésenchymateuses est maintenant bien établi et a été récemment démontré pour les CSM équines. Les cellules souches suscitent un intérêt considérable dans les communautés scientifiques et cliniques en raison de leur potentiel pour la régénération des tissus.

En ce qui concerne l'utilisation intra-articulaire de CSM, Frisbie *et al.* ont étudié les différences entre l'utilisation de cellules de la fraction stroma-vasculaire du tissu adipeux chez 8 chevaux, l'utilisation de CSM issues de la moelle osseuse chez 8 chevaux et 8 chevaux ont reçu un traitement placebo sur un modèle d'OA induite expérimentalement. L'évaluation inclut l'évolution clinique, radiographique, l'analyse du liquide synovial, l'analyse histologique, histochimique, et des évaluations biochimiques. Cette étude n'a révélé aucun

effet significatif pour les trois lots, à l'exception de l'amélioration des taux de PGE₂ dans le liquide synovial chez les chevaux traités avec des CSM, en comparaison au groupe placebo (Frisbie, Kisiday, et al. 2009). Les résultats de cette étude ne sont donc pas un argument suffisant pour recommander l'utilisation de cellules souches dans le cadre du traitement de l'arthrose chez les chevaux.

Une étude rétrospective de 2012 apparaît cependant plus encourageante, bien que cette étude ne fasse référence que d'un seul cas (Spaas et al. 2012). Il s'agit d'un étalon de selle Allemand de 5 ans présentant une boiterie chronique attribuable à une maladie articulaire dégénérative de l'articulation interphalangienne proximale ne répondant pas aux traitements médicaux. Cet étalon a été traité avec des cellules souches mésenchymateuses autologues. Ces CSM ont été isolées à partir du sang périphérique du patient et injectées dans l'articulation du paturon, à une concentration de 2.5×10^6 cellules, deux fois à 8 semaines d'intervalle. La réponse positive à ce traitement a été argumentée par l'amélioration visuelle de la boiterie, ainsi que par des analyses moins subjectives : par l'usage de plaques de mesure de pression (Spaas et al. 2012).

Ce document est le premier à décrire l'utilisation de CSM autologues issue de sang périphérique pour traiter un cheval souffrant de maladie articulaire dégénérative chronique. L'issue favorable de ce cas unique peut stimuler la recherche sur l'utilisation de sang périphérique comme une source de CSM autologues en médecine régénérative équine.

D. Le RGTA

Le RGTA – pour ReGeneraTing Agents – est apparu depuis comme nouvelle approche pour l’AO chez les chevaux.

Il s’agit de biopolymères de synthèse à base de glucose intervenant dans la reconstruction et la protection de la matrice extracellulaire (Barritault, Caruelle 2006; Guenec 2003). Les facteurs de croissance, cytokines, interleukines...sont stockés dans la matrice extracellulaire via des interactions spécifiques avec des polysaccharides sulfatés représentés par les héparanes sulfates. C’est par ce stockage que ces molécules sont protégées contre la protéolyse.

Or, à la suite d’une agression ou d’une lésion tissulaire, les héparanes sulfates sont dégradées, et libèrent ainsi ces facteurs, facteurs susceptibles d’être dégradés par les protéases (Barritault, Caruelle 2006).

Le but de l’utilisation du RGTA est qu’il se substitue aux glycosaminoglycanes et principalement aux héparanes sulfates endogènes afin de protéger les facteurs de croissance. L’utilisation du RGTA est très variée : de la cicatrisation cutanée, à la cicatrisation osseuse, en passant par l’étude sur la récupération fonctionnelle des muscles squelettiques ou encore son rôle dans les affections cardio-vasculaires, le RGTA a fait l’œuvre de plusieurs essais (Guenec 2003).

Bien que des résultats très prometteurs soient décrits chez l’homme au niveau de la cicatrisation cutanée et cornéenne (Aifa et al. 2012; Colombier et al. 1999; Khammari Chebbi et al. 2008; Meddahi et al. 2002), peu d’études sont actuellement présentes en ce qui concerne l’utilisation du RGTA pour le traitement contre l’OA.

3^e partie : UNE NOUVELLE APPROCHE POUR LE TRAITEMENT DE L'ARTHROSE RÉFRACTAIRE CHEZ LE CHEVAL : LE PLASMA ENRICHIS EN PLAQUETTES

Les plaquettes sont connues pour leur participation dans le rôle de l'hémostase où elles contribuent activement dans la formation du clou plaquettaire lors d'une brèche vasculaire : les plaquettes, une fois activées vont se lier au collagène et au facteur de Willebrand. Dans un second temps, la coagulation plasmatique va avoir lieu, conduisant à la production de thrombine et à la formation de fibrine (Anitua et al. 2004).

Les plaquettes libèrent également des substances qui favorisent la réparation tissulaire et qui influencent les cellules sanguines dans l'angiogenèse et les processus inflammatoires, notamment au niveau osseux, cutané, musculaire et tendineux. Plus de 1 500 protéines sont stockées au sein des plaquettes, par exemple les facteurs de croissance PDGF, les TGF- β 1 et TGF- β 2, FGF, EGF et VEGF, ainsi que des cytokines, telles que le PF4 et CD40L¹³. Une fois ces facteurs de croissance et cytokines libérés, des chimiokines et de métabolites actifs nouvellement synthétisés vont être également libérés en réponse (Anitua et al. 2004; Boyan et al. 2007; Fortier et al. 2011; Issa et al. 2007; Smets et al. 2012). Grâce à la modulation de la réponse inflammatoire, la promotion de l'angiogenèse locale, l'attraction des fibroblastes et des cellules souches présentes au site de la lésion, mais aussi grâce à l'induction de la production de facteurs de croissance par les cellules adjacentes non blessées, les plaquettes et leurs produits jouent un rôle dans la réparation de tissu normal, mais aussi dans la régénération (Fortier et al. 2011).

Le tableau 14 ci-dessous est un résumé provenant de la synthèse bibliographique de Fortier *et al.* répertoriant les effets des facteurs de croissance sur les chondrocytes, le cartilage, le synovium et les cellules souches mésenchymateuses *in vitro* et *in vivo*. Il est en effet important de se souvenir de ces actions spécifiques pour la compréhension de l'intérêt de l'utilisation des plaquettes comme nouveau traitement de l'arthrose.

¹³ PDGF : Platelet-derived growth factor, TGF- β : Transforming growth factor, FGF : Fibroblast growth factor, EGF : Epidermal growth factor, VEGF : Vascular endothelial growth factor, PF4 : Platelet factor 4, CD40L : glycoprotéine membranaire CD40 ligand

Facteurs de croissance	Action sur les chondrocytes et le cartilage	Action sur le synovium	Action sur les cellules souches mésenchymateuses
TGF-β1	Stimule la synthèse de la MEC Diminue l'activité catabolique des IL-1 et des MMPs	Cause une prolifération synoviale et une fibrose Induit un chimiotactisme des leucocytes inflammatoires vers le synovium Induit la formation d'ostéophyte	Augmente la prolifération et la production de MEC Inhibition de l'expression génétique du collagène de type 1
BMP-2	Stimule la synthèse de la MEC Reprise partielle du phénotype dédifférencié dans l'OA Augmentation du turn-over de la MEC (augmentation de la dégradation des agrécanes)	Rôle présumé dans la maturation des ostéophytes Des injections multiples entraînent une fibrose synoviale Stimule l'épaississement synovial dans l'AO expérimentale	Augmente la prolifération et la production de MEC Inhibition de l'expression génétique du collagène de type 1
BMP-7	Stimule la synthèse de la MEC Diminue la dégradation du cartilage en diminuant l'activité et l'expression de nombreuses cytokines cataboliques (IL-1, IL-6, IL-8, MMP-1 et MMP-13)	Diminue l'expression des MMPs et des agrécanases Ne serait pas à l'origine de formation d'ostéophyte ou de fibrose synoviale	Inhibe la prolifération cellulaire Ne peut induire la chondrogenèse seul Potentialise la différenciation chondrocytaire des cellules souches mésenchymateuses en combinaison avec le TGF-β résultant par une augmentation de la synthèse de MEC et la diminution de collagène de type 1
IGF-1	Stimule la synthèse de la MEC Diminue le catabolisme matriciel sauf en cas d'OA ou chez les sujets âgés	Effet protecteur sur la synoviale entraînant une diminution de l'épaississement et une diminution des signes d'inflammation chronique	Stimule la prolifération cellulaire Augmente l'expression de la MEC Effet addictif en combinaison avec le TGF-β
FGF-2 ou bFGF	Diminue l'activité des agrécanases Antagoniste de la synthèse des PG À l'origine d'un rétrocontrôle positif sur la synthèse des MMPs	Induit la prolifération synoviale Inflammatoire et induit la formation d'ostéophyte quand il est utilisé seul	Augmente la synthèse de PG Augmente la prolifération cellulaire
FGF-18	Augmente la prolifération des chondrocytes et stimule la MEC in vitro dans des articulations atteintes, mais pas dans des articulations saines	Induit l'épaississement synovial Provoque l'élargissement des chondrocytes dans une OA induite expérimentalement	
PDGF	Aucun effet démontré dans les articulations saines	Aucun effet démontré dans les articulations saines	Induit la prolifération

Tableau 14 - Résumé des effets des facteurs de croissance sur les chondrocytes, le cartilage, le synovium et les cellules souches mésenchymateuses in vitro et in vivo d'après Fortier et al, 2011

TGF-β1 : Transforming growth factor 1β, **BMP** : Bone morphogenetic protein, **IGF-1** : Insulin growth factor 1, **FGF** : Fibroblast growth factor, **bFGF** : basic FGF, **PDGF** : Platelet-derived growth factor, **MEC** : matrice extracellulaire, **IL** : interleukine, **MMP** : métalloprotéases matricielles, **OA** : ostéoarthrose, **PG** : protéoglycanes.

Le fait que les plaquettes sécrètent des facteurs de croissance et des métabolites actifs signifie que leur utilisation peut avoir une influence positive dans des situations cliniques nécessitant une cicatrisation rapide, voire une régénération. C'est dans cette optique que de nouvelles thérapies sont développées.

I. DESCRIPTION DU PLASMA RICHE EN PLAQUETTES (PRP)

A. Définitions

Le PRP est défini par la Croix-Rouge américaine (*American Red Cross*) comme un échantillon de plasma ayant une concentration en plaquettes au moins deux fois supérieure à celle des niveaux de base, ou une concentration supérieure à $1,1 \cdot 10^6$ plaquettes/ μL (Fortier et al. 2011).

Le PRP est obtenu à partir d'un prélèvement de sang du patient dans un milieu enrichi en anticoagulant. La centrifugation sépare le sang total en deux composants en fonction de leur densité respective : le plasma et les érythrocytes. À l'interface entre le plasma et les érythrocytes une petite couche visible appelée couche leucocytaire ou encore *buffy coat* est présente. C'est au sein de cette couche et à l'interface entre le plasma et cette fine couche leucocytaire que sont concentrées les plaquettes après centrifugation.

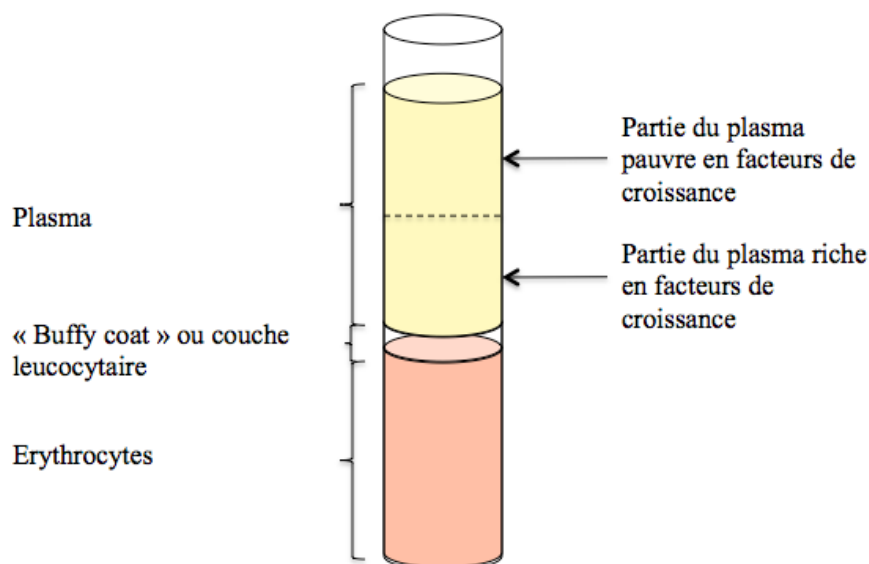


Figure 12 – Répartition des différentes couches obtenues après centrifugation
Le culot contient les érythrocytes et le surnageant le plasma. À l'interface entre culot et surnageant se situe le *buffy coat* ou couche leucocytaire.

Selon le dispositif utilisé, mais aussi la technique employée, le PRP peut contenir des quantités variables de plasma, d'érythrocytes, de plaquettes et de leucocytes. Il est généralement convenu que le PRP doit avoir au minimum 5 fois plus de plaquettes par rapport aux valeurs de référence pour le sang total afin d'être considéré comme « riche en plaquettes » (Sutter 2007). Cette valeur seuil est soutenue par des travaux *in vitro* montrant une relation dose-réponse positive entre la concentration des plaquettes et la prolifération des cellules souches mésenchymateuses humaines, la prolifération des fibroblastes et la production de collagène de type I (Hayenesworth, Kadiyal, Liang 2002).

Le PRP utilisé est autologue (donneur et patient sont les mêmes). Le terme de « concentré de plaquettes » (ou PC pour *Platelet Concentrate*) est parfois utilisé de façon interchangeable avec le PRP. Il ne semble pas y avoir de distinction officielle entre les termes, mais il est possible de produire un culot de plaquettes qui est essentiellement dépourvu de plasma. Certains auteurs font la différence entre P-PRP (pour *pure PRP*) et L-PRP (pour *leucocyte-rich PRP*). Cette différence repose sur la fraction prélevée lors de la centrifugation, comme expliqué dans la figure 13 (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

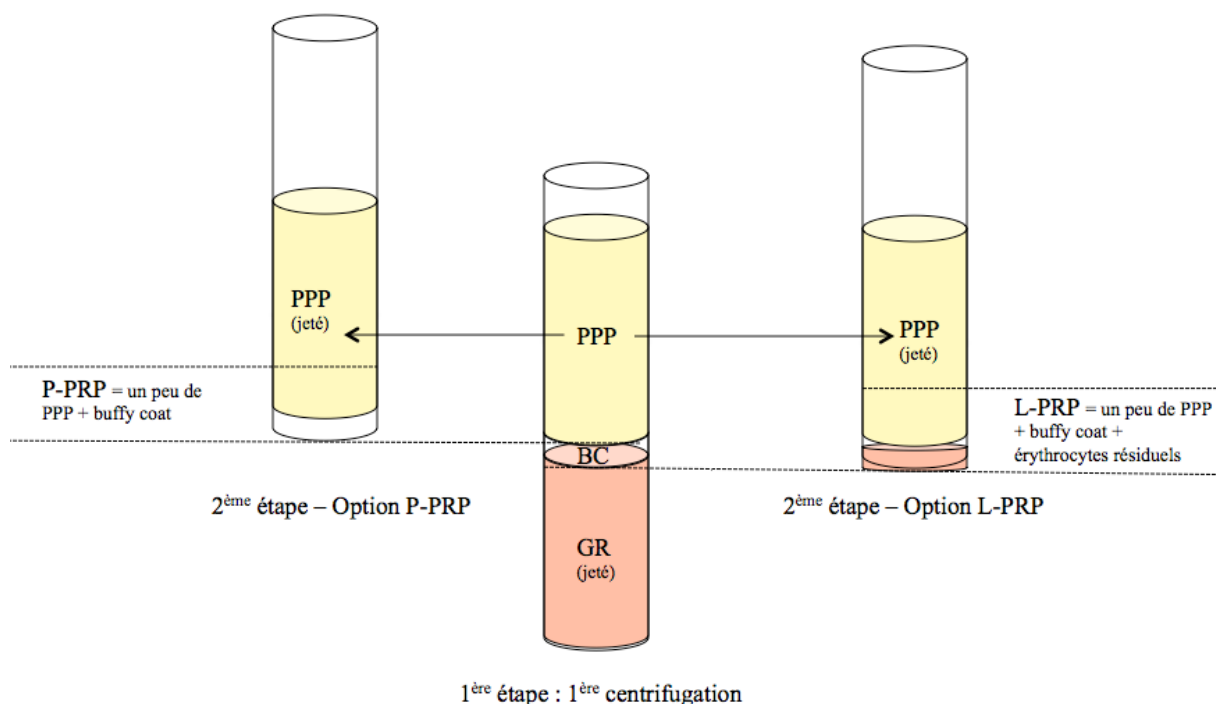


Figure 13 – Protocole de séparation manuelle pour l'obtention de PRP par double centrifugation. La première étape consiste à la centrifugation à faible vitesse de sang total collecté dans un tube avec anticoagulant. Les trois compartiments ainsi obtenus sont les érythrocytes ou globules rouges (GR), la couche leucocytaire ou « buffy coat » (BC) et le plasma pauvre en plaquette (PPP). Pour la deuxième étape, deux choix sont possibles. Soit la centrifugation a lieu sur le prélèvement du PPP uniquement (une fine quantité de buffy coat est alors prélevée automatiquement), soit la centrifugation se réalise sur le prélèvement du PPP et du BC (une fine quantité de la couche d'érythrocytes est alors prélevée automatiquement). Dans le premier cas, après deuxième centrifugation est obtenu un P-PRP (pure PRP) en prélevant le culot, et dans le deuxième cas un L-PRP (PRP riche en leucocytes) est obtenu. (Figure modifiée d'après Dohan Ehrenfest *et al.*, 2009)

Il faut donc noter que le PRP ou concentré plaquettaire est bien plus qu'un simple concentré de plaquettes, il contient les 7 facteurs de croissance fondamentaux (3 isomères de PDGF, TGF- β 1 et TGF- β 2, VEGF et EGF), mais également 3 protéines sanguines connues pour agir en tant que molécules d'adhésion cellulaire pour l'ostéoconduction,¹⁴ mais aussi comme matrice pour l'os, le tissu conjonctif et la migration épithéliale. Ces molécules d'adhésion cellulaire sont la fibrine elle-même, la fibronectine, et la vitronectine (Issa et al. 2007).

B. Obtention du PRP

1. Généralités

Produire du PRP est relativement simple, il existe même de nombreuses sociétés proposant des appareils pour pouvoir en produire soi-même (Tableau 15, p 132). Il s'agit par exemple du Vet-Stem GenesisCS-2. Le système est fermé, ce qui réduit toute possibilité de contamination, et les produits jetables stériles à usage unique ne sont utilisés qu'une seule fois sur le patient sélectionné. Généralement, le sang total est collecté de façon stérile dans une seringue avec un anticoagulant acide-citrate-dextrose. Il serait déconseillé d'utiliser du citrate-phosphate-dextrose ou de l'héparine comme anticoagulant selon les recommandations du fabricant (Annexe 5 – Notice de recommandations de l'appareil Vet-Stem GenesisCS-2). 8 mL d'anticoagulants sont mélangés avec 52mL de sang total dans une seringue de 60 mL. Le sang doit être recueilli à l'aide d'une aiguille de calibre 18.

Certains auteurs ont étudié la différence entre simple et double centrifugation pour la préparation manuelle de concentré en plaquettes. Dans l'étude d'Argüelles *et al.*, des échantillons de sang total ont été collectés à partir de chevaux cliniquement sains et centrifugés une fois ou deux fois (Argüelles et al. 2006). Lors de la première centrifugation, deux fractions sont obtenues : PC-A et PC-B. La fraction PC-A est alors centrifugée une deuxième fois et deux nouvelles fractions sont obtenues : PC-C et PC-D (Figure 14, p130).

¹⁴ Ostéoconduction : propriété passive d'un matériau à recevoir la repousse osseuse, par invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur, au contact de ce matériau, http://www.icv-ordeaux.fr/pathologies/divers/substitut_osseux.pdf

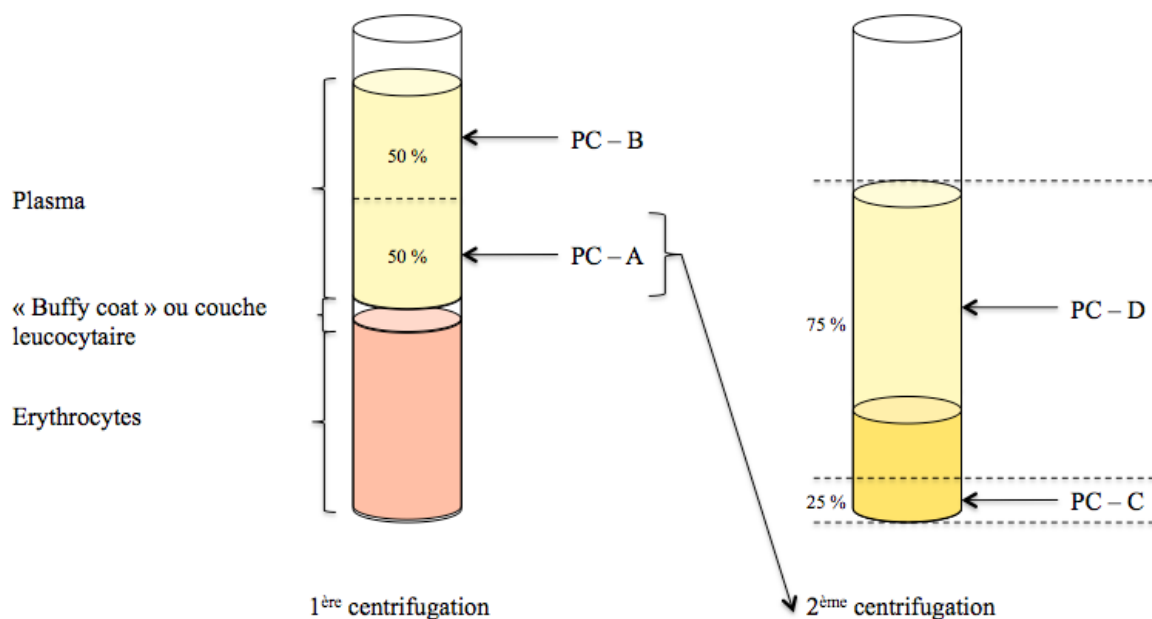


Figure 14 – Protocole de séparation par simple et double centrifugation. La simple centrifugation est obtenue après centrifugation pendant 5 minutes à 120g. Deux fractions sont obtenues : PC-A et PC-B. Il a été choisi par les auteurs de dénommer PC-A les 50% de la fraction la plus proche du buffy coat et PC-B les 50% de la fraction du surnageant restant. La double centrifugation est obtenue par centrifugation de la fraction PC-A pendant 5 minutes à 240g. Les auteurs ont choisi d'appeler PC-C la fraction correspondante au 25% du culot et PC-D les 75% de l'échantillon restant. Figure d'après Argüelles *et al.* 2006.

Ces quatre concentrés plaquettaires ont alors été analysés à l'aide d'un système de cytométrie de flux (volume moyen de plaquettes, largeur de distribution des plaquettes, concentration de composant plaquettaire moyenne, largeur de distribution de composant plaquettaire moyenne sont les paramètres retenus). Les concentrations de facteur de croissance TGF- β 1 ont également été déterminées dans tous les échantillons.

Les concentrations en plaquettes pour les échantillons PC-A, B-PC, PC-C, et PC-D étaient respectivement de 45%, 44%, 71% et 21%, par rapport aux valeurs pour les échantillons de sang total citraté. Les concentrations en TGF- β 1 pour les échantillons PC-A, B-PC, PC-C, et PC-D étaient respectivement de 38%, 44%, 44% et 37%, par rapport aux valeurs pour les échantillons de sang total citraté.

La centrifugation semble donc être une méthode de choix pour l'obtention d'un concentré riches en plaquettes. La centrifugation simple comme double semble également être une technique fiable pour l'obtention de niveaux de TGF- β 1 potentiellement thérapeutiques (Argüelles *et al.* 2006). Comme nous pouvons le noter dans cette étude, peu de différence significative est notée en ce qui concerne les niveaux de TGF- β 1. Cependant, comme les

auteurs le signalent, il ne s'agit dans cette étude que de la mesure d'un seul facteur de croissance (le TGF- β 1) et il existe de nombreux autres facteurs de croissance ayant une importance dans la réparation tissulaire, dont les concentrations pourraient dépendre non seulement de la numération plaquettaire, mais aussi du nombre de leucocytes et de la production hépatique, entre autres.

Une des alternatives à la double centrifugation manuelle est l'aphérèse suivie d'une filtration. Dans une étude comparant un protocole d'obtention de concentré plaquettaire par double centrifugation et par aphérèse suivie d'une filtration, les auteurs concluent que le nombre de plaquettes et de leucocytes disponibles ainsi que les concentrations TGF- β 1 et TGF- β 2 par la première méthode (buffy coat) sont inférieurs par rapport à la méthode par aphérèse suivie d'une filtration (Sutter, Kaneps, Bertone 2004). Il est cependant nécessaire de préciser que les résultats de cette étude ne sont pas significatifs quant à la différence entre buffy coat et aphérèse en ce qui concerne les taux de TGF- β 1. Cette méthode pourrait donc être une alternative à la préparation de PRP. Bien entendu, la question de la disponibilité de cette méthode et du coût en limite l'utilisation pour le moment.

Dans le tableau 15 de la page suivant sont regroupées différentes méthodes de fabrication du PRP, selon une étude de synthèse apparue en 2012 (Smets et al. 2012).

Méthode utilisée	Nom de l'appareil	Produit obtenu	Concentration plaquettaire par rapport à la normale	Récupération plaquettaire (%)	Contenu du produit obtenu
Technique « bouée flottante »	Biomet GPS	PCP	6 – 9 x	70	Buffy coat : plaquettes hyper concentrées, fractions de GB, nombre de GR minimal
	Harvest	PRP	4,6 x	72	
	SmartPrep 2	PRP	4,0 x		
	BMACDepuy Symphony II	PRP	4,0 x		
Système basé sur le <i>cell saver</i>	Electa, Haemonetics, CATS, BRAT	PRP	4 – 6 x	75	Concentré plaquettaire uniquement
Système assisté par l'informatique	Sorin Angel	PRP	4,3 x	70	Buffy coat : plaquettes hyper concentrées, fractions de GB, nombre de GR minimal
	Arteriocyte Medical (Magellan)	PRP	5,1 x	76	
Centrifugation standard	Autologel system Smart PReP	PRP	1 – 2 x	78	Plaquettes peu concentrées dans une suspension plasmatique, nombre de GB minimal
	Cascade PRFM fibrinet system	PRFM	1 – 2 x	78	Membrane de fibrine riche en plaquettes
	Choukroun's PRF	PRF	1 – 2 x	70	Leucocytes et fibrine riche en plaquettes
	PRGF system	PRGF	3 – 4 x	80	Bon équilibre entre nombre de plaquettes et quantité de plasma nombre de GB et GR minimal
Système d'aphérèse	COM.TEC Fresenius	PRP	*	-	Concentré plaquettaire uniquement
Siphonnage direct	Genesics CS	PRP	6 x	68	Concentré plaquettaire, GB à travers le siphon
Aspiration directe	Secquire Arthrex ACP	PRP ACP	1,6 x 2,0 x	31	Aspiration manuelle du plasma et des plaquettes après centrifugation
Séparation plaquettaire	Vivostat	PRF	6,0 x	65	Fibrine riche en plaquettes Membrane de fibrine
Filtration plaquettaire	Caption	CP	4,3 x	-	Concentré plaquettaire sans plasma

Tableau 15 – Méthodes de fabrication du PRP, d'après Smets et al, 2012

* : Choix de la concentration en fonctions des paramètres du patient et du produit désiré

ACP : autologous concentrated plasma, CP : concentré plaquettaire, PCP : platelet concentrated plasma, PRF : platelet rich fibrin, PRFM : platelet-rich fibrin matrix, PRGF : plasma rich in growth factors, GB : globules blancs, GR : globules rouges

2. Rôle des leucocytes

La littérature traitant des concentrés plaquettaires ignore souvent l'impact des leucocytes, mais aussi de la fibrine. Le rôle des leucocytes dans les thérapies à base de PRP est un sujet controversé, car aucune comparaison clinique directe entre les L-PRP et le P-PRP n'a été entreprise.

Dans une synthèse publiée par l'*Equine Veterinary Education* de 2011 (McLellan, Plevin 2011), McLellan nous rapporte qu'Anitua *et al.* ont recommandé l'exclusion des globules blancs pour les préparations de PRP. Cette recommandation est basée principalement sur l'observation que les neutrophiles libèrent des facteurs pro-inflammatoires comme l'IL-1, les TNF, l'IL-6 (Schnabel *et al.*, 2007), les MMPs 8 et 9 (Bramono *et al.*, 2004); mais aussi des dérivés réactifs de l'oxygène pouvant aggraver les dommages d'origine (Tidball 1995). Beaucoup de chercheurs humains (Smets *et al.* 2012) comme équins sont d'accord avec ce sentiment (McCarrel *et Fortier* 2009) et recommandent une concentration en globules blancs maximum de $0,1-3 \times 10^9/L$ pour éviter l'accumulation de cytokines inflammatoires.

Or, il a été montré que les globules blancs augmentaient la concentration en facteurs de croissance dans les concentrés plaquettaires (Zimmermann *et al.*, 2001). Par ailleurs, ils peuvent favoriser une action anti-infectieuse, ce qui peut être un avantage thérapeutique (Moojen *et al.* 2008 ; Cieslik-Bielecka *et al.*, 2009). Dans leur synthèse bibliographique, Dohan *et al.* font également référence à plusieurs études qui ont souligné le rôle clé des leucocytes dans l'utilisation de PRP (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009) : qu'il s'agisse de leur action anti-infectieuse ou de la régulation immunitaire, les leucocytes semblent avoir un impact intéressant dans l'utilisation du PRP. Outre cet effet anti-infectieux, les leucocytes produiraient de grandes quantités de VEGF. Les plaquettes sont en effet connues pour contenir des stimulateurs de l'angiogenèse, tels que le VEGF et le bFGF, mais aussi des inhibiteurs, tels que l'endostatine et la thrombospondine-1 (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009). Par conséquent, Dohan *et al.* précisent que la présence de VEGF (due à la présence de leucocytes) lors de préparation du PRP pourrait être d'une importance cruciale pour la promotion de l'angiogenèse.

Il n'y a donc aucune preuve concluante indiquant que les leucocytes devraient soit être inclus, soit exclus des préparations de PRP. Il se peut que l'inclusion ou l'exclusion de globules blancs ne puisse être généralisé à tous les tissus ou type de blessures : Carmona *et al.* précisent à l'occasion du 14^e congrès scientifique annuel du Collège européen de chirurgie

vétérinaire (*14th Annual Scientific Meeting of European College Veterinary Surgery*), que l'utilisation de PC-C (la fraction correspondant au 25% présent au fond du tube après une deuxième centrifugation, cf figure 14, p130) par voie intra-articulaire chez des chevaux atteints de maladies articulaires sévères entrainerait un épanchement articulaire ainsi qu'une inflammation lors des premiers jours suivant le traitement. Ces effets cliniques pourraient être expliqués par l'effet chimiotactique des leucocytes présents en concentrations élevées dans ce concentré de plaquettes. Cependant, cet effet clinique n'a pas été observé chez les chevaux traités par le même PC pour des lésions du tissu mou (Argüelles et al. 2006). Ces observations cliniques suggèrent que les composants cellulaires du concentré plaquettaire utilisé à des fins thérapeutiques chez les chevaux doivent être adaptés en fonction du type de tissu à traiter.

Par ailleurs, la teneur en leucocytes ne semble pas induire d'effet négatif ou ne semble pas altérer les effets potentiellement bénéfiques du PRP, même lorsqu'il est utilisé dans les articulations (Everts PA 2008). Dohan *et al.* évoquent que des recherches récentes ont montré que le L-PRP était capable de stimuler l'anabolisme et les capacités de remodelage des tendons et pourrait être utilisé avec succès sous forme injectable pour le traitement des tendinites. Les injections de L-PRP pourraient également être utilisées pour le traitement des os longs à retard de cicatrisation (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

Une réaction immunitaire incontrôlée de L-PRP n'a pas été signalée et, au contraire, leur utilisation a été en mesure de diminuer la douleur et l'inflammation au sein des sites traités. Cependant, les effets respectifs des plaquettes et des leucocytes dans les concentrés plaquettaires n'ont pas encore été analysés, et la contribution des leucocytes à l'effet global demeure incertain, bien que l'hypothèse d'effets synergiques peut être émise (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

Par conséquent, l'influence des leucocytes sur la biologie de chaque produit et ses avantages potentiels devraient maintenant être soigneusement analysés. L'influence de ces leucocytes pourrait expliquer beaucoup de données controversées de la littérature.

3. Importance de l'absence de globules rouges dans le PRP

Il est admis que l'absence d'érythrocytes s'avère nécessaire étant donné que leur lyse est à l'origine d'une libération de radicaux libres, dont les effets sont connus comme étant dommageables pour les structures tissulaires (Smets et al. 2012).

4. Rôle de la fibrine

Par ailleurs, la densité de la matrice de fibrine et sa composition sont deux autres paramètres essentiels à prendre en considération. Or, la plupart des études portant sur les effets biologiques des concentrés plaquettaires se concentrent sur l'étude des facteurs de croissance et ignorent l'influence de la matrice de fibrine.

La concentration de fibrinogène varie considérablement entre les différentes méthodes; par exemple, dans les protocoles de P-PRP, le fibrinogène provient principalement des granules α libérées par les plaquettes après leur activation et la concentration finale de fibrine est donc faible, alors que dans d'autres protocoles, le fibrinogène circulant est également recueilli et renforce le réseau de fibrine final. Les concentrés plaquettaires doivent être analysés comme un tout, comme un assemblage de plaquettes et de leucocytes au sein d'une matrice de fibrine complexe.

De nouveaux protocoles ont donc été mis en place, n'utilisant pas d'anticoagulant lors de la collecte du sang et aboutissant donc à un « platelet-rich fibrin » (PRF). Une classification a lieu comme pour le P-PRP et L-PRP, selon la fraction prélevée pour la centrifugation sont obtenus du P-PRF (pour *pure platelet-rich fibrine*) ou du L-PRF (pour *leucocyte and platelet-rich fibrin*) (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

5. Rôle de l'IGF-1

Dans cette étude, Sutter *et al.* s'intéressent également à la concentration en IGF-1 présente au sein des concentrés de plaquettes (Sutter, Kaneps, Bertone 2004). Ils montrent que les concentrations en IGF-1 sont en fait significativement plus faibles dans les concentrés plaquettaires obtenus par la méthode « buffy coat », par rapport aux concentrés de plaquettes obtenus par aphérèse et par rapport aux échantillons de sang total. Les résultats de plusieurs études chez l'homme ont montré des résultats similaires. Les résultats d'une autre étude ont révélé que la concentration en IGF-1 dans les dérivés de plaquettes humains était inférieure à 0,1% de la concentration totale en IGF-1 circulant dans le sang (Karey, Sirbasku 1989). Par conséquent, les concentrations en IGF-1 dans le concentré plaquettaire pourraient être considérées comme un reflet de la quantité de plasma restant dans l'échantillon, la technique du buffy coat éliminant la majeure partie du plasma de l'échantillon dans la dernière étape de traitement.

C. Fonctionnement

1. Activation des plaquettes

Le PRP exerce son effet biologique par l'activation et la dégranulation des plaquettes (McLellan, Plevin 2011). L'activation prématurée pendant le protocole de fabrication peut conduire à une perte importante des facteurs de croissance se retrouvant alors dans le surnageant qui sera jeté ultérieurement, réduisant ainsi l'utilité thérapeutique de la préparation (Argüelles et al. 2006). Une fois préparé, il est donc nécessaire d'activer les plaquettes afin de pouvoir utiliser le PRP. Cela se fait généralement avec l'addition de calcium, de thrombine bovine, de thrombine autologue ou seule ou en combinaison (Sutter 2007).

Il a cependant été montré que la thrombine utilisée pour activer le PRP peut provoquer des réactions immunes médiées chez le receveur (McLellan, Plevin 2011). L'activation avec du chlorure de calcium (CaCl_2) ne porte pas ce risque, mais peut conduire à une libération plus faible en facteurs de croissance (McLellan, Plevin 2011).

2. Formes disponibles du PRP

Le PRP peut être utilisé sous différentes formes, les plus classiques étant les formes injectables et le « gel de fibrine » ou encore PRF applicable *in loco* ou suturable (Dohan et al. 2005).

3. Mécanisme d'action

Lors de l'activation, les plaquettes libèrent leurs contenus granulaires dans le milieu environnant. Les granules α des plaquettes sont abondantes et présentent un intérêt particulier, car elles contiennent un grand nombre des facteurs responsables de l'initiation et du maintien de la réponse de cicatrisation croissance. Les facteurs de croissance TGF- β , PDGF, VEG et FGF sont quelques-uns des facteurs de croissance libérés (Anitua et al. 2004).

Il a été montré que ces facteurs de croissance jouaient un rôle important dans toutes les phases de la cicatrisation. La sécrétion active de ces protéines par les plaquettes commence dans les 10 minutes après la coagulation, avec plus de 95% des facteurs de croissance présynthétisés et sécrétés en 1 heure. Après cette explosion initiale, les plaquettes synthétisent et sécrètent des protéines supplémentaires pour le reste de leur vie (5-10 jours) (Sutter 2007).

La matrice de fibrine formée suite à l'activation des plaquettes a également un effet stimulant sur la cicatrisation des plaies (Sutter 2007). Cette matrice piège les plaquettes permettant alors une libération lente des facteurs de croissance tout en fournissant une matrice provisoire qui apporte un support physique pour la migration des fibroblastes lors de plaie et la présentation d'autres médiateurs biologiques tels que les glycoprotéines adhésives.

II. QUELS RESULTATS ?

A. Dans la littérature

1. Les débuts du PRP

Le PRP a été présenté pour la première fois à la communauté de la chirurgie de la bouche par Whitman *et al.* dans leur article de 1997 intitulé « *Platelet Gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery* ». Les auteurs ont pensé qu'une meilleure cicatrisation des plaies de la bouche pouvait être attendue par la libération des facteurs de croissance résultant de l'activation des plaquettes apportées au contact de la plaie. Par la suite, le PRP a connu un essor dans la communauté des chirurgies de la bouche et des chirurgies maxillo-faciales après la publication d'un article initiateur par Marx *et al.* en 1998. Cette étude a montré que la combinaison de PRP avec l'os dans les défauts de continuité mandibulaires entraîne une maturation nettement plus rapide d'un point de vue radiographique et l'analyse histomorphométrique montrait une régénération de la densité osseuse (Issa *et al.* 2007; Marx *et al.* 1998; Whitman, Berry, Green 1997).

2. Des résultats controversés

Les premières études *in vitro* ont démontré une tendance générale du PRP pour stimuler la prolifération de plusieurs types de cellules, y compris les ostéoblastes, les fibroblastes, les cellules tendineuses, les chondrocytes, les cellules du ligament parodontal et les cellules souches mésenchymateuses osseuses (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

L'effet de PRP dans la différenciation est cependant controversé : certaines études ont démontré une stimulation de la différenciation ostéoblastique, tandis que d'autres ont signalé un effet inhibiteur nous rapportent Dohan *et al.* dans leur étude sur la classification des concentrés plaquettaires (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

Les meilleurs résultats de prolifération *in vitro* ont été obtenus avec des quantités physiologiques de plaquettes, qui équivaldraient à un PRP présentant une concentration de plaquettes 2,5 fois supérieure à celle du sang total (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009). Des concentrations plus élevées de plaquettes sembleraient induire des effets négatifs.

Cependant, les données présentes sur les effets dose-dépendants sont limitées et doivent être étudiées. La teneur du concentré plaquettaire en fibrine et en leucocytes doit également être définie avec précision afin de pouvoir en tirer des conclusions.

Des études cliniques ont montré que les gels enrichis en plaquettes peuvent raccourcir le temps de récupération, réduire l'enflure et la douleur liées à la chirurgie, accélérer la réparation des tissus mous et augmenter la régénération osseuse à court terme. Cependant, il semblerait que tous ces avantages pourraient aussi être observés avec l'utilisation de colles de fibrine simples comme l'expliquent Dohan *et al.* dans cette même étude (Dohan Ehrenfest, Rasmusson, Albrektsson 2009).

Dans la plupart des cas, le PPR est donc considéré et utilisé comme une colle de fibrine autologue sophistiquée, la littérature restant floue sur les véritables différences cliniques.

En ce qui concerne l'utilisation de concentrés de plaquettes dans les applications biotechnologiques, il est intéressant de noter que des résultats prometteurs ont déjà été obtenus pour les études d'ingénierie du tissu osseux (Doucet et al. 2005; Hibi et al. 2006; Kitoh et al. 2007; Yamada et al. 2004).

3. Le PRP utilisé pour le traitement des plaies chez le cheval

Carter *et al.* ont travaillé sur l'évaluation du potentiel des facteurs plaquettaires dans la cicatrisation des plaies sur les parties distales des membres chez le cheval (Charleata A Carter et al. 2003).

Les plaquettes ont été isolées à partir du sang du cheval étudié et activées avec de la thrombine. Cela a produit un gel plaquettaire composé de plasma riche en plaquettes. Une plaie cutanée de pleine épaisseur de 2,5 cm² a été créée en dessous du genou (trois incisions ont été réalisées en face latérale de l'os du canon et deux en face médiale sur chacun des antérieurs) et en dessous du jarret (deux incisions en face latérale de l'os du canon sur chaque postérieur) chez un cheval pur-sang. Au bout de 2 jours, les pansements mis à la suite des incisions ont été enlevés, les plaies sont nettoyées avec une solution saline stérile, et le traitement est initié. L'un des trois traitements a été assigné au hasard à chaque plaie : aucun traitement autre que le nettoyage de la plaie et le placement d'une compresse, l'application

d'une solution saline à la compresse, et l'application de gel de PRP à la compresse. Des biopsies sont prélevées aux 7^e, 36^e, et 79^e jours après incisions.

Pour tester l'hypothèse que les plaies traitées avec un gel de PRP présentaient une différenciation épithéliale plus rapide et avaient un renforcement de l'organisation de collagène dermique par rapport aux témoins, les tissus ont été colorés par de la cytokératine 10, un marqueur de différenciation suprabasale, et le rétablissement de collagène a été évalué par une coloration au trichrome.

Les plaies traitées avec le gel de PRP ont présenté au 7^e jour une coloration intense à la cytokératine 10 près de la jonction de la plaie dans les couches suprabasales de l'épiderme, alors que la coloration dans les tissus témoins était moins intense et limitée aux couches épidermiques apicales distales à la jonction de la plaie. Au 79^e jour, la coloration était identique dans les deux groupes. Cependant, les plaies traitées au gel de PRP contenaient un grand nombre des faisceaux de collagène dense orientés parallèlement les uns aux autres et à l'épithélium sous-jacent, tandis que les tissus témoins contenaient une quantité moindre de fibres de collagène qui de plus étaient orientées de façon aléatoire.

Ainsi, le traitement des plaies avec du gel de PRP a induit une accélération de la différenciation épithéliale et produit un tissu organisé (Charleata A. Carter et al. 2003).

4. Le PRP utilisé actuellement pour le traitement des tendinites chez le cheval

En équine, le PRP est « classiquement » utilisé dans la régénération du tissu tendineux à la suite d'une lésion tendineuse.

Une étude récente a travaillé sur l'efficacité d'une méthode modifiée pour préparer du PRP pour le traitement des lésions des tendons fléchisseurs superficiels du doigt chez des chevaux de course et son influence sur la récupération sportive (Zuffova et al. 2013). Le concentré en plaquettes a été préparé par centrifugation du plasma récupéré après sédimentation. Les auteurs ont travaillé sur 22 chevaux pur-sang ayant reçu un traitement intra lésionnel à base de PRP, puis ayant participé à un protocole de rééducation strict sur 40 semaines, avec des contrôles échographiques à 3, 8, 20, 28, 36 et 40 semaines. Après traitement, 13 des 22 chevaux ont pu recourir au moins une course, et 9 de ces 12 chevaux ont couru leur première course dans les 9 mois après l'injection de PRP. Parmi les chevaux qui n'ont pas pu courir à nouveau, trois ont été remis au travail trop tôt et ont présenté la même lésion, un a présenté une tendinite du tendon fléchisseur superficiel du doigt sur l'autre membre, et deux

présentaient des lésions sévères, entraînant ainsi un arrêt du traitement selon le choix des propriétaires. Deux autres chevaux ont été retirés des courses : une jument a été réformée pour devenir poulinière et un étalon a été réformé pour le saut à faible niveau (Zuffova et al. 2013).

Les auteurs de cette étude concluent donc qu'il n'y a pas eu de réaction négative résultant de l'application de PRP dans les tendons endommagés et que le succès de la thérapie est établi par un temps de réhabilitation raccourci et un nombre élevé de chevaux retournant aux courses.

Dans leur synthèse, Smets *et al.* promeuvent l'idée que les propriétés du PRP comme étant à l'origine d'une stimulation de l'angiogenèse, du remodelage et de la cicatrisation tissulaire ne sont pas négligeables étant donné que les tendons ne présentent pas un index métabolique élevé, par conséquent leur capacité de guérison et de régénération est lente. L'utilisation de PRP serait donc à l'origine d'une accélération dans les processus de guérison et de régénération. Par ailleurs, les plaquettes réduiraient les phénomènes douloureux, par des mécanismes encore inconnus, mais nécessitant d'être étudiés ; l'hypothèse admise à ce jour serait la libération de protéases aux propriétés antalgiques par les plaquettes (Smets et al. 2012).

Bien que les études montrant les effets bénéfiques des injections intra lésionnelles de PRP dans les tendons se soient multipliées ces dernières années (Bait et al. 2007; Filardo et al. 2010; Georg et al. 2010; Kon et al. 2009; Smets et al. 2012), certains auteurs et praticiens ne sont cependant pas aussi enthousiasmés par les injections intra lésionnelle de PRP pour les lésions tendineuses.

Il serait donc réellement intéressant de standardiser les protocoles des études, et de fournir des études contrôlées et randomisées afin de réussir à trouver un consensus ; ces nouvelles thérapies étant l'avenir pour le traitement d'affections chroniques ne répondant plus aux traitements « classiques ».

5. Le PRP utilisé en orthopédie ?

L'application de PRP dans la réparation du cartilage est une notion relativement nouvelle. Il y a donc peu de publications relatives à son utilisation.

i. Effets du PRP sur le cartilage

Il a été montré que lorsque les chondrocytes et les cellules souches mésenchymateuses étaient exposés à une préparation de PRP, leur prolifération cellulaire augmentait ainsi que leur synthèse en protéoglycanes et en collagène de type II au sein de la matrice extracellulaire du cartilage par rapport aux témoins (Fortier et al. 2011).

Par ailleurs, les synoviocytes provenant de patients atteints d'arthrose et cultivés en présence de PRP ont présenté une augmentation de la production et de la sécrétion en acide hyaluronique, ce qui suggère que le PRP pourrait potentiellement servir de source de chondroprotection endogène et de lubrification des articulations après application intra-articulaire (Anitua et al. 2007).

Dans un modèle de lapin, des défauts ostéochondraux ont été traités soit avec du PRP autogène dans un acide polylactique glycolique, soit avec de l'acide polylactique glycolique seul, ou laissés sans traitement (Sun et al. 2010). Le groupe PRP a présenté un degré élevé de régénération du cartilage ainsi qu'une augmentation de la production des glycosaminoglycanes de la matrice extracellulaire.

Des résultats *in vitro* encourageants ont également été obtenus, suggérant une stimulation de la chondrogenèse et de la cicatrisation des lésions méniscales par le PRP (Smets et al. 2012). Cela est d'autant plus intéressant, car le potentiel d'autorégénération de ces deux structures se trouve limité de par leur caractère avasculaire.

ii. Études chez les hommes

En ce qui concerne les études cliniques chez les humains, Sanchez *et al.* ont comparé au cours d'une étude rétrospective l'efficacité d'injections intra-articulaire de PRP versus celle d'acide hyaluronique chez 30 patients atteints d'arthrose du genou. Le taux de réussite pour la sous-échelle de la douleur a atteint 33,4% pour le groupe PRP comparativement à 10% pour le groupe HA ($p = 0,004$) (Sánchez et al. 2008).

Par ailleurs, Kon *et al.* ont traité 115 genoux de patients avec quatre injections intra-articulaires de PRP à trois semaines d'intervalle. Ils ont suivi les patients sur 12 mois (Kon et al. 2010). Parmi les patients participant à cette étude, 58 avaient des lésions cartilagineuses dégénératives, 33 une arthrose précoce et 24 de l'arthrose avancée. Une amélioration des scores IKDC (International Knee Documentation Committee, score reposant sur une évaluation subjective et objective à partir d'examen clinique, radiographique, fonctionnel) et EuroQol (EQ-VAS : *EQ visual analogue scale* c'est-à-dire l'échelle visuelle analogique) a été notée à la fin du traitement, à 6 et 12 mois. Les auteurs concluent donc que le traitement avec le PRP est sûr et efficace pour améliorer la douleur, la fonction articulaire et la qualité de vie chez les patients atteints d'affections articulaires dégénératives.

Une étude plus récente a montré que le traitement à base de deux injections intra-articulaires de PRP à un mois d'intervalle a des effets positifs chez des patients atteints d'arthrose du genou. Sur les 50 patients suivis au cours de cette étude, tous ont reçu deux injections intra-articulaires de PRP, la moitié d'entre eux ayant subi une intervention chirurgicale au moins un an avant le traitement à base de PRP (lavage et débridement du cartilage). Que ce soit chez les patients non opérés ou chez les patients opérés, les symptômes, la douleur et la qualité de vie ont été significativement améliorés. Tous les patients sont retournés à leurs activités précédentes, sans différence significative entre les deux groupes (opérés et non opérés) (Gobbi et al. 2012).

iii. Études chez les chevaux

En ce qui concerne les études cliniques portant sur les injections de PRP dans les traitements contre l'arthrose chez les chevaux, peu d'études sont actuellement disponibles.

Carmona *et al.* ont évalué l'effet clinique d'injection intra-articulaire de plasma enrichi en plaquettes chez 7 chevaux présentant une maladie articulaire sévère (4 souffrant d'arthrose et 2 d'ostéochondrose). Trois injections de PRP ont été effectuées à deux semaines d'intervalle. Un suivi clinique avec évaluation du degré de boiterie et de l'épanchement articulaire a été enregistré au cours des différents contrôles : les chevaux ont été évalués avant chaque injection et deux mois après la dernière injection. Le suivi clinique a été mené pendant un an. Le nombre de plaquettes, de leucocytes, et les concentrations en TGF- β 1 par mL de PRP ont été déterminés, ainsi que la numération leucocytaire, la cytologie, et les taux de protéines dans le liquide synovial. Le PRP a produit une amélioration statistiquement significative à la fois en ce qui concerne le degré de boiterie et l'épanchement articulaire ($p < 0,05$). L'amélioration

la plus marquée a été observée dans les deux mois la dernière injection et aurait persisté jusqu'à 8 mois plus tard. Aucun signe clinique indésirable résultant de ce traitement n'a été mis en évidence (Carmona et al. 2007).

iv. Des résultats controversés ?

Tous les auteurs ne font cependant pas l'unanimité quant à l'efficacité du PRP sur les lésions du cartilage. Peerbooms *et al.* n'ont pas pu établir de différence significative lors d'arthroplastie totale du genou entre un groupe témoin et un groupe traité par adjonction d'un gel riche en plaquettes (Peerbooms et al. 2009) bien que ces mêmes auteurs aient eu des résultats plus que satisfaisants dans une étude sur l'effet des concentrés plaquettaires lors d'épicondylite latérale (Peerbooms et al. 2010).

La plupart des études concernant l'utilisation de PRP souffrent de nombreux biais introduits en raison du manque d'effectif et de lot témoin, ou encore le manque de standardisation dans la conception du PRP. Ces problèmes soulèvent donc des inquiétudes quant aux résultats, et par conséquent quant à l'utilisation du PRP. C'est pourquoi il serait intéressant de standardiser la fabrication, mais aussi d'enrichir les données cliniques afin de pouvoir avoir plus de recul.


Qu'ils s'agissent de la mise en garde de certains auteurs quant à l'efficacité non prouvée du PRP dans les lésions articulaires (bien qu'aucun effet secondaire n'ait été démontré) ou du faible nombre de cas par étude, nous voyons bien qu'il est nécessaire de poursuivre davantage les études afin de trouver un consensus quant à l'efficacité du PRP sur les affections cartilagineuses.

B. Étude sur 20 cas d'arthrose réfractaire traités à l'aide d'une solution autologue de plasma enrichi en plaquettes

Est présenté dans cette partie le développement de l'article « *Autologous Platelet Concentrate as a Treatment for Horses with Refractory Fetlock Osteoarthritis* » publié en 2014 dans le *Journal of Equine Veterinary Science* (Pichereau, Décory, Cuevas Ramos 2014).


Journal of Equine Veterinary Science 34 (2014) 489–493

Contents lists available at ScienceDirect

 **ELSEVIER**


Journal of Equine Veterinary Science

journal homepage: www.j-evs.com



Original Research

Autologous Platelet Concentrate as a Treatment for Horses with Refractory Fetlock Osteoarthritis

 CrossMark

Fanny Pichereau DVM, Margot Décory MSc, Gabriel Cuevas Ramos DVM, PhD*

Equine Teaching Hospital, Veterinary School of Toulouse, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 August 2013
Received in revised form 23 September 2013
Accepted 11 October 2013
Available online 23 October 2013

Keywords:
Autologous platelet concentrate
Platelet-rich plasma
Growth factors
Osteoarthritis

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is one of the most common musculoskeletal pathologies in horses and is a disease capable of halting their athletic career. Clinically, OA can be a difficult problem to deal with, particularly when there is no longer a positive response to corticosteroids or rest. In order to avoid further articular tissue degeneration, which could lead to the loss of the joint function, novel therapies are focusing not only on controlling inflammation and pain but also on tissue healing and repair. Autologous platelet concentrate (PC) growth factors are known to have anabolic and angiogenic properties and a positive effect on synovial epithelium, cartilage, and pain. The aim of this study was to analyze the clinical outcome of horses with OA treated with PC. Selected cases were treated only with PC, and they all belong to the same sport activity. We show here the method for PC preparation, follow-up evaluation, and outcome of 20 cases with refractory OA treated exclusively with autologous PC. After a 1-year follow-up, 80% of patients were able to resume work. According to our results and observations, PC can be used as a safe and low-cost intra-articular therapy for refractory OA in the horse.

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.

L'ostéoarthrose (OA) chronique est l'une des affections les plus courantes chez le cheval de course entraînant une diminution de la performance chez le cheval, voire un arrêt de l'activité sportive chez le cheval (Goodrich, Nixon 2006). Il s'agit d'une maladie dégénérative caractérisée par une destruction progressive du cartilage, un remaniement de l'os sous-chondral, une synovite secondaire à la dégénérescence du cartilage articulaire, et par la formation d'ostéophytes, voire une perte de la fonction articulaire (Carmona, Prades 2009; Ross, Dyson 2010). Lors d'OA, une induction des cytokines pro-inflammatoires a lieu, principalement due à l'activité de l'IL-1 β (*Interleukin-1 β*), du TNF α (*Tumor Necrosis Factor- α*) et des MMPs (*Matrix Metalloproteinases*). L'activation de ces facteurs va contrebalancer

l'équilibre métabolique du cartilage. Ces facteurs sont dits procataboliques. L'activité anabolique du cartilage, engendrée par l'IL1 (*Insulin-like Growth Factor-1*), le TGF β (*Transforming Growth Factor β*) et le bFGF (*basic Fibroblastic Growth Factor*), se retrouve ainsi diminuée. Ainsi, en cas d'OA, l'équilibre fragile « catabolisme/anabolisme » permettant la fonction articulaire est rompu, entraînant un processus de dégénération chronique de l'os sous-chondral, du cartilage et/ou de la membrane synoviale (Carmona, Prades 2009; Aigner, McKenna 2002; Richardson, Dodge 2003). Un traitement efficace apparaît donc comme un réel challenge afin de rétablir l'équilibre métabolique du cartilage.

Plusieurs traitements peuvent être proposés selon la sévérité de l'atteinte articulaire. Les injections intra-articulaires de corticostéroïdes restent cependant le traitement de choix à l'heure actuelle (Schaefer et al. 2009; Richardson, Dodge 2003; McILWRAITH 2010). Cependant, des administrations répétées de corticostéroïdes seraient à l'origine d'effets secondaires telles une nécrose du cartilage ou encore une dégénérescence supplémentaire du cartilage (Richardson, Dodge 2003; Schaefer et al. 2009). Afin d'éviter ces administrations répétées ou abusives de corticostéroïdes, mais aussi afin de permettre une cicatrisation du tissu, de nouvelles approches sont introduites. Des traitements alternatifs contenant des facteurs de croissance présents au sein d'une solution à base de plasma enrichi en plaquettes autologues sont alors mis en place (Carmona et al. 2007; Charleata A Carter et al. 2003). Suite à ces traitements, de meilleurs résultats sont obtenus un an après par rapport à des injections intra-articulaires de corticostéroïdes (Peerbooms et al. 2010).

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

1. Matériels et Méthodes

1.1 *Préparation du plasma enrichi en plaquettes*

La solution de plasma enrichi en plaquettes a été préparée selon des méthodes définies au préalable dans des articles (Carmona et al. 2007; Argüelles et al. 2006), auxquelles nous avons fait quelques modifications. Après une préparation aseptique de la veine jugulaire, 80 mL de sang sont récupérés dans un tube citraté. Une première centrifugation est immédiatement réalisée (à 120 x g pendant 5 minutes). Ensuite, 50% du plasma adjacent à l'agglomérat de globules rouges est récupéré et centrifugé une deuxième fois (à 260 x g pendant 5 minutes). Puis, 25% du plasma est récupéré, la partie au fond du tube, et centrifugé une troisième et dernière fois à 1000 x g pendant 10 minutes. À la suite de ces trois centrifugations, un concentré plaquettaire est obtenu. Il est alors nécessaire de remettre en suspension ces plaquettes grâce à une solution de 3 mL de PBS (*phosphate buffered saline*) auquel est ajoutée une solution de 23 mM de CaCl₂ (chlorure de calcium) afin de procéder à l'activation des plaquettes.

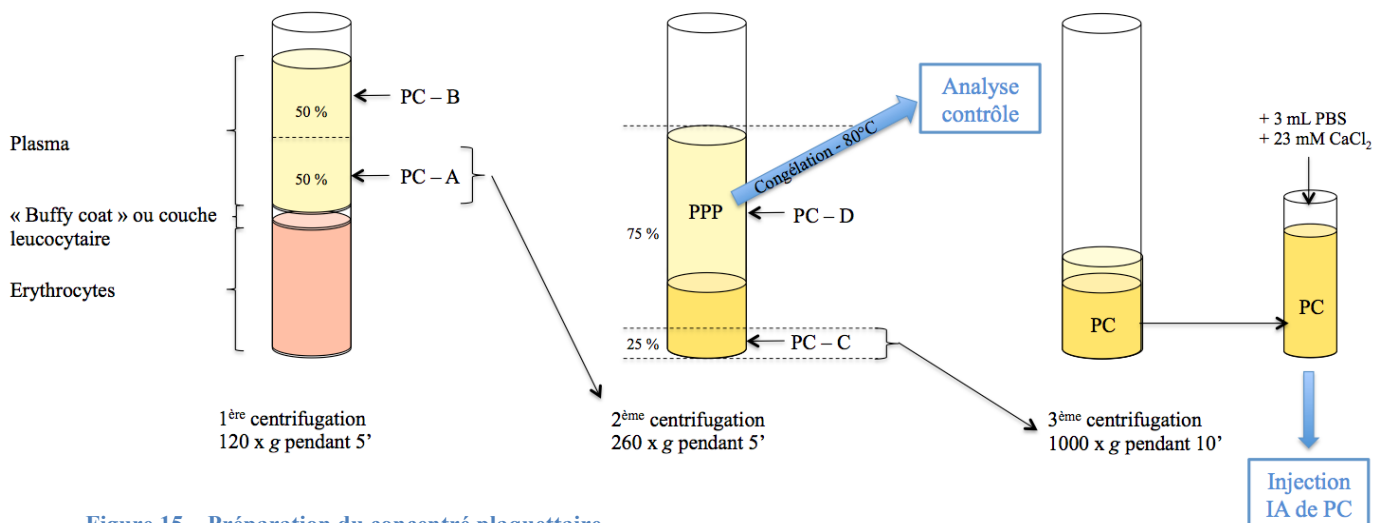


Figure 15 – Préparation du concentré plaquettaire.

Une première centrifugation est réalisée pendant 5 minutes à 120 x g puis la fraction correspondant au PC-A est centrifugée une seconde fois pendant 5 minutes à 260 x g permettant ainsi l'obtention d'un concentré riche en plaquettes (PC-C). Une dernière centrifugation est réalisée pendant 10 minutes à 1000 x g. Le concentré plaquettaire (PC) ainsi obtenu est récupéré. 3 mL de PBS et 23 mM de CaCl₂ sont alors ajoutés avant d'injecter le PC. Le plasma pauvre en plaquettes est congelé afin de procéder aux analyses « contrôles ».

Le plasma pauvre en plaquettes restant (PPP) est congelé à -80°C pour l'analyse « contrôle », afin de comparer les quantités des facteurs de croissance présents dans le PPP et dans le concentré plaquettaire (PC). Les plaquettes sont comptées à l'aide d'un automate (Countess, Invitrogen) et la qualité de ce plasma enrichi en plaquettes est évaluée à l'aide d'un cytomètre de flux FACScalibur (Beckton Dickinson), où est évalué la quantité de globules blancs et de plaquettes (Figure 18, p152).

1.2 Plan thérapeutique

Le plan thérapeutique repose sur trois injections de plasma enrichi en plaquettes à 15 jours d'intervalles sans sédation préalable du cheval. Avant chaque injection, l'articulation est nettoyée à l'aide de Chlorhexidine savon puis avec de la Chlorhexidine solution. Une simple compression est réalisée après l'injection à l'aide d'une compresse pendant 5 minutes, aucun bandage n'est appliqué sur la plaie. Au moment des injections de plasma enrichi en plaquettes, un échantillon de liquide synovial est prélevé puis congelé immédiatement afin de procéder aux analyses.

Pendant la première quinzaine, le cheval doit être sorti deux fois par jour au pas, non monté. Puis, 15 jours avant la dernière injection, le cheval peut retrouver une activité progressive jusqu'à un travail monté complet (Figure 16).

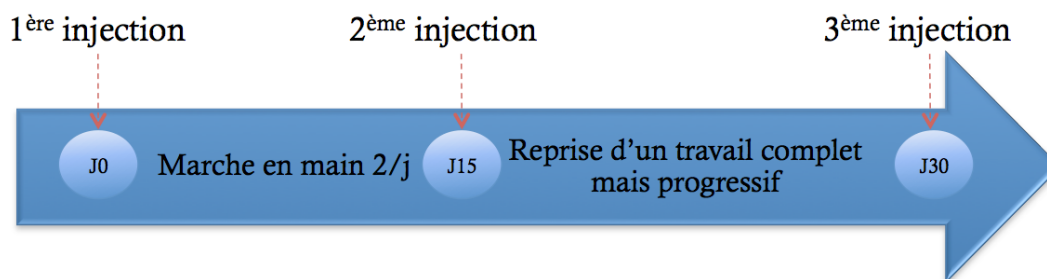


Figure 16 – Protocole de rééducation selon les moments des injections intra-articulaires

Aucun effet secondaire n'a été décrit après les injections de plasma enrichi en plaquettes.

1.3 Analyse de la qualité du plasma enrichi en plaquettes

Cette analyse de la qualité du plasma enrichi en plaquettes repose sur la quantification de la concentration en PDGF-BB (*Platelet Derived Growth Factor isoform BB*) et en IL-1 β .

La concentration en PDGF-BB a été évaluée dans le PC avant l'injection à l'aide de la méthode d'ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) en sandwich (PDGF-BB humain DY220; R & D Systems); le PPP étant utilisé comme témoin. Le PDGF-BB est connu pour avoir 91,7% d'homologie avec la séquence d'acides aminés de la forme humaine à long peptide, c'est pourquoi la séquence humaine a été choisie.

La concentration en IL-1 β a également été évaluée avec la méthode d'ELISA en sandwich (IL-1 β équine; produit n°VS0131E-002 ; VetSet; Kingfisher Biotech). Un lecteur de microplaques (Tecan) a été utilisé à 450 nm pour la mesure de l'absorbance.

1.4 Analyses statistiques

La concentration en PDGF-BB a été comparée entre le concentré plaquettaire (PC) obtenu après les deux centrifugations et le plasma restant (appauvris donc en plaquettes, PPP). La signification statistique a été évaluée en utilisant le test bilatéral Man-Whitney.

Les concentrations en IL-1 β ont été comparées entre les échantillons prélevés avant la première, la deuxième et la troisième injection de PC. La signification statistique a été évaluée en utilisant l'analyse de variance (Anova), test doublé avec un test de Brown-Forsythe. L'adaptation de l'indice de sévérité de l'arthrose des membres inférieurs réalisé par le WOMAC (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis) et le degré d'évaluation de la boiterie ont été analysés avec un traitement à base de PC.

L'index WOMAC a été créé dans le but d'évaluer l'évolution de la maladie ou de la réponse au traitement chez les patients humains atteints d'arthrose du genou ou de la hanche. Cette évaluation repose sur un ensemble de questions demandant d'évaluer la gravité de la douleur au cours de différentes positions ou mouvements, la gravité de la raideur articulaire, et la difficulté à accomplir des activités quotidiennes (Annexe 3). Il existe deux systèmes de cotation des réponses aux questions : soit l'échelle de Lickert avec 5 réponses possibles : nulle = 0 ; minime = 1 ; modérée = 2 ; sévère = 3 ; extrême = 4, soit une échelle visuelle analogique de 100 mm. Un score est alors obtenu en additionnant les réponses aux questions (COLLINS et al. 2011).

Ce système d'évaluation a été développé avec une importante contribution des patients atteints d'arthrose, et validé par de nombreuses études. Nous avons donc choisi d'utiliser ce système de notation en l'adaptant chez le cheval comme l'indique le tableau 16 :

Douleur	1	Pas	0	1	2	3	4
	2	Trot	0	1	2	3	4
	3	Gallop	0	1	2	3	4
Raideur	1	Avant l'entraînement	0	1	2	3	4
	2	Après l'entraînement	0	1	2	3	4
Fonction mécanique de l'articulation	1	Au pas sur une surface molle	0	1	2	3	4
	2	Au pas sur une surface dure	0	1	2	3	4
	3	Au trot sur une surface molle	0	1	2	3	4
	4	Au trot sur une surface dure	0	1	2	3	4
	5	Au galop sur une surface molle	0	1	2	3	4
	6	Au galop sur une surface dure	0	1	2	3	4
Score total :/44 = %							

Échelle de difficulté : 0 : aucune difficulté, 1 : difficulté légère, 2 : difficulté modérée, 3 : grande difficulté, 4 : difficulté sévère

Tableau 16 – Tableau permettant d'obtenir l'indice WOMAC modifié, adapté d'après Pichereau, Décory, Cuevas Ramos, 2014

La puissance statistique a été évaluée en utilisant le test ANOVA à deux facteurs ainsi qu'un test de Tukey, utilisé pour déterminer les différences significatives entre les moyennes des deux groupes dans l'analyse de variance. Les intervalles de confiance ont été calculés à un niveau de 95%. De plus, nous avons voulu tester la relation entre les perceptions des propriétaires et l'évaluation des cliniciens quant à l'évolution de la boiterie et de l'état de l'articulation, c'est pourquoi un test de corrélation de ces deux paramètres a été fait (tableau 17, p150). L'analyse a été faite avec Graph Pad Prism version 6 du logiciel.

1.5 Sélection des cas

Entre 2009 et 2012, 20 chevaux d'endurance – Arabes ou Anglo-Arabes – ont été sélectionnés pour participer à cette étude. La moyenne d'âge est de 9,5 ans \pm 1,67 an et la population cible est composée de 15 hongres et 5 femelles (Tableau 17, p151).

En plus de l'activité sportive commune pour le choix de la population cible, ces chevaux présentaient tous une boiterie chronique due à une OA chronique du boulet d'un antérieur. Tous ont reçu un traitement conventionnel, notamment à base d'injections intra-articulaires de corticostéroïdes, sans résolution de la boiterie. Il a été choisi de laisser un temps d'attente d'au moins 6 semaines entre la dernière injection de corticostéroïdes et le traitement à base d'injection intra-articulaire de concentré plaquettaire (PC). Les chevaux ayant reçu un autre traitement en complément, ceux dont nous n'avons pas pu avoir le suivi sur une durée supérieure ou égale à un an ou encore ceux dont la récolte du liquide synovial n'a pas été réalisée ont été écartés de l'étude.

Le diagnostic de l'arthrose chronique a été obtenu selon l'historique clinique du cas et l'examen de la boiterie, qui comprenait une boiterie chronique, une flexion positive, et une distension de l'articulation. Tous les cas choisis ont présenté une amélioration significative dans le degré de boiterie après anesthésie intra-articulaire, et aucun d'entre eux ne présentait de lésion secondaire telle qu'une desmite d'un ligament collatéral par exemple. Le diagnostic a été complété par un examen radiographique et échographique, où des ostéophytes, des irrégularités des surfaces articulaires, et/ou une synovite ont été observés.

N°	Boulet antérieur	Âge	Évaluation de la boiterie (échelle sur 5)			Indice WOMAC modifié (%)		
			1 ^{re} injection	2 ^e injection	3 ^e injection	1 ^{re} injection	2 ^e injection	3 ^e injection
1	Gauche	9	3	2	0	82	70	30
2	Gauche	8	3	2	0	73	51	21
3	Droit	9	3	2	1	70	44	25
4	Gauche	11	3	0	0	86	40	33
5	Gauche	10	3	2	0	90	66	15
6	Droit	7	3	1	1	78	42	31
7	Droit	10	4	3	2	97	80	60
8	Gauche	12	2	0	0	60	10	10
9	Gauche	9	3	2	0	92	70	33
10	Droit	8	3	0	1	84	59	50
11	Gauche	7	3	2	0	88	54	25
12	Gauche	13	2	0	0	70	10	12
13	Droit	10	3	2	1	93	61	34
14	Gauche	11	3	2	0	86	70	27
15	Droit	9	4	2	1	87	68	26
16	Droit	10	2	0	0	90	48	15
17	Gauche	8	3	1	0	76	61	22
18	Gauche	8	3	2	1	81	62	26
19	Gauche	10	2	0	0	84	45	16
20	Gauche	9	3	1	0	91	57	18
Moyenne		9,5	2,9	1,3	0,4	82,9	53,4	26,45
Écart type		1,67	0,55	0,97	0,59	9,30	18,37	12,21
Erreur type			0,12	0,21	0,13	2,08	4,1	2,73

	ANOVA	Significatif	P value	ANOVA	Significatif	P value
Comparaison 1 ^{re} et 2 ^e injection		****	<0,0001		****	<0,0001
Comparaison 1 ^{re} et 3 ^e injection		****	<0,0001		****	<0,0001
Comparaison 2 ^e et 3 ^e injection		****	<0,0001		****	<0,0001

Coefficient de corrélation	P value
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 1 ^{re} injection	0,469 0,037
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 2 ^e injection	0,713 0,0004
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 3 ^e injection	0,723 0,0003

Tableau 17 – Cas sélectionnés et analyses biostatistiques, modifié d'après Pichereau, Décor, Cuevas Ramos, 2014

2. Résultats

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

Parmi les 20 cas de cette étude, 7 ont été traités pour le boulet de l'antérieur droit et 13 pour l'antérieur gauche.

La concentration moyenne en plaquettes contenues dans la solution de PC est de $560.10^3/\mu\text{l} \pm 62.10^3/\mu\text{l}$. Cette solution contient une majorité de plaquettes et quelques leucocytes (Figure 17, p152). La concentration moyenne en PDGF-BB dans PC est évaluée à $1280 \pm 70,91$ pg/mL (Figure 18, p152). Ce facteur de croissance, agent mitotique sérique majeur à l'origine de la migration et la prolifération cellulaire, représente un évènement clé dans la réparation tissulaire (Oefner et al. 1992). L'analyse de la concentration en IL-1 β avant chaque injection de concentré de plaquettes relève une diminution significative de cette cytokine catabolique (Figure 19, p153). La réduction de la concentration de cette cytokine pro-inflammatoire est significativement corrélée à l'amélioration clinique de la boiterie (Tableau 17, p151).

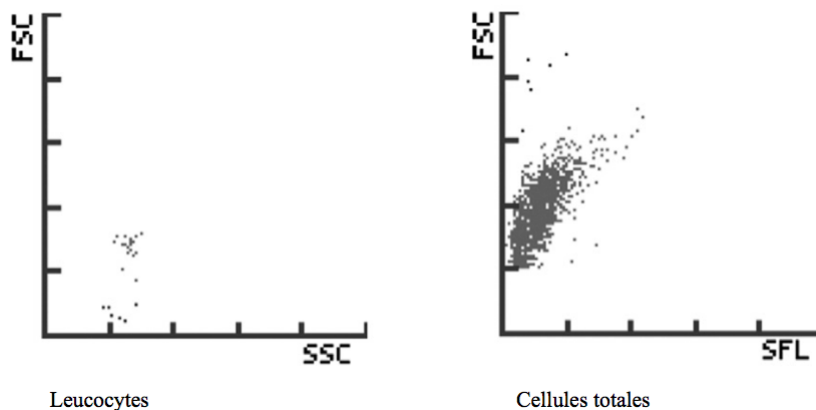


Figure 17 - Analyse du concentré plaquettaire : leucocytes < 0.02% des cellules totales, modifié d'après Pichereau, Décor, Cuevas Ramos, 2014

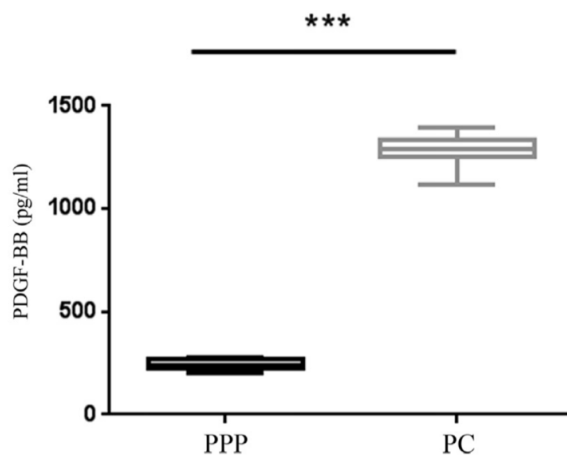


Figure 18 - Concentration en PDGF-BB dans le PPP et le PC, d'après Pichereau, Décor, Cuevas Ramos, 2014

PC : concentré en plaquettes
PDGF-BB : platelet-derived growth factor isoform BB
PPP : plasma pauvre en plaquettes

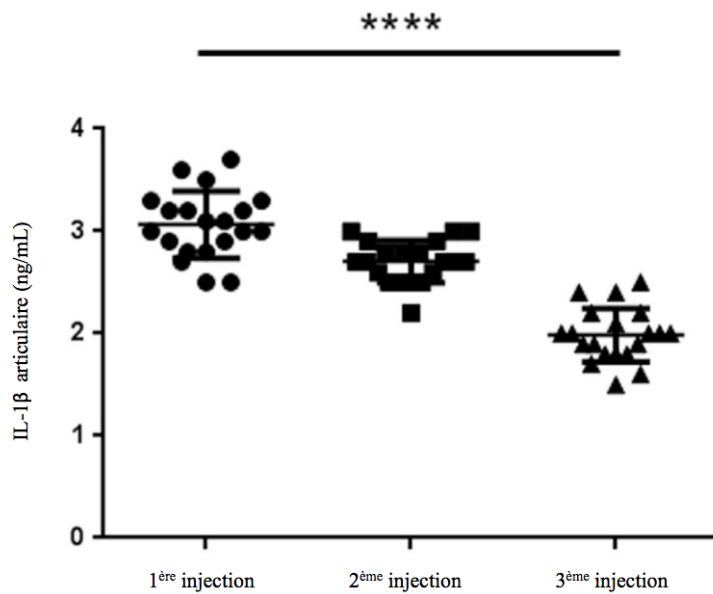


Figure 19 – Concentration d'IL-1 β dans le liquide synovial durant le protocole : avant la 1^{re}, la 2^e et la 3^e injection de PC, modifié d'après Pichereau, Décory, Cuevas Ramos, 2014

2.2 Résultats cliniques

Un examen locomoteur a également été réalisé avant la 2^e et la 3^e injection du traitement. L'adaptation de l'indice de sévérité de l'arthrose des membres inférieurs réalisé par le WOMAC (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis) a été utilisée en se reposant sur l'évaluation par les propriétaires de la douleur, de la raideur et de la fonction mécanique de l'articulation (Tableau 16, p149).

En regard de l'évaluation par les propriétaires, mais aussi du degré de boiterie apprécié par le clinicien (Figure 20, p153 et tableaux 16 et 17 pp149&151), nous avons mis en évidence une amélioration de l'articulation atteinte au fur et à mesure des injections.

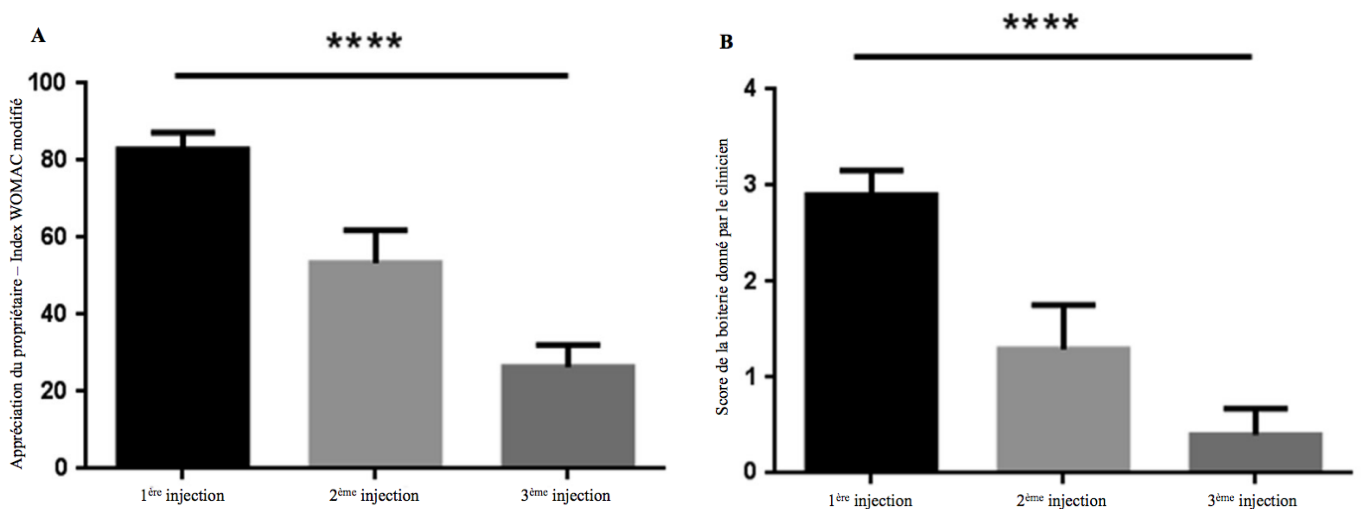


Figure 20 – Suivi de la boiterie par le propriétaire selon l'index WOMAC modifié (A) et par le clinicien (B), histogrammes modifiés d'après Pichereau, Décory, Cuevas Ramos, 2014

Après un an de suivi, 80% des chevaux ont été en mesure de reprendre le travail au même niveau de compétition et l'articulation traitée ne présentait pas de problème au cours de cette année.

Quatre chevaux ont pu reprendre le travail, mais à un niveau de performance inférieure, et deux d'entre eux présentent une boiterie intermittente sur l'articulation touchée.

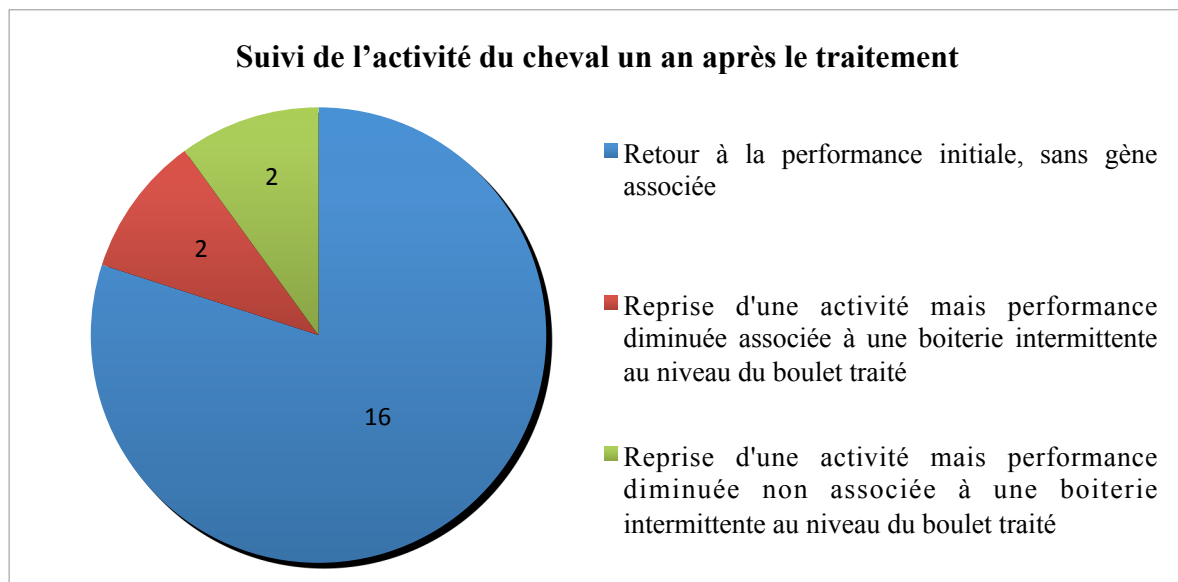


Figure 21 – Suivi de l'activité du cheval à un an après la dernière injection de concentré plaquettaire
Pour 80% des chevaux (16 cas), le traitement a permis un retour aux performances initiales sans gêne associée. Parmi les 20% des chevaux qui n'ont pas retrouvé leur performance initiale : 2 ont repris une activité avec présence d'une boiterie intermittente concernant le membre traité et 2 n'ont pas retrouvé leur performance initiale, mais sans gêne associée

Une corrélation significative a été mise en évidence entre l'évaluation du clinicien (degré de boiterie) et l'appréciation du propriétaire selon l'indice WOMAC (Tableau 17, p151).

3. Discussion

Les plaquettes ont un rôle majeur dans la première phase de réponse à la suite d'une inflammation. En effet, elles libèrent un grand nombre de facteurs de croissance – principalement les TGF β et les PDGF-BB – à l'origine de l'initiation et du maintien du processus de cicatrisation. Par conséquent, une solution concentrée en plaquettes permet d'apporter une quantité importante de ces facteurs de croissance.

Ce rôle majeur dans la régulation de l'inflammation et dans la réparation tissulaire (Eppley, Woodell, Higgins 2004; Fortier et al. 2011; Sun et al. 2010) s'explique par plusieurs

phénomènes : la différenciation chondrogénique, la prolifération des chondrocytes et l'activation de leur métabolisme (Neumann et al. 2008), mais aussi par l'activation de la synthèse de la matrice extracellulaire (Akeda et al. 2006). Dès quatre semaines après la première injection, des effets bénéfiques sont observables (Sun et al. 2010). Ces effets sont quasiment le reflet de la modification du tissu et de son environnement par le concentré plaquettaire. Ces effets initient et favorisent le processus de cicatrisation, les plaquettes injectées pouvant rester viables jusqu'à 7 jours après injection (Marx 2004).

Nous avons pu voir le rôle du concentré plaquettaire dans plusieurs études ultérieures. Kon *et al.* rapportent une amélioration de la fonction articulaire associée à une diminution de la douleur chez cent hommes atteints d'arthrose dégénérative chronique du genou 9 mois après le traitement (Kon et al. 2010) ; Milano *et al.* Montrent que le concentré plaquettaire améliore la qualité de la réparation du cartilage à la suite de microfractures chez des moutons (Milano et al. 2010) ; et Filardo *et al.* ont traité avec succès 15 patients atteints du « *jumper's knee* », encore appelée tendinopathie rotulienne chronique. Ces patients ont pu retourner à leurs activités précédentes (Filardo et al. 2010). Plus récemment, une étude a montré une amélioration de la fonction articulaire sur des chiens traités avec du plasma concentré en plaquettes (Silva, Carmona, Rezende 2013).

Dans notre étude, nous montrons que le plasma concentré en plaquettes est à l'origine d'une amélioration de la fonction articulaire dans le cadre d'ostéoarthrose, principalement lorsque celle-ci ne répond plus aux injections intra-articulaires de corticostéroïdes ou à une période de repos. Ce traitement est à l'origine d'un arrêt de l'évolution de l'ostéoarthrose avec un retour au travail chez 80% des chevaux, sans effet secondaire. L'amélioration clinique a de plus été évaluée à la fois par le clinicien, mais aussi par les propriétaires. Toutes les observations ont également été validées par l'analyse du liquide synovial où une diminution de la quantité d'IL-1 β a été mise en évidence en corrélation avec une amélioration clinique tout au long du traitement.

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

4. Conclusion

Nous avons traité avec succès des cas d'ostéoarthrose ne répondant plus aux injections intra-articulaires de corticostéroïdes ou à une période de repos. Le concentré plaquettaire se révèle comme étant un traitement alternatif fiable et peu invasif, traitement permettant à l'articulation de retrouver ses fonctions principales, à court comme à long terme, sans effet secondaire.

Ce plasma concentré en plaquettes peut donc être considéré comme un traitement sûr. Par ailleurs, en vue de nos résultats plus que satisfaisants, cette méthode apparaît comme un référentiel d'un point de vue de la rapidité et de la répétitivité de la préparation, mais aussi de son faible coût.

5. Poster présenté à l'occasion de la 40^e Journée de la Recherche Équine

Les résultats de cette étude ont été présentés à l'occasion de la 40^e Journée de la Recherche Équine à Paris sous la forme d'un poster, présenté dans la page suivant.

Plasma enrichi en plaquettes comme traitement contre l'arthrose chez le cheval de sport

Fanny Pichereau DVM¹, Margot Décory MSc², Gabriel Cuevas Ramos DVM, PhD^{1,2}

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

² Centre de Physiopathologie de Purpan, USC1043 INSERM, Toulouse, France



Résumé :

L'ostéoartrrose (OA) est l'une des affections touchant l'appareil musculo-squelettique les plus courantes et entraînant l'arrêt de la carrière sportive chez le cheval. L'OA soulève de nombreux problèmes, notamment lorsque le cheval ne répond plus aux injections de corticostéroïdes ou au repos. De nouvelles thérapies mettent l'accent non seulement sur le contrôle de l'inflammation et de la douleur mais également sur la cicatrisation et la réparation du tissu. Les facteurs de croissance contenus dans les plaquettes sont connus pour leur propriétés anabolique et angiogénique, provoquant un effet bénéfique sur l'épithélium synovial, le cartilage et la douleur. Le but de cette nouvelle thérapie est de réaliser des injections de plasma autologue concentré en plaquettes afin d'apporter ces facteurs de croissance en grand nombre. Après un an de suivi, nous montrons que 80% des 20 chevaux traités avec cette unique solution autologue concentrée en plaquettes peuvent retourner au travail. Ce traitement est donc un choix sûr et peu coûteux pour le traitement d'OA réfractaire chez le cheval. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.10.004>



Original Research

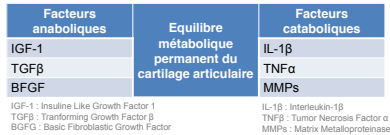
Autologous Platelet Concentrate as a Treatment for Horses with Refractory Fetlock Osteoarthritis

Fanny Pichereau DVM, Margot Décory MSc, Gabriel Cuevas Ramos DVM, PhD^{*}

^{*} Equine Teaching Hospital, Veterinary School of Toulouse, France

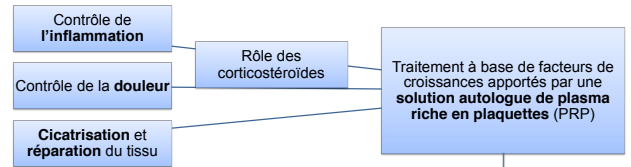
Introduction

- OA → affections les plus courantes chez le cheval de sport
 - Arrêt de la carrière sportive
- Cartilage remodelé en permanence → conséquence de l'activité catabolique et anabolique de l'articulation



- OA → induction cytokines pro-inflammatoires → équilibre métabolique rompu
 - Dégénérescence chronique os sous chondral, cartilage et/ou membrane synoviale

- Traitements de l'OA
 - Traitement de choix = Injections intra-articulaires (IA) de corticostéroïdes et repos
 - Administrations répétées → nécrose ou dégénérescence supplémentaire
- But traitement contre l'OA



Solution obtenue après double centrifugation et activation des plaquettes

Sélection de cas cliniques & Protocole

- 20 Chevaux d'endurance, 9,5 ans ± 1,67 ans, 15 hongres + 5 femelles
- Points de sélection:
 - Activité : Endurance
 - Boiterie chronique due à une OA chronique du boulet d'un antérieur (7 de l'AD et 13 de l'AG)
 - Traitement conventionnel ancien sans résolution (TA ≥ 6 semaines)
 - **Traitement à base de PRP autologue uniquement : 3 injections à 15 jours d'intervalle avec reprise progressive de l'activité**
 - Suivie sur au moins 1 an
 - Comptage des plaquettes, évaluation de la concentration en PDGF-BB (Platelet-derived Growth Factor isoform BB), évaluation de la concentration en IL-1β dans le liquide synovial
 - Evaluation de propriétaires avec un index WOMAC modifié

Cas sélectionnés, résultats et analyses biostatistiques

N°	Boulet antérieur	Age	Évaluation de la boiterie (échelle sur 5)			Indice WOMAC modifié (%)		
			1 ^{ère} injection	2 ^{ème} injection	3 ^{ème} injection	1 ^{ère} injection	2 ^{ème} injection	3 ^{ème} injection
1	Gauche	9	3	2	0	82	70	30
2	Gauche	8	3	2	0	73	51	21
3	Droit	9	3	2	1	70	44	25
4	Gauche	11	3	0	0	86	49	33
5	Gauche	10	3	2	0	90	66	15
6	Droit	7	3	1	1	78	42	31
7	Droit	10	4	3	2	97	80	60
8	Gauche	12	2	0	0	69	10	10
9	Gauche	9	3	2	0	92	70	33
10	Droit	8	3	0	1	84	59	50
11	Gauche	7	3	2	0	88	54	25
12	Gauche	13	2	0	0	70	10	12
13	Droit	10	3	2	1	93	61	34
14	Gauche	11	3	2	0	86	70	27
15	Droit	9	4	2	1	87	68	26
16	Droit	10	2	0	0	90	48	15
17	Gauche	8	3	1	0	76	61	22
18	Gauche	8	3	2	1	81	62	26
19	Gauche	10	2	0	0	84	45	16
20	Gauche	9	3	1	0	91	57	18
Moyenne		9,5	2,9	1,3	0,4	82,9	53,4	26,45
Ecart type		1,67	0,55	0,97	0,59	9,30	18,37	12,21
Erreur type			0,12	0,21	0,13	2,08	4,1	2,73

	ANOVA	Significatif	P value	ANOVA	Significatif	P value
Comparaison 1 ^{ère} et 2 ^{ème} injection	****	****	<0,0001	****	****	<0,0001
Comparaison 1 ^{ère} et 3 ^{ème} injection	****	****	<0,0001	****	****	<0,0001
Comparaison 2 ^{ème} et 3 ^{ème} injection	****	****	<0,0001	****	****	<0,0001

	Coefficient de corrélation	P value
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 1 ^{ère} injection	0,469	0,037
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 2 ^{ème} injection	0,713	0,0004
Comparaison entre le degré de la boiterie et l'index modifié WOMAC à la 3 ^{ème} injection	0,723	0,0003

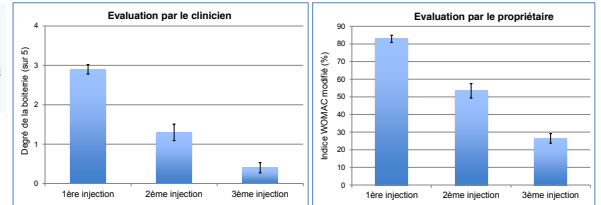
Résultats

- ◇ Répétabilité quant à la préparation du concentré plaquettaire
- ◇ Diminution de IL-1β dans l'articulation au fur et à mesure du traitement
- ◇ Amélioration du degré de boiterie selon le propriétaire (indice WOMAC modifié) et selon le clinicien

Après 1 an de suivi:

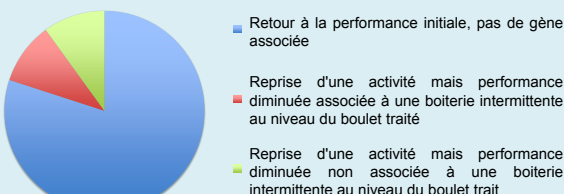
- 80 % des chevaux retrouvent une performance similaire sans gêne
- 20 % retrouvent une activité identique mais associée à une diminution de la performance dont 50 % présentent une boiterie intermittente

- ◇ Corrélation significative entre les données biologiques et les données cliniques
- ◇ Corrélation significative entre l'évaluation du clinicien et celle du propriétaire



Conclusion

Suivi de l'activité du cheval un an après le traitement



- ❑ Rôle majeur des plaquettes → libération TGF-β et PDGF-BB → initiation et maintien du processus de cicatrisation, associée à un contrôle de la douleur et de l'inflammation
- ❑ Un bon traitement alternatif, peu invasif, sûr et pratique (rapide et répétable) dans le cas d'OA ne répondant plus aux injections IA de corticostéroïdes ou au repos
- ❑ Des résultats concluants même à long terme, sans effet secondaire, faible coût

CONCLUSION

Le cheval est un véritable athlète ! Ainsi, un des défis de la médecine équine est la réhabilitation sportive du patient. Outre l'approche médicale visant à soigner ou à défaut à limiter la genèse d'une affection, le vétérinaire équin doit en permanence viser cette réhabilitation sportive du cheval. Parmi tous les traitements disponibles à ce jour pour lutter contre l'arthrose, aucun ne permet la guérison *stricto sensu*. Par conséquent, un deuxième défi se livre à nous : comment lutter au mieux contre le cercle vicieux auto-aggravant imposé par cette affection ?

La thérapie à base de plasma enrichi en plaquettes représente un réel espoir pour pallier les difficultés que les praticiens – vétérinaires comme médecins – peuvent rencontrer en ce qui concerne les affections chroniques dont les thérapeutiques usuelles telles que les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les injections de corticoïdes, ou encore les ondes de choc ont montré leurs limites.

Cette nouvelle thérapie en développement depuis une dizaine d'années souffre cependant du manque de standardisation dans les protocoles, mais aussi du manque d'études contrôlées et randomisées. C'est pourquoi il est nécessaire de pousser davantage les études.

Par ailleurs, un des facteurs importants lors de la proposition d'un nouveau traitement est l'aspect financier. Les injections de concentrés plaquettaires répondent tout à fait à cette préoccupation de par son faible coût. Un autre argument pouvant être mis en avant face à la tendance actuelle où de plus en plus de personnes contestent l'utilisation de médicaments : l'utilisation de concentrés plaquettaires est un traitement autologue : donneur et receveur sont les mêmes.

Les résultats prometteurs de l'étude que nous avons réalisée, mais également les conclusions recueillies dans la bibliographie nous poussent vers une volonté d'utiliser ces concentrés plaquettaires : en s'intéressant à la physiopathologie de l'ostéoarthrose et au mécanisme d'action du plasma enrichi en plaquettes, on ne peut être qu'optimiste quant à son utilisation future.

ANNEXES

ANNEXE 1 – FEI List of detection times

ANNEXE 2 – EHSLC Detection times

ANNEXE 3 – Score WOMAC ou index de sévérité des symptômes de l'arthrose des membres inférieurs

ANNEXE 4 – Score KOOS : modèle de questionnaire

ANNEXE 5 – Notice de recommandations de l'appareil Vet-Stem GenesisCS-2

FEI LIST OF DETECTION TIMES

13 August 2014

Important notes:

1. A detection time is not the same as a withdrawal time. The detection time is the approximate period of time for which a drug (or its metabolite) remains in a horse's system, such that it can be detected by the laboratory and is provided only as a guide. The withdrawal time for a drug must be decided upon by the treating veterinarian and is likely to be based on the detection time and an added safety margin. This margin should be determined using professional judgment and discretion to allow for individual differences between horses such as size, metabolism, degree of fitness, recent illness or disease etc. to be taken into consideration.
2. With all medications, a clinical judgment is essential to ensure that the welfare of the horse is never compromised by administering a drug at a time too close to an event such that it may mask symptoms and could aggravate a clinical condition. Horses with locomotor problems in particular must always be provided with adequate rest.
3. Neither the FEI nor any of its employees or agents shall be liable for any direct, indirect, special, incidental, or consequential damages resulting from the use of the information contained in this document. The FEI expressly excludes all warranties, expressed or implied, including, but not limited to, any warranty of fitness for any particular purpose, veterinary or non-veterinary. All users of the list below and the information contained and referenced in this document must always rely on their best professional judgment in prescribing or administering controlled medications to a horse and estimating a "withdrawal time" prior to competition, whether based on this document or not. Information contained in this document must always be carefully assessed and compared with the horse's total clinical situation in order to arrive at a valid "withdrawal time" or other estimate. Reliance on this list shall not be a defence in any future proceedings taken under the FEI Veterinary Regulations and/or the FEI Equine Anti-Doping and Controlled Medication Regulations. Although the FEI has taken all reasonable care that the information contained within this document is accurate at the time of publication, no representation or guarantee, expressed or implied, is made as to its accuracy, reliability or completeness.

Substance	Preparation	Dose	Route of administration	Number of horses	Detection time (hours)
PHENYLBUTAZONE#§	Equipalazone	4.4 mg/kg/5 days/2x/day	Oral	2	168 (7d)
	Phenylarthrite	8.8 mg/kg	i.v.	6	168
	Equipalazone	8.8 mg/kg/2x/day 1 + 4.4 mg/kg/2x/day for 10 days	oral	6	168
*FLUNIXIN#	Finadyne	1 mg/kg	i.v.	4	144 (6d)
**KETOPROFEN#	Ketofen	2.2 mg/kg/5 days/1x/day	i.v.	6	96 (4d)
*DIPYRONE# (METAMIZOLE)	Vetalgin	30 mg/kg	i.v.	10	72 (3d)
***MELOXICAM#	Metacam,	0.6mg/kg/14 days	Daily Oral	8	72 (3d)
DEMBREXINE#	Sputolysin	0.3 mg/kg/ 9 doses at 12 hr intervals	oral	6	120 (5d)
MEPIVACAINE#	Intra-Epicaine	0.07-0.09 mg/kg (2ml/40mg)	s.c. lateral lower limb	6	48 (2d)
		0.28-0.35 mg/kg (8ml/160mg)	s.c. neck	6	48 (2d)

FEI LIST OF DETECTION TIMES (cont)

DETOMIDINE#	Domosedan	0.02 mg/kg	i.v.	10	48 (2d)
LIDOCAINE#		60-300 mg	s.c.	6	48 (2d)
CLENBUTEROL*	Ventipulmin	0.8µg/kg bid q 8 days	oral	6	168 (7d)
N-BUTYL SCOPOLAMINE#	Buscopan mono***	0.3 mg/kg	i.v.	6	24 (1d)
DEXAMETHASONE	Aqueous solution	10 mg Na-phosphate	i.v.	6	48 (2d)
METHYLPREDNISOLONE ACETATE	Depomedrol	200mg in 3 joints 100mg in 2 joints	i.a. i.a.	5 5	672 (28d) 336 (14d)
TRIAMCINOLONE ACETONIDE	Kenacord retard 40 (40 mg/ml)	12 mg in one joint	i.a.	6	168 (7d)
BETAMETHASONE	Celeston/Soluspan	30mg total body dose in up to 2 joints	i.a	8	168 (7d)

* Studies have shown that re-uptake of drugs (e.g. dipyron, flunixin, clenbuterol) through droppings of the horse or contaminated bedding can result in prolonged detection times. Therefore it is essential that stalls in which competition horses are under NSAID or other treatment are daily and thoroughly cleaned. This applies particularly to oral medication in boxes with straw bedding not replaced very frequently.

** For ketoprofen, administration of topical treatment has resulted in prolonged detection times. Administration of ketoprofen as topical treatment is therefore not recommended.

*** Boehringer Ingelheim.

Based on original data received from the European Horserace Scientific Liaison Committee (EHSLC).

§ Suxibuzone is a prodrug of phenylbutazone. The detection times should follow the same indications as phenylbutazone.

ANNEXE 2 – EHSLC Detection times



DETECTION TIMES				
Substance	Preparation	Dose	Route of Administration (no of horses)	Detection Time (hours)
Phenylbutazone	Equipazolone [®] Arnolds Vet Products Ltd	4.7mg/kg/5days/ twice daily	Oral (2)	168
	Phenylarthritis™ Vetoquinol SA	8.8mg/kg	i.v. (6)	
	Equipazolone [®] Intervet SA	8.8mg/kg/x2/day1 4.4mg/kg/10 days/ twice daily	Oral (6)	
Flunixin	Finadyne [®] Schering Plough	1mg/kg	i.v. (4)	144
Carprofen	Rimadyl [®] Pfizer Ltd	0.7mg/kg	i.v. (6)	264
Ketoprofen	Ketofen [®] Merial Animal Health Ltd	2.2mg/kg/5days/ daily	i.v. (6)	96
Meloxicam	Metacam [®] Boehringer Ingelheim	0.6mg/kg/14days/ daily	Oral (8)	72
Eltenac	Telzenac [®] Schering Plough Animal Health	0.5mg/kg/5days/ daily	i.v. (6)	192
Dipyron	Vetalgin [®] Intervet Deutschland GmbH	30mg/kg	i.v. (10)	72
Vedaprofen	Quadrisol [®] Intervet SA	2mg/kg	i.v. (6)	96
Furosemide	Dimazon™ Intervet	1mg/kg	i.v. (6)	≤48 [^]
Mepivacaine	Intra-Epicaine [®] Arnolds Vet Products Ltd	2mL/40mg (0.07 – 0.09mg/kg)	s/c to lateral aspect of distal limb (6)	72 [↑]
Mepivacaine	Intra-Epicaine [®] Arnolds Vet Products Ltd	8mL/160mg (0.28 – 0.36mg/kg)	s/c neck (6)	72 [↑]
Meclofenamic acid	Not commercially available. Sigma (†see footnote)	2.2mg/kg/single dose	i.v. (6)	≤48 [^]
Meclofenamic	Dynoton	4mg/kg/5 days/	Oral (6)	120

EHSLC comprises the Racing Authorities of France, Ireland, UK, Germany, Italy and Scandinavia
EHSLC v8 270813

EHSLC DETECTION TIMES

acid	Biove Laboratory Arques, France	once daily		
Dembrexine	Sputolysin® Boehringer Ingelheim	0.3mg/kg/9 doses at 12h intervals	Oral (6)	96↓
Detomidine	Domosedan® Orion Pharma, Finland	0.02mg/kg	i.v. (10)	≤48^
Naproxen	Naprosyn™ Roche	10mg/kg/5 days/ once daily	Oral (6)	>360 (15 days)
Butyl scopolamine	Buscopan® Boehringer Ingelheim	0.3mg/kg	i.v. (6)	≤48^
Butyl Scopolamine/ Dipyrone (Metamizole)	Buscopan™ Compositum Boehringer Ingelheim	0.2mg/kg butyl Scopolamine bromide/ 25mg/kg dipyrone (Metamizole)	i.v. (6)	72
Lidocaine	Norocaine® Norbrook Laboratories	300mg/15mL	s/c (6)	72↑
		60mg/3mL	s/c (6)	
Omeprazole	Gastrogard®37% oral Paste Merial	1mg/kg/28days/ daily	Oral (* see note)	72
Clenbuterol	Ventipulmin™ Syrup (25 micrograms/ml) Boehringer Ingelheim	1.6µg/kg/day for 10 days	Oral (6)	312
Clenbuterol	Ventipulmin™ Injection (30 micrograms/ml) Boehringer Ingelheim	0.3µg/kg/day for 5 days	Nebulised\$ (6)	144
Ipratropium	Atrovent™ solution for nebulisation (0.5 mg /ml) Boehringer Ingelheim	5.5µg/kg/day for 3 days (16.5µg/kg in total)	Nebulised** (6) [MDI-Spacer]	120↓ [168]
Acepromazine	Sedalin® Vetoquinol UK Ltd	0.15mg/kg	Oral (6)	72
Prednisolone	Prednidale® 25 mg Dechra	1mg/kg	Oral (6)	≤ 48^
Romifidine	Sedivet® Boehringer Ingelheim	80µg/kg	i.v. (8)	60
Butorphanol	Torbugesic® Fort Dodge Animal Health Ltd	100µg/kg	i.v. (6)	72
Salbutamol	Ventolin Evohaler® Allen & Hansburys	5 x 100µg actuations per dose, 4 hourly dosing during day for 2 days	Inhaled via a pMDI through a spacer into nostrils(≠ see note) (6)	96
Firocoxib	Equioxx® Merial	100µg/kg, single dose daily for 7days	Oral (20)	360 (15 days)

EHSLC DETECTION TIMES

Detomidine/ Butorphanol	Domosedan® Janssen Torbugesic® Pfizer	10µg/kg followed after 5 minutes with 25µg/kg Torbugesic®	i.v. (6)	72↑ ²
Romifidine/ Butorphanol	Sedivet® Boehringer Ingelheim Torbugesic® Pfizer	60µg/kg followed after 5 minutes with 25µg/kg Torbugesic®	i.v. (6)	72

Please note: those preparations from Arnolds Vet Products Ltd are now marketed and licensed under Dechra Veterinary Products

† Prepared according to Johansson et al Pharmaceutical & Biomedical Analysis (1986) 4, 2 171-179

* Calculated from several studies involving differing numbers of horses

** Note that the previously released DT of 7 days relates to this product being given via a Metered Dose Inhaler/Spacer administration system whereas this 5 day advice relates to true nebulisation.

§ This route of administration is not licensed in the UK

‡ These products are licenced human medications and therefore should be used in accordance with Veterinary Medicine Regulations guidance on the use of the cascade, including precautions to ensure human safety.

^The BHA, an EHSLC member country, requires that a prohibited substance may not be given on the day of a race. Other EHSLC member countries advise that a prohibited substance may not be given within 48 hours, or longer, of a race. Therefore, no Detection Times ≤ 48 hours will be advised by the EHSLC with whom the BHA harmonise Detection Times.

↑ Increase in Detection Time from that previously published. New Detection Time applicable from 28 November 2011.

↑² Increase in Detection Time from that previously published by BHA. New Detection Time applicable from 1 October 2012.

↓ Decrease in Detection Time from previously published level. New Detection Time applicable from 28 November 2011.

ANNEXE 3 – Score WOMAC ou index de sévérité des symptômes de l'arthrose des membres inférieurs

WOMAC : index de sévérité symptomatique de l'arthrose des membres inférieurs

Le WOMAC est l'index validé dans l'évaluation d'une arthrose des membres inférieurs. Il existe 2 systèmes de cotation des réponses aux questions : soit l'échelle de Lickert avec 5 réponses possibles (nulle = 0 ; minime = 1 ; modérée = 2 ; sévère = 3 ; extrême = 4), soit une échelle visuelle analogique de 100 mm. Il est possible de calculer les scores dans chaque domaine ou pour l'ensemble du WOMAC

WOMAC Domaine douleur : quelle est l'importance de la douleur ?

1. Lorsque vous marchez sur une surface plane ?
2. Lorsque vous montez ou descendez les escaliers ?
3. La nuit, lorsque vous êtes au lit ?
4. Lorsque vous vous levez d'une chaise ou vous asseyez ?
5. Lorsque vous vous tenez debout ?

WOMAC Domaine raideur

1. Quelle est l'importance de la raideur de votre articulation lorsque vous vous levez le matin ?
2. Quelle est l'importance de la raideur de votre articulation lorsque vous bougez après vous être assis, couché ou reposé durant la journée ?

WOMAC Domaine fonction : quelle est l'importance de la difficulté que vous éprouvez à :

1. Descendre les escaliers ?
2. Monter les escaliers ?
3. Vous relever de la position assise ?
4. Vous tenir debout ?
5. Vous pencher en avant ?
6. Marcher en terrain plat ?
7. Entrer et sortir d'une voiture ?
8. Faire vos courses ?
9. Enfiler collants ou chaussettes ?
10. Sortir du lit ?
11. Enlever vos collants ou vos chaussettes ?
12. Vous étendre sur le lit ?
13. Entrer ou sortir d'une baignoire ?
14. Vous asseoir ?
15. Vous asseoir et vous relever des toilettes ?
16. Faire le ménage " à fond " de votre domicile ?
17. Faire l'entretien quotidien de votre domicile ?

Référence : Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stit LWJ. Validation of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. J Rheumatol 1995; 15: 1833-40

QUESTIONNAIRE DE GENOU KOOS

DATE: _____ DATE DE NAISSANCE: _____

NOM: _____

INSTRUCTIONS

Ce questionnaire vous demande votre opinion sur votre genou. Il nous permettra de mieux connaître ce que vous ressentez et ce que vous êtes capable de faire dans votre activité de tous les jours.

Répondez à chaque question. Veuillez cocher une seule case par question. En cas de doute, cochez la case qui vous semble la plus adaptée à votre cas.

Symptômes

Ces questions concernent vos symptômes au cours des **huit derniers jours**.

S1. Est-ce que votre genou gonfle?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Tout le temps
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

S2. Ressentez-vous des ou entendez-vous des craquements ou n'importe quel autre type de bruit en bougeant le genou?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Toujours
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

S3. Est-ce que votre genou accroche ou se bloque en bougeant?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Toujours
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

S4. Pouvez-vous étendre votre genou complètement?

Toujours	Souvent	Parfois	Rarement	Jamais
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

S5. Pouvez-vous plier votre genou complètement?

Toujours	Souvent	Parfois	Rarement	Jamais
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Raideur

Ces questions concernent la raideur de votre genou au cours des **huit derniers jours**.

La raideur est la sensation d'avoir du mal à bouger le genou.

S6. Le matin au réveil, la raideur de votre genou est:

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

S7. Après être resté(e) assis(e), couché(e), ou au repos pendant la journée, la raideur de votre genou est:

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Douleur

P1. Avez-vous souvent mal au genou?

Jamais	Une fois par mois	Une fois par semaine	Tous les jours	Tout le temps
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Au cours des **huit derniers jours**, quelle a été l'importance de votre douleur du genou en faisant les activités suivantes?

P2. En tournant, pivotant sur votre jambe

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P3. En étendant complètement le genou

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P4. En pliant complètement le genou

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P5. En marchant sur un terrain plat

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P6. En montant ou en descendant les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P7. Au lit la nuit

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P8. En restant assis(e) ou couché(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

P9. En restant debout

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fonction, vie quotidienne

Les questions suivantes concernent ce que vous êtes capable de faire. Au cours des **huit derniers jours**, quelle a été votre difficulté pour chacune des activités suivantes?

A1. Descendre les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A2. Monter les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A3. Vous relever d'une position assise

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A4. Rester debout

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A5. Vous pencher en avant pour ramasser un objet

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A6. Marcher sur un terrain plat

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A7. Monter ou descendre de voiture

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A8. Faire vos courses

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A9. Mettre vos chaussettes ou vos collants

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A10. Sortir du lit

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A11. Enlever vos chaussettes ou vos collants

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A12. Vous retourner ou garder le genou dans la même position en étant couché(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A13. Entrer ou sortir d'une baignoire

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A14. Rester assis(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A15. Vous asseoir ou vous relever des toilettes

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A16. Faire de gros travaux ménagers (déplacer des objets lourds, récurer les sols,...)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

A17. Faire des petits travaux ménagers (faire la cuisine, faire la poussière,...).

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Activités, sport et loisirs

Les questions suivantes concernent ce que vous êtes capable de faire au cours d'autres activités. Au cours des **huit derniers jours**, quelle a été votre difficulté pour les activités suivantes?

SP1. Rester accroupi(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SP2. Courir

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SP3. Sauter

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SP4. Tourner, pivoter sur votre jambe

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

SP5. Rester à genoux

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Qualité de vie

Q1. Pensez-vous souvent à votre problème de genou?

Jamais	Une fois par mois	Une fois par semaine	Tous les jours	Tout le temps
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Q2. Avez-vous modifié votre façon de vivre pour éviter les activités qui pourraient aggraver votre problème de genou?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Totalement
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Q3. Est-ce qu'un manque de confiance dans votre genou vous gêne?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Totalement
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Q4. Finalement, êtes-vous gêné(e) par votre genou?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Extrêmement
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

*****Merci beaucoup d'avoir répondu à ce questionnaire*****

Vet-Stem GenesisCS-2

VETERINARY PLATELET RICH PLASMA KIT

DESCRIPTION

The GenesisCS-2 Component Concentrating System enables veterinarians to produce autologous platelet rich plasma (PRP) for a variety of surgical and wound care procedures. The GenesisCS-2 system is designed to produce autologous PRP in a straight-forward process that veterinarians or technicians can follow to aseptically produce 3-6 mL PRP in as little as 30 minutes. The GenesisCS-2 system contains everything needed for collection and processing (except a centrifuge) of blood to concentrate platelets.

INSTRUCTIONS (SEE BLOOD DRAW AND PROCESSING STEPS ON REVERSE)

- **Indication for use:** The GenesisCS-2 Component Concentrating System is designed to be used for the safe and rapid preparation of autologous platelet rich plasma (PRP) from a small sample of blood at the patient's point of care. **For veterinary use only.**
- Before using this system, be sure to read and understand these instructions for use.
- For single use only. All items are sterile if the package is undamaged or unopened. Do not re-sterilize. All items contained in this kit must be disposed of according to applicable regulations for biological waste and sharps disposal. Use universal precautions. Must be stored in a dry place. Protect from vapors and extreme heat.
- This device is designed to separate anticoagulated whole blood. Fifty two (52) ml of whole blood must be anticoagulated with 8 ml of ACD before introducing into the separator device (Do not use CPD or heparin). Blood not properly anticoagulated will clot during centrifugation resulting in premature activation.
- The separation device is designed to be centrifuged at 720g (centrifugal force) for 15 minutes without refrigeration. To calculate the centrifugation speed in RPMs, measure the radius of the rotor in centimeters at its widest point. Go to <http://www.vet-stem.com/prp.php> and use the RPM calculator. The separator tubes can be used in rotors designed for IRAP. For additional questions please contact Vet-Stem.
- **Caution:** Federal (U.S.A.) law restricts this device for sale by, or on the order of a licensed veterinarian. Always follow aseptic technique whenever entering a sterile container. Aseptic technique, proper site preparation, and continued protection of the venipuncture site are essential.

PROPER BALANCING OF SEPARATORS

1. To counter balance, separator tubes must be placed opposite each other in the centrifuge rotor.
2. All separators must contain the same volume during centrifugation.
3. **Failure to properly balance the centrifuge can result in blood not separating, equipment damage, and personal injury.**

IF VIGOROUS VIBRATION OCCURS

1. Quickly stop the centrifuge.
2. Remove the components and check each separator for equal volume. Make sure separators are placed at opposite ends of each other and that unused buckets are removed.

PLATELET COUNT (A 1:5 dilution of platelets is recommended to facilitate accurate platelet counting)

1. Make diluent by combining 1 mL of ACD with 9 mL of saline.
2. Mix PRP well and then combine 0.8 mL of diluent with 0.2 mL of PRP in a red top tube and mix gently.
3. Extract volume needed for counting using standard automated or manual counting methods.
4. Platelet count is multiplied by 5 to account for the 1:5 dilution used for counting.

It is recommended that the time of blood collection to the time of injection of autologous PRP should not exceed 4 hours.

Vet-Stem GenesisCS-2

BLOOD DRAW

BLOOD DRAW STEP 1

FILL THE 60ML SYRINGE WITH EXACTLY 8ML OF ACD



BLOOD DRAW STEP 2

ATTACH AND PRIME THE NEEDLE EXTENSION SET WITH THE ACD



BLOOD DRAW STEP 3

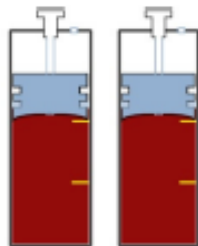
USING ASEPTIC TECHNIQUE, FILL WITH BLOOD TO 60 ML. (52ML BLOOD, 8ML ACD). CAP WITH BLUE LUER LOCK CAP. GENTLY MIX BLOOD WITH ACD.



BLOOD PROCESSING

BLOOD PROCESSING STEP 1

BEFORE PROCESSING GENTLY MIX BLOOD
FILL EACH SEPARATOR WITH 30ML ACD ANTI-COAGULATED BLOOD AND SEAL WITH ATTACHED LUER CAP.



IF USING ONLY ONE SEPARATOR, FILL THE SECOND SEPARATOR WITH WATER AS A CENTRIFUGE COUNTER-BALANCE.

BLOOD PROCESSING STEP 2

PLACE BOTH SEPARATORS IN THE CENTRIFUGE BUCKETS, CAP SIDE UP, AT OPPOSITE SIDES OF THE ROTOR.

SPIN TUBES FOR 15 MINUTES AT 720 x g WITHOUT REFRIGERATION.

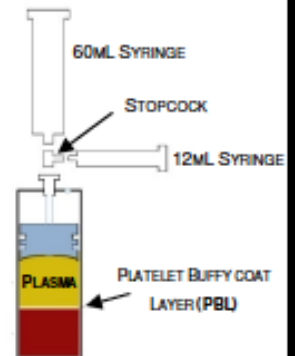
TO CALCULATE THE SPEED IN RPM FOR YOUR CENTRIFUGE ENTER THE RADIUS OF THE ROTOR IN CENTIMETERS AT [HTTP://WWW.VET-STEM.COM/PRP.PHP](http://www.vet-stem.com/prp.php)

INSTRUCTIONS FOR MEASUREMENT OF ROTORS CAN ALSO BE FOUND THERE.

BE SURE TO COUNTERBALANCE SEPARATOR TUBES

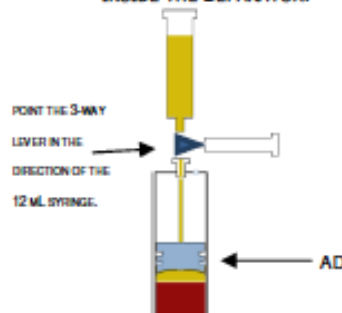
BLOOD PROCESSING STEP 3

ONCE CENTRIFUGATION HAS STOPPED, REMOVE THE SEPARATORS. ATTACH ONE TO THE ASPIRATION ASSEMBLY



BLOOD PROCESSING STEP 4

WITH THE STOPCOCK OPEN TO THE 60ML SYRINGE, BEGIN SLOWLY DRAWING PLASMA INTO THE 60ML SYRINGE. THIS WILL DRAW DOWN THE CONCAVE ASPIRATION DISC (AD) INSIDE THE SEPARATOR.

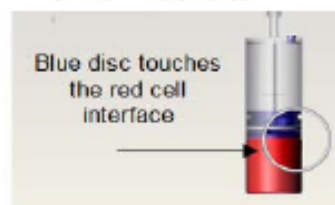


BLOOD PROCESSING STEP 5

ASPIRATE PLASMA UNTIL THE BOTTOM OF THE BLUE ASPIRATION DISC IS AT THE TOP OF THE RED CELL LAYER.

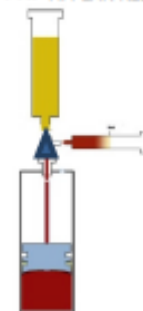
DO NOT ASPIRATE ANY OF THE PBL INTO THE 60ML SYRINGE

OPEN THE 3-WAY VALVE TO THE 12 ML SYRINGE BY POINTING THE 3-WAY STOPCOCK LEVER IN THE DIRECTION OF THE 60 ML SYRINGE.



BLOOD PROCESSING STEP 6

DRAW 3ML OF PRP INTO 12ML SYRINGE
NOTE: PRP WILL CONTAIN SOME OF THE RBC LAYER – THIS WILL MAKE THE PRP APPEAR RED



BLOOD PROCESSING STEP 7 – REMOVE THE 12 ML SYRINGE CONTAINING PRP. CAP THE SYRINGE WITH FRESH BLUE LUER LOCK CAP.

REPEAT STEPS 3-7 FOR EACH 30 ML SEPARATOR.

USE ASEPTIC TECHNIQUE TO TRANSFER NEW 12 ML SYRINGE TO THE ASPIRATION ASSEMBLY.

PROCESSING OPTION – HIGHER PRP CONCENTRATIONS MAY BE OBTAINED BY DRAWING ONLY 2 ML OF PRP INTO THE 12 ML SYRINGE.

Distributed by Vet-Stem, Inc.
12860 Danielson Court, Suite B • Poway, California 92064 • 858.748.2004

BIBLIOGRAPHIE

AIFA, Abdelouahab, GUEUDRY, Julie, PORTMANN, Alexandre, DELCAMPE, Agnès et MURAINÉ, Marc, 2012. Topical Treatment with a New Matrix Therapy Agent (RGTA) for the Treatment of Corneal Neurotrophic Ulcers. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1 décembre 2012. Vol. 53, n° 13, pp. 8181–8185.

AIGNER, T. et MCKENNA, L., 2002. Molecular pathology and pathobiology of osteoarthritic cartilage. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2002. Vol. 59, n° 1, pp. 5–18.

AKEDA, K, AN, H, OKUMA, M, ATTAWIA, M, MIYAMOTO, K, THONAR, E, LENZ, M, SAH, R et MASUDA, K, 2006. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis and Cartilage*. décembre 2006. Vol. 14, n° 12, pp. 1272–1280.

ALTMAN, Roy D., DEAN, David D., MUNIZ, Ofelia E. et HOWELL, David S., 1989. Therapeutic treatment of canine osteoarthritis with glycosaminoglycan polysulfuric acid ester. *Arthritis & Rheumatism*. 1989. Vol. 32, n° 10, pp. 1300–1307.

ANDREWS, J. L., SUTHERLAND, J. et GHOSH, P., 1985. Distribution and binding of glycosaminoglycan polysulfate to intervertebral disc, knee joint articular cartilage and meniscus. *Arzneimittel-Forschung*. 1985. Vol. 35, n° 1, pp. 144–148.

ANITUA, Eduardo, ANDIA, Isabel, ARDANZA, Bruno, NURDEN, Paquita et NURDEN, Alan T., 2004. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis*. janvier 2004. Vol. 91, n° 1, pp. 4–15.

ANITUA, E., SÁNCHEZ, M., NURDEN, A. T., ZALDUENDO, M. M., DE LA FUENTE, M., AZOFRA, J. et ANDÍA, I., 2007. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. *Rheumatology (Oxford, England)*. décembre 2007. Vol. 46, n° 12, pp. 1769–1772.

ARGÜELLES, D., CARMONA, J.U., PASTOR, J., IBORRA, A., VIÑALS, L., MARTÍNEZ, P., BACH, E. et PRADES, M., 2006. Evaluation of single and double centrifugation tube methods for concentrating equine platelets. *Research in Veterinary Science*. octobre 2006. Vol. 81, n° 2, pp. 237–245.

ARMSTRONG, C. G. et MOW, V. C., 1982. Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*. janvier 1982. Vol. 64, n° 1, pp. 88–94.

ARMSTRONG, S. et LEES, P., 1999. Effects of R and S enantiomers and a racemic mixture of carprofen on the production and release of proteoglycan and prostaglandin E2 from equine chondrocytes and cartilage explants. *American Journal of Veterinary Research*. janvier 1999.

Vol. 60, n° 1, pp. 98-104.

AUTEFAGE, A., ALVINERIE, M. et TOUTAIN, P. L., 1986. Synovial fluid and plasma kinetics of methylprednisolone and methylprednisolone acetate in horses following intra-articular administration of methylprednisolone acetate. *Equine Veterinary Journal*. mai 1986. Vol. 18, n° 3, pp. 193-198.

BADER, D. L., SALTER, D. M. et CHOWDHURY, T. T., 2011. Biomechanical Influence of Cartilage Homeostasis in Health and Disease. *Arthritis*. 15 septembre 2011. Vol. 2011, pp. e979032.

BAE, Won C., WONG, Van W., HWANG, Jennifer, ANTONACCI, Jennifer M., NUGENT-DERFUS, Gayle E., BLEWIS, Megan E., TEMPLE-WONG, Michele M. et SAH, Robert L., 2008. Wear-Lines and Split-Lines of Human Patellar Cartilage: Relation to Tensile Biomechanical Properties. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. juillet 2008. Vol. 16, n° 7, pp. 841-845.

BAICI, A. et BRADAMANTE, P., 1984. Interaction between human leukocyte elastase and chondroitin sulfate. *Chemico-Biological Interactions*. 1 septembre 1984. Vol. 51, n° 1, pp. 1-11.

BAIT, C., GIROLAMO, L. de, VOLPI, P., MARINONI, L. et SCHOENHUBER, H., 2007. Treatment of chronic patellar tendinosis with buffered platelet rich plasma : a preliminary study. *MEDICINA DELLO SPORT*. 2007. Vol. 60, n° 4, pp. 595-603.

BALTZER, A. W. A., MOSER, C., JANSEN, S. A. et KRAUSPE, R., 2009. Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 1 février 2009. Vol. 17, n° 2, pp. 152-160.

BARRITAU, D. et CARUELLE, J. -P., 2006. Les agents de régénération (ou RGTAs) : une nouvelle approche thérapeutique. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. février 2006. Vol. 64, n° 2, pp. 135-144.

BARTON, M. H., PASKE, E., NORTON, N., KING, D., GIGUÈRE, S. et BUDSBERG, S., 2014. Efficacy of cyclo-oxygenase inhibition by two commercially available firocoxib products in horses. *Equine Veterinary Journal*. janvier 2014. Vol. 46, n° 1, pp. 72-75.

BAXTER, Gary M., 2011. *Adams and Stashak's lameness in horses*. 6th edition. John Wiley & Sons. ISBN 978-0-8138-1549-7.

BAYLISS, Michael T., OSBORNE, David, WOODHOUSE, Sandra et DAVIDSON, Catherine, 1999. Sulfation of Chondroitin Sulfate in Human Articular Cartilage THE EFFECT OF AGE, TOPOGRAPHICAL POSITION, AND ZONE OF CARTILAGE ON TISSUE COMPOSITION. *Journal of Biological Chemistry*. 28 mai 1999. Vol. 274, n° 22, pp. 15892-15900.

BERTONE, A. L., PALMER, J. L. et JONES, J., 2001. Synovial fluid cytokines and eicosanoids as markers of joint disease in horses. *Veterinary surgery: VS*. décembre 2001. Vol. 30, n° 6, pp. 528-538.

BIETRIX, Jacques, 2004. *Utilisation des nutraceutiques dans la gestion de l'arthrose du cheval. Etude bibliographique*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon 1.

BOILEAU, Christelle, MARTEL-PELLETIER, Johanne et BRUNET, Julie, 2005. Oral treatment with PD-0200347, an alpha-2-delta ligand, reduces the development of experimental osteoarthritis by inhibiting metalloproteinases and inducible nitric oxide synthase gene expression and synthesis in cartilage chondrocytes. *Arthritis and Rheumatism*. 2005. pp. 488-500.

BONDESON, Jan, BLOM, Arjen B., WAINWRIGHT, Shane, HUGHES, Clare, CATERSON, Bruce et VAN DEN BERG, Wim B., 2010. The role of synovial macrophages and macrophage-produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. mars 2010. Vol. 62, n° 3, pp. 647-657.

BONNET, C. S. et WALSH, D. A., 2005. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford, England)*. janvier 2005. Vol. 44, n° 1, pp. 7-16.

BOYAN, Barbara D., SCHWARTZ, Zvi, PATTERSON, Thomas E. et MUSCHLER, George, 2007. Clinical use of platelet-rich plasma in orthopaedics. *American Academy of Orthopaedic Surgeons Now*. 2007. Vol. 1, n° 7.

BRAMLAGE, Larry R. et AUER, Joerg A., 2006. Diagnosis, Assessment, and Treatment Strategies for Angular Limb Deformities in the Foal. *Clinical Techniques in Equine Practice*. décembre 2006. Vol. 5, n° 4, pp. 259-269.

BRUYERE, O., HONORE, A., ETHGEN, O., ROVATI, L. C., GIACOVELLI, G., HENROTIN, Y. E., SEIDEL, L. et REGINSTER, J.-Y. L., 2003. Correlation between radiographic severity of knee osteoarthritis and future disease progression. Results from a 3-year prospective, placebo-controlled study evaluating the effect of glucosamine sulfate. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. janvier 2003. Vol. 11, n° 1, pp. 1-5.

BUFF, P. R., DODDS, A. C., MORRISON, C. D., WHITLEY, N. C., MCFADIN, E. L., DANIEL, J. A., DJIANE, J. et KEISLER, D. H., 2002. Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *Journal of Animal Science*. novembre 2002. Vol. 80, n° 11, pp. 2942-2948.

CARMONA, Jorge U. et PRADES, Marta, 2009. Pathophysiology of osteoarthritis. *Comp Equine*. 2009. Vol. 4.

CARMONA, J.U., ARGÜELLES, D., CLIMENT, F. et PRADES, M., 2007. Autologous

Platelet Concentrates as a Treatment of Horses with Osteoarthritis: A Preliminary Pilot Clinical Study. *Journal of Equine Veterinary Science*. avril 2007. Vol. 27, n° 4, pp. 167–170.

CARON, J. P., EBERHART, S. W. et NACHREINER, R., 1991. Influence of polysulfated glycosaminoglycan on equine articular cartilage in explant culture. *American Journal of Veterinary Research*. octobre 1991. Vol. 52, n° 10, pp. 1622–1625.

CARON, J. P., TARDIF, G., MARTEL-PELLETIER, J., DIBATTISTA, J. A., GENG, C. et PELLETIER, J. P., 1996. Modulation of matrix metalloprotease 13 (collagenase 3) gene expression in equine chondrocytes by interleukin 1 and corticosteroids. *American Journal of Veterinary Research*. novembre 1996. Vol. 57, n° 11, pp. 1631–1634.

CARTER, B. G., BERTONE, A. L., WEISBRODE, S. E., BAILEY, M. Q., ANDREWS, J. M. et PALMER, J. L., 1996. Influence of methylprednisolone acetate on osteochondral healing in exercised tarsocrural joints of horses. *American Journal of Veterinary Research*. juin 1996. Vol. 57, n° 6, pp. 914–922. PMID: 8725823

CARTER, Charleata A, JOLLY, David G, WORDEN, Charles E, HENDREN, Dennis G et KANE, Cynthia J.M, 2003. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*. juin 2003. Vol. 74, n° 3, pp. 244–255.

CARTER, Charleata A., JOLLY, David G., WORDEN, Charles E., HENDREN, Dennis G. et KANE, Cynthia J. M., 2003. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*. juin 2003. Vol. 74, n° 3, pp. 244–255.

CHETINA, E. V. et PUL, A. R., 2008. [The role of growth factors in inhibition of collagen degeneration and chondrocyte differentiation in patients with osteoarthrosis]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk / Rossijskaia Akademiia Meditsinskikh Nauk*. 2008. N° 9, pp. 40–45.

CLAYTON, Hilary M., ALMEIDA, Patricia E., PRADES, Marta, BROWN, Jennifer, TESSIER, Caroline et LANOVAS, Joel L., 2002. Double-blind study of the effects of an oral supplement intended to support joint health in horses with tarsal degenerative joint disease. In : *Am Assoc Equine Pract Proc* [en ligne]. 2002. pp. 314–317. [Consulté le 2 juin 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2002/910102000314.PDF>

CLEGG, Daniel O., REDA, Domenic J., HARRIS, Crystal L., KLEIN, Marguerite A., O'DELL, James R., HOOPER, Michele M., BRADLEY, John D., BINGHAM, Clifton O., WEISMAN, Michael H., JACKSON, Christopher G., LANE, Nancy E., CUSH, John J., MORELAND, Larry W., SCHUMACHER, H. Ralph, ODDIS, Chester V., WOLFE, Frederick, MOLITOR, Jerry A., YOCUM, David E., SCHNITZER, Thomas J., FURST, Daniel E., SAWITZKE, Allen D., SHI, Helen, BRANDT, Kenneth D., MOSKOWITZ, Roland W. et WILLIAMS, H. James, 2006. Glucosamine, Chondroitin Sulfate, and the Two in Combination for Painful Knee Osteoarthritis. *New England Journal of Medicine*. février

2006. Vol. 354, n° 8, pp. 795–808.

CLEMENTS, Kristen M., PRICE, Joanne S., CHAMBERS, Mark G., VISCO, Denise M., POOLE, A. Robin et MASON, Roger M., 2003. Gene deletion of either interleukin-1beta, interleukin-1beta-converting enzyme, inducible nitric oxide synthase, or stromelysin 1 accelerates the development of knee osteoarthritis in mice after surgical transection of the medial collateral ligament and partial medial meniscectomy. *Arthritis and Rheumatism*. décembre 2003. Vol. 48, n° 12, pp. 3452–3463.

COLLINS, NATALIE J., MISRA, DEVYANI, FELSON, DAVID T., CROSSLEY, KAY M. et ROOS, EWA M., 2011. Measures of Knee Function. *Arthritis care & research*. novembre 2011. Vol. 63, n° 11, pp. S208–S228.

COLOMBIER, M. L., LAFONT, J., BLANQUAERT, F., CARUELLE, J. P., BARRITAU, D. et SAFFAR, J. L., 1999. 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. Vol. 164, n° 3, pp. 131–140.

COX, S., VILLARINO, N., SOMMARDAHL, C., KVATERNICK, V., ZARABADIPOUR, C., SIGER, L., YARBROUGH, J., AMICUCCI, A., REED, K., BREEDING, D. et DOHERTY, T., 2013. Disposition of firocoxib in equine plasma after an oral loading dose and a multiple dose regimen. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*. novembre 2013. Vol. 198, n° 2, pp. 382–385.

DAVENPORT-GOODALL, Celia L. M., BOSTON, Raymond C. et RICHARDSON, Dean W., 2004. Effects of insulin-like growth factor-II on the mitogenic and metabolic activities of equine articular cartilage with and without interleukin 1-beta. *American Journal of Veterinary Research*. février 2004. Vol. 65, n° 2, pp. 238–244.

DEAL, C. L. et MOSKOWITZ, R. W., 1999. Nutraceuticals as therapeutic agents in osteoarthritis. The role of glucosamine, chondroitin sulfate, and collagen hydrolysate. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. mai 1999. Vol. 25, n° 2, pp. 379–395.

DE GRAUW, J. C., VAN DE LEST, C. H. A., BRAMA, P. a. J., RAMBAGS, B. P. B. et VAN WEEREN, P. R., 2009. In vivo effects of meloxicam on inflammatory mediators, MMP activity and cartilage biomarkers in equine joints with acute synovitis. *Equine Veterinary Journal*. septembre 2009. Vol. 41, n° 7, pp. 693–699.

DELGUSTE, Catherine, 2008. *Thèse - Contribution à l'étude pharmacologique et clinique du tiludronate chez le cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université de Liège.

DENOIX, Jean-Marie et AUDIGIÉ, Fabrice, 2014. Les affections ostéo-articulaires juvéniles chez le poulain. *Cours coomun 5A Equine, 2015*. CIRALE. 2014.

DENOIX, J. M., THIBAUD, D. et RICCIO, B., 2003. Tiludronate as a new therapeutic agent in the treatment of navicular disease: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Equine*

Veterinary Journal. juin 2003. Vol. 35, n° 4, pp. 407–413.

DOHAN EHRENFEST, David M., RASMUSSEN, Lars et ALBREKTSSON, Tomas, 2009. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. mars 2009. Vol. 27, n° 3, pp. 158–167.

DOHAN, S., DOHAN, A., CHOUKROUN, J., DISS, A., SIMONPIERI, A., GIRARD, M.-O. et DOHAN, D., 2005. De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique. *EMC-Odontologie*. 2005. Vol. 1, n° 2, pp. 141–180.

DORNA I., Videla et GUERRERO, R.C., 1998. Effects of oral and intramuscular use of chondroitin sulfate in induced equine aseptic arthritis. *Journal of Equine Veterinary Science*. décembre 1998. Vol. 18, n° 9, pp. 548–555.

DOUCET, Christelle, ERNOU, Isabelle, ZHANG, Yizhou, LLENSE, Jean-Roch, BEGOT, Laurent, HOLY, Xavier et LATAILLADE, Jean-Jacques, 2005. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *Journal of Cellular Physiology*. novembre 2005. Vol. 205, n° 2, pp. 228–236.

DOUCET, Michèle Y., BERTONE, Alicia L., HENDRICKSON, Dean, HUGHES, Faith, MACALLISTER, Charles, MCCLURE, Scott, REINEMEYER, Craig, ROSSIER, Yves, SIFFERMAN, Roger et VRINS, André A., 2008. Comparison of efficacy and safety of paste formulations of firocoxib and phenylbutazone in horses with naturally occurring osteoarthritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2008. Vol. 232, n° 1, pp. 91–97.

DOUGADOS, M., 2000. Sodium hyaluronate therapy in osteoarthritis: arguments for a potential beneficial structural effect. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. octobre 2000. Vol. 30, n° 2 Suppl 1, pp. 19–25.

DOZIN, Beatrice, MALPELI, Mara, CAMARDELLA, Laura, CANCEDDA, Ranieri et PIETRANGELO, Antonello, 2002. Response of young, aged and osteoarthritic human articular chondrocytes to inflammatory cytokines: molecular and cellular aspects. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*. août 2002. Vol. 21, n° 5, pp. 449–459.

DRAKE, Matthew T., CLARKE, Bart L. et KHOSLA, Sundeep, 2008. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*. septembre 2008. Vol. 83, n° 9, pp. 1032–1045.

DUESTERDIECK-ZELLMER, Katja F., DRISCOLL, Nellie et OTT, Jesse F., 2012. Concentration-dependent effects of tiludronate on equine articular cartilage explants incubated with and without interleukin-1 β . *American Journal of Veterinary Research*. octobre 2012. Vol. 73, n° 10, pp. 1530–1539.

DUMOND, Hélène, PRESLE, Nathalie, TERLAIN, Bernard, MAINARD, Didier, LOEUILLE, Damien, NETTER, Patrick et POTTIE, Pascale, 2003. Evidence for a key role of leptin in osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*. novembre 2003. Vol. 48, n° 11, pp. 3118-3129.

ELLMAN, M. B., YAN, D., AHMADINIA, K., CHEN, D., AN, H. S. et IM, H. J., 2013. Fibroblast growth factor control of cartilage homeostasis. *Journal of Cellular Biochemistry*. avril 2013. Vol. 114, n° 4, pp. 735-742.

ENGLUND, Martin, GUERMAZI, Ali et LOHMANDER, L. Stefan, 2009. The meniscus in knee osteoarthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*. août 2009. Vol. 35, n° 3, pp. 579-590.

EPPLEY, Barry L., WOODSELL, Jennifer E. et HIGGINS, Joel, 2004. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*. novembre 2004. Vol. 114, n° 6, pp. 1502-1508.

EVERTS PA, Devilee RJ, 2008. Exogenous application of platelet-leukocyte gel during open subacromial decompression contributes to improved patient outcome: A prospective randomized double-blind study. *European Surgical Research*. 2008. Vol. 40, n° 2, pp. 203-210.

EWERS, B. J. et HAUT, R. C., 2000. Polysulphated glycosaminoglycan treatments can mitigate decreases in stiffness of articular cartilage in a traumatized animal joint. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*. septembre 2000. Vol. 18, n° 5, pp. 756-761.

FARQUHAR, T., TODHUNTER, R. J., FUBINI, S. L., BURTON-WURSTER, N. et LUST, G., 1996. Effect of methylprednisolone and mechanical loading on canine articular cartilage in explant culture. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. mars 1996. Vol. 4, n° 1, pp. 55-62.

FAUCHIER, Nicolas., JASON, Anne., TOUBOUL, Franck. et MERCIER, Denis., 2013. *Med'Vet le recueil des spécialités à usage vétérinaire: 2014*. Paris : Med'Com. ISBN 9782354031909 2354031904.

FELSON, D.T., 2013. Osteoarthritis as a disease of mechanics. *Osteoarthritis and Cartilage*. janvier 2013. Vol. 21, n° 1, pp. 10-15.

FERNANDES, Julio C., MARTEL-PELLETIER, Johanne et PELLETIER, Jean-Pierre, 2002. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology*. 2002. Vol. 39, n° 1-2, pp. 237-246.

FILARDO, Giuseppe, KON, Elizaveta, DELLA VILLA, Stefano, VINCENELLI, Ferruccio, FORNASARI, Pier Maria et MARCACCI, Maurilio, 2010. Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee. *International Orthopaedics*. août 2010. Vol. 34, n° 6,

pp. 909-915.

FOLAND, J. W., MCILWRAITH, C. W., TROTTER, G. W., POWERS, B. E. et LAMAR, C. H., 1994. Effect of betamethasone and exercise on equine carpal joints with osteochondral fragments. *Veterinary surgery: VS*. octobre 1994. Vol. 23, n° 5, pp. 369-376.

FORTIER, L. A., MOHAMMED, H. O., LUST, G. et NIXON, A. J., 2002. Insulin-like growth factor-I enhances cell-based repair of articular cartilage. *Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume*. 1 mars 2002. Vol. 84-B, n° 2, pp. 276-288.

FORTIER, Lisa A., BARKER, Joseph U., STRAUSS, Eric J., MCCARREL, Taralyn M. et COLE, Brian J., 2011. The Role of Growth Factors in Cartilage Repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. octobre 2011. Vol. 469, n° 10, pp. 2706-2715.

FRISBIE, David D., KAWCAK, Chris E., MCILWRAITH, C. Wayne et WERPYP, Natasha M., 2009. Evaluation of polysulfated glycosaminoglycan or sodium hyaluronan administered intra-articularly for treatment of horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research*. février 2009. Vol. 70, n° 2, pp. 203-209.

FRISBIE, David D., KAWCAK, Christopher E., WERPYP, Natasha M., PARK, Richard D. et MCILWRAITH, C. Wayne, 2007. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research*. 1 mars 2007. Vol. 68, n° 3, pp. 290-296.

FRISBIE, David D., KISIDAY, John D., KAWCAK, Chris E., WERPYP, Natasha M. et MCILWRAITH, C. Wayne, 2009. Evaluation of adipose-derived stromal vascular fraction or bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*. décembre 2009. Vol. 27, n° 12, pp. 1675-1680.

FRISBIE, David et DONNELL, Josh, 2014. Use of firocoxib for the treatment of equine osteoarthritis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. novembre 2014. pp. 159.

FRISBIE, D. D., GHIVIZZANI, S. C., ROBBINS, P. D., EVANS, C. H. et MCILWRAITH, C. W., 2002. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Therapy*. janvier 2002. Vol. 9, n° 1, pp. 12-20.

FRISBIE, D. D., KAWCAK, C. E., TROTTER, G. W., POWERS, B. E., WALTON, R. M. et MCILWRAITH, C. W., 1997. Effects of triamcinolone acetonide on an in vivo equine osteochondral fragment exercise model. *Equine Veterinary Journal*. septembre 1997. Vol. 29, n° 5, pp. 349-359.

FRISBIE, DD, KAWCAK, CW et MCILLWRAITH, CW, 2005. Evaluation of Autologous Conditioned Serum Using an Experimental Model of Equine Osteoarthritis. In : . AAEP Proceedings. 2005. pp. 345,375.

FRISBIE, D. D., SANDLER, E. A., TROTTER, G. W. et MCILWRAITH, C. W., 2000. Metabolic and mitogenic activities of insulin-like growth factor-1 in interleukin-1-conditioned equine cartilage. *American Journal of Veterinary Research*. avril 2000. Vol. 61, n° 4, pp. 436-441.

FRIZZIERO, Antonio, GIANNOTTI, Erika, OLIVA, Francesco, MASIERO, Stefano et MAFFULLI, Nicola, 2012. Autologous conditioned serum for the treatment of osteoarthritis and other possible applications in musculoskeletal disorders. *British Medical Bulletin*. 4 juillet 2012. pp. lds016.

GARCIA, Pauline, 2013. *Contribution à l'étude des modèles d'arthrose : essai préliminaire d'évaluation de perte cartilagineuse focale sur le condyle tibial latéral de lapin par épico-CT et histologie conventionnelle*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon 1.

GELSE, K., EKICI, A. B., CIPA, F., SWOBODA, B., CARL, H. D., OLK, A., HENNIG, F. F. et KLINGER, P., 2012. Molecular differentiation between osteophytic and articular cartilage--clues for a transient and permanent chondrocyte phenotype. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. février 2012. Vol. 20, n° 2, pp. 162-171.

GEORG, Rindermann, MARIA, Cislakova, GISELA, Arndt et BIANCA, Carstanjen, 2010. Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *Journal of Veterinary Science*. 2010. Vol. 11, n° 2, pp. 173.

GIATROMANOLAKI, Alexandra, SIVRIDIS, Efthimios, MALTEZOS, Efstratios, ATHANASSOU, Nick, PAPAZOGLU, Dimitrios, GATTER, Kevin C, HARRIS, Adrian L et KOUKOURAKIS, Michael I, 2003. Upregulated hypoxia inducible factor-1b and -2b pathway in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2003. Vol. 5, n° 4, pp. R193-R201.

GILES, Sarah L., RANDS, Sean A., NICOL, Christine J. et HARRIS, Patricia A., 2014. Obesity prevalence and associated risk factors in outdoor living domestic horses and ponies. *PeerJ*. 20 mars 2014. Vol. 2.

GOBBI, Alberto, KARNATZIKOS, Georgios, MAHAJAN, Vivek et MALCHIRA, Somanna, 2012. Platelet-Rich Plasma Treatment in Symptomatic Patients With Knee Osteoarthritis. *Sports Health*. mars 2012. Vol. 4, n° 2, pp. 162-172.

GOMEZ, Ingrid, BENYAHIA, Chabha, LOUEDEC, Liliane, LESÉCHE, Guy, JACOB, Marie-Paule, LONGROIS, Dan et NOREL, Xavier, 2014. Decreased PGE2 Content Reduces MMP-1 Activity and Consequently Increases Collagen Density in Human Varicose Vein. *PLoS ONE*. février 2014. Vol. 9, n° 2, pp. e88021.

GOODRICH, Laurie R. et NIXON, Alan J., 2006. Medical treatment of osteoarthritis in the horse – A review. *The Veterinary Journal*. janvier 2006. Vol. 171, n° 1, pp. 51-69.

GOUGH, M. R., THIBAUD, D. et SMITH, R. K. W., 2010. Tiludronate infusion in the

treatment of bone spavin: A double blind placebo-controlled trial. *Equine Veterinary Journal*. juillet 2010. Vol. 42, n° 5, pp. 381–387.

GRANGE, Laurent, 2007. *PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHROSE: RÔLE DE LA NADPH OXYDASE NOX 4 DANS L'EXPRESSION DE LA COLLAGÉNASE, MMP-1*. Thèse pour le titre de docteur de l'Université Joseph Fourier. Université Joseph Fourier - Grenoble I.

GRAY, A. W., DAVIES, M. E. et JEFFCOTT, L. B., 2002. Generation and activity of equine osteoclasts in vitro: effects of the bisphosphonate pamidronate (APD). *Research in Veterinary Science*. avril 2002. Vol. 72, n° 2, pp. 105–113.

GUENEC, Brice, Paul, 2003. *Essai de tolérance du RGTA par injection intra-articulaire chez le cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil.

GUÉZENNEC, Aurélie, 2006. *Gestion pratique de la douleur chez le cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

HARKINS, J. D., CARNEY, J. M. et TOBIN, T., 1993. Clinical use and characteristics of the corticosteroids. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*. décembre 1993. Vol. 9, n° 3, pp. 543–562.

HAYENESWORTH, SE, KADIYAL, S et LIANG, L, 2002. Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet releasate suggests a mechanism for enhancement of bone repair by platelet concentrates. *Transactions of the 48th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*. poster no. 462. Dallas. février 2002.

HIBI, H., YAMADA, Y., UEDA, M. et ENDO, Y., 2006. Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. juin 2006. Vol. 35, n° 6, pp. 551–555.

HICKERY, Mark S., BAYLISS, Michael T., DUDHIA, Jayesh, LEWTHWAITE, Joanne C., EDWARDS, Jo C. W. et PITSILLIDES, Andrew A., 2003. Age-related Changes in the Response of Human Articular Cartilage to IL-1 α and Transforming Growth Factor- β (TGF- β) CHONDROCYTES EXHIBIT A DIMINISHED SENSITIVITY TO TGF- β . *Journal of Biological Chemistry*. 26 décembre 2003. Vol. 278, n° 52, pp. 53063–53071.

HUEBNER, Kyla D., SHRIVE, Nigel G. et FRANK, Cyril B., 2014. Dexamethasone inhibits inflammation and cartilage damage in a new model of post-traumatic osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*. avril 2014. Vol. 32, n° 4, pp. 566–572.

HUNTER, David J., 2015. Viscosupplementation for osteoarthritis of the knee. *The New England Journal of Medicine*. 12 mars 2015. Vol. 372, n° 11, pp. 1040–1047.

ISSA, João Paulo Mardegan, TIOSSI, Rodrigo, MELLO, ASDS, LOPES, Ruberval Armando, DI MATTEO, M. A. et IYOMASA, Mamie Mizusaki, 2007. PRP: A possibility in regenerative therapy. *Int. J. Morphol.* 2007. Vol. 25, n° 3, pp. 587–590.

JOOS, Helga, WILDNER, Anja, HOGREFE, Cathrin, REICHEL, Heiko et BRENNER, Rolf E, 2013. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha inhibit migration activity of chondrogenic progenitor cells from non-fibrillated osteoarthritic cartilage. *Arthritis Research & Therapy*. 2013. Vol. 15, n° 5, pp. R119.

KADERLI, S., BOULOCHER, C., PILLET, E., WATRELOT-VIRIEUX, D., ROUGEMONT, A. L., ROGER, T., VIGUIER, E., GURNY, R., SCAPOZZA, L. et JORDAN, O., 2015. A novel biocompatible hyaluronic acid-chitosan hybrid hydrogel for osteoarthritis therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 10 avril 2015. Vol. 483, n° 1-2, pp. 158-168.

KAHN, Cynthia M., 2005. *The Merck veterinary manual*. Whitehouse Station, N.J.; [Great Britain] : Merck & Co. ISBN 0911910506 9780911910506.

KAMM, Lacy, MCILWRAITH, Wayne et KAWCAK, Chris, 2008. A Review of the Efficacy of Tiludronate in the Horse. *Journal of Equine Veterinary Science*. avril 2008. Vol. 28, n° 4, pp. 209-214.

KAREY, K. P. et SIRBASKU, D. A., 1989. Human platelet-derived mitogens. II. Subcellular localization of insulinlike growth factor I to the alpha-granule and release in response to thrombin. *Blood*. 15 août 1989. Vol. 74, n° 3, pp. 1093-1100.

KAWCAK, C. E., FRISBIE, D. D., TROTTER, G. W., MCILWRAITH, C. W., GILLETTE, S. M., POWERS, B. E. et WALTON, R. M., 1997. Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. *American Journal of Veterinary Research*. octobre 1997. Vol. 58, n° 10, pp. 1132-1140.

KHAMMARI CHEBBI, C., KICHENIN, K., AMAR, N., NOURRY, H., WARNET, J. M., BARRITAU, D. et BAUDOUIN, C., 2008. Étude pilote d'un nouvel agent de thérapie matricielle (RGTA OTR4120®) dans les ulcères de cornée et les dystrophies cornéennes rebelles. *Journal Français d'Ophthalmologie*. mai 2008. Vol. 31, n° 5, pp. 465-471.

KIM, C. H., LEE, B. J., YOON, J., SEO, K. M., PARK, J. H., LEE, J. W., CHO, E. S., HONG, J. J., LEE, Y. S. et PARK, J. H., 2001. Therapeutic effect of hyaluronic acid on experimental osteoarthritis of ovine temporomandibular joint. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*. octobre 2001. Vol. 63, n° 10, pp. 1083-1089.

KITOH, Hiroshi, KITAKOJI, Takahiko, TSUCHIYA, Hiroki, KATOH, Mitsuyasu et ISHIGURO, Naoki, 2007. Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones. *Bone*. février 2007. Vol. 40, n° 2, pp. 522-528.

KIVETT, L., TAINTOR, J. et WRIGHT, J., 2014. Evaluation of the safety of a combination of oral administration of phenylbutazone and firocoxib in horses. *Journal of Veterinary*

Pharmacology and Therapeutics. août 2014. Vol. 37, n° 4, pp. 413–416.

KNYCH, H. K., VIDAL, M. A., CASBEER, H. C. et MCKEMIE, D. S., 2013. Pharmacokinetics of triamcinolone acetonide following intramuscular and intra-articular administration to exercised Thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal*. novembre 2013. Vol. 45, n° 6, pp. 715–720.

KON, Elizaveta, BUDA, Roberto, FILARDO, Giuseppe, DI MARTINO, Alessandro, TIMONCINI, Antonio, CENACCHI, Annarita, FORNASARI, Pier Maria, GIANNINI, Sandro et MARCACCI, Maurilio, 2010. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. avril 2010. Vol. 18, n° 4, pp. 472–479.

KON, Elizaveta, FILARDO, Giuseppe, DELCOGLIANO, Marco, PRESTI, Mirco Lo, RUSSO, Alessandro, BONDI, Alice, DI MARTINO, Alessandro, CENACCHI, Annarita, FORNASARI, Pier Maria et MARCACCI, Maurilio, 2009. Platelet-rich plasma: new clinical application: a pilot study for treatment of jumper's knee. *Injury*. juin 2009. Vol. 40, n° 6, pp. 598–603.

LEES, Peter, 2003. Pharmacology of drugs used to treat osteoarthritis in veterinary practice. *Inflammopharmacology*. 2003. Vol. 11, n° 4-6, pp. 385–399.

LENOIR, Céline, 2003. *Les défauts d'aplombs du cheval: origine, conséquences et possibilités de traitement. Synthèse bibliographique*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

LIESEGANG, A., LIMACHER, S. et SOBEK, A., 2007. The effect of carprofen on selected markers of bone metabolism in dogs with chronic osteoarthritis. *Schweizer Archiv Für Tierheilkunde*. août 2007. Vol. 149, n° 8, pp. 353–362.

LITTLE, C. B., FLANNERY, C. R., HUGHES, C. E., GOODSHIP, A. et CATERSON, B., 2005. Cytokine induced metalloproteinase expression and activity does not correlate with focal susceptibility of articular cartilage to degeneration. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. février 2005. Vol. 13, n° 2, pp. 162–170.

LI, X., SU, G., WANG, J., ZHOU, Z., LI, L., LIU, L., GUAN, M., ZHANG, Q. et WANG, H., 2013. Exogenous bFGF promotes articular cartilage repair via up-regulation of multiple growth factors. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. octobre 2013. Vol. 21, n° 10, pp. 1567–1575.

MACALLISTER, C. G., MORGAN, S. J., BORNE, A. T. et POLLET, R. A., 1993. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 janvier 1993. Vol. 202, n° 1, pp. 71–77.

MACALLISTER, C. G., 1983. Effects of toxic doses of phenylbutazone in ponies. *American*

Journal of Veterinary Research. décembre 1983. Vol. 44, n° 12, pp. 2277-2279.

MACKAY, R. J., FRENCH, T. W., NGUYEN, H. T. et MAYHEW, I. G., 1983. Effects of large doses of phenylbutazone administration to horses. *American Journal of Veterinary Research*. mai 1983. Vol. 44, n° 5, pp. 774-780.

MACLEOD, J. N., FUBINI, S. L., GU, D. N., TETREAULT, J. W. et TODHUNTER, R. J., 1998. Effect of synovitis and corticosteroids on transcription of cartilage matrix proteins. *American Journal of Veterinary Research*. août 1998. Vol. 59, n° 8, pp. 1021-1026.

MARTEL-PELLETIER, Johanne, BOILEAU, Christelle, PELLETIER, Jean-Pierre et ROUGHLEY, Peter J., 2008. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. avril 2008. Vol. 22, n° 2, pp. 351-384.

MARX, R. E., CARLSON, E. R., EICHSTAEDT, R. M., SCHIMMELE, S. R., STRAUSS, J. E. et GEORGEFF, K. R., 1998. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. juin 1998. Vol. 85, n° 6, pp. 638-646.

MARX, Robert E, 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. avril 2004. Vol. 62, n° 4, pp. 489-496.

MAURIN, Emmanuel, 2010. *Guide pratique de médecine équine*. 2ème édition. Med'com. ISBN 9782354030384.

MAZIÈRES, Bernard, [sans date]. LE CARTILAGE ARTICULAIRE : du cartilage normal au cartilage arthrosique, de la physiologie au traitement. .

MCILWRAITH, C. WAYNE, 2010. Management of joint disease in the sport horse. In : *Proceedings of the 2010 Kentucky Equine Research Nutrition Conference: Feeding and Veterinary Management of the Sports Horse*. 2010. pp. 61-81.

MCILWRAITH, C.W., FRISBIE, D.D., KAWCAK, C.E., FULLER, C.J., HURTIG, M. et CRUZ, A., 2010. The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the horse. *Osteoarthritis and Cartilage*. octobre 2010. Vol. 18, pp. S93-S105. DOI 10.1016/j.joca.2010.05.031.

MC ILWRAITH, CW et TROTTER, GW, 1996. *Joint diseases in the Horse*. 1st edition. Hardcover. ISBN 978-0721651354.

MCILWRAITH, C. W., 1997. Use of sodium hyaluronate (Hyaluronan) in equine joint disease. *Equine Veterinary Education*. décembre 1997. Vol. 9, n° 6, pp. 296-303.

MCILWRAITH, C. W., 2010. The use of intra-articular corticosteroids in the horse: What is known on a scientific basis?: Corticosteroids in the horse. *Equine Veterinary Journal*. septembre 2010. Vol. 42, n° 6, pp. 563-571.

MCLELLAN, J. et PLEVIN, S., 2011. Does it matter which platelet-rich plasma we use?: Does it matter which platelet-rich plasma we use? *Equine Veterinary Education*. février 2011. Vol. 23, n° 2, pp. 101-104.

MEDDAHI, Anne, BRÉE, Françoise, PAPY-GARCIA, Dulce, GAUTRON, Jean, BARRITAU, Denis et CARUELLE, Jean-Pierre, 2002. Pharmacological studies of RGTA(11), a heparan sulfate mimetic polymer, efficient on muscle regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research*. 15 décembre 2002. Vol. 62, n° 4, pp. 525-531.

MILANO, G., SANNA PASSINO, E., DERIU, L., CAREDDU, G., MANUNTA, L., MANUNTA, A., SACCOMANNO, M.F. et FABBRICIANI, C., 2010. The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: an experimental study in a sheep model. *Osteoarthritis and Cartilage*. juillet 2010. Vol. 18, n° 7, pp. 971-980.

MOBASHERI, A., 2012. Osteoarthritis year 2012 in review: biomarkers. *Osteoarthritis and Cartilage*. décembre 2012. Vol. 20, n° 12, pp. 1451-1464.

MONTEIRO-STEAGALL, B. P., STEAGALL, P. V. M. et LASCELLES, B. D. X., 2013. Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*. octobre 2013. Vol. 27, n° 5, pp. 1011-1019.

MORALES-PIGA, A., 1999. Tiludronate. A new treatment for an old ailment: Paget's disease of bone. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. novembre 1999. Vol. 1, n° 1, pp. 157-170. PMID: 11249559

MORI, Yoshifumi, SAITO, Taku, CHANG, Song Ho, KOBAYASHI, Hiroshi, LADEL, Christoph H., GUEHRING, Hans, CHUNG, Ung-il et KAWAGUCHI, Hiroshi, 2014. Identification of fibroblast growth factor-18 as a molecule to protect adult articular cartilage by gene expression profiling. *The Journal of Biological Chemistry*. 4 avril 2014. Vol. 289, n° 14, pp. 10192-10200.

MÜLLER-FASSBENDER, H., BACH, G. L., HAASE, W., ROVATI, L. C. et SETNIKAR, I., 1994. Glucosamine sulfate compared to ibuprofen in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. mars 1994. Vol. 2, n° 1, pp. 61-69.

MURPHY, D. J., TODHUNTER, R. J., FUBINI, S. L., VERNIER-SINGER, M., STRAUBINGER, R. K. et LUST, G., 2000. The effects of methylprednisolone on normal and monocyte-conditioned medium-treated articular cartilage from dogs and horses. *Veterinary surgery: VS*. décembre 2000. Vol. 29, n° 6, pp. 546-557.

NAKAYA, H., OSAWA, G., IWASAKI, N., COCHRAN, D. L., KAMOI, K. et OATES, T. W., 2000. Effects of bisphosphonate on matrix metalloproteinase enzymes in human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontology*. juillet 2000. Vol. 71, n° 7,

pp. 1158-1166.

NEUMANN, Katja, DEHNE, Tilo, ENDRES, Michaela, ERGGELET, Christoph, KAPS, Christian, RINGE, Jochen et SITTINGER, Michael, 2008. Chondrogenic differentiation capacity of human mesenchymal progenitor cells derived from subchondral cortico-spongious bone. *Journal of Orthopaedic Research*. 7 mai 2008. Vol. 26, n° 11, pp. 1449-1456.

NIETO, Jorge E., ALEMAN, Monica, ANDERSON, Jonathan D., FIACK, Ciara et SNYDER, Jack R., 2012. Effects of phenylbutazone on gene expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the oral, glandular gastric, and bladder mucosae of healthy horses. *American Journal of Veterinary Research*. janvier 2012. Vol. 73, n° 1, pp. 98-104.

NISHITANI, Kohei, ITO, Hiromu, HIRAMITSU, Teruko, TSUTSUMI, Ryosuke, TANIDA, Shimei, KITAORI, Toshiyuki, YOSHITOMI, Hiroyuki, KOBAYASHI, Masahiko et NAKAMURA, Takashi, 2010. PGE2 inhibits MMP expression by suppressing MKK4-JNK MAP kinase-c-JUN pathway via EP4 in human articular chondrocytes. *Journal of Cellular Biochemistry*. 1 février 2010. Vol. 109, n° 2, pp. 425-433.

NIXON, A. J., BROWER-TOLAND, B. D. et SANDELL, L. J., 1999. Primary nucleotide structure of predominant and alternate splice forms of equine insulin-like growth factor I and their gene expression patterns in tissues. *American Journal of Veterinary Research*. octobre 1999. Vol. 60, n° 10, pp. 1234-1241.

OEFFNER, C., D'ARCY, A., WINKLER, F. K., EGGIMANN, B. et HOSANG, M., 1992. Crystal structure of human platelet-derived growth factor BB. *The EMBO journal*. 1992. Vol. 11, n° 11, pp. 3921.

OLIJHOEK, G., DRUKKER, J., VAN DER LINDEN, T. J. et TERWINDT-ROUWENHORST, E. A., 1988. Drug effects on arthrosis. Comparison in rabbits of 3 modes of action. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. avril 1988. Vol. 59, n° 2, pp. 186-190.

OWENS, J. G., KAMERLING, S. G. et BARKER, S. A., 1995. Pharmacokinetics of ketoprofen in healthy horses and horses with acute synovitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. juin 1995. Vol. 18, n° 3, pp. 187-195.

OWENS, J. G., KAMERLING, S. G., STANTON, S. R., KEOWEN, M. L. et PRESCOTT-MATHEWS, J. S., 1996. Effects of pretreatment with ketoprofen and phenylbutazone on experimentally induced synovitis in horses. *American Journal of Veterinary Research*. juin 1996. Vol. 57, n° 6, pp. 866-874.

PAUKKONEN, K. et HELMINEN, H. J., 1987. Chondrocyte ultrastructure in exercise and experimental osteoarthritis. A stereologic morphometric study of articular cartilage of young rabbits using transmission electron microscopy. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. novembre 1987. N° 224, pp. 284-288.

PEERBOOMS, Joost C, DE WOLF, Gideon S, COLARIS, Joost W, BRUIJN, Daniël J et

VERHAAR, Jan A N, 2009. No positive effect of autologous platelet gel after total knee arthroplasty. *Acta Orthopaedica*. 1 octobre 2009. Vol. 80, n° 5, pp. 557-562.

PEERBOOMS, Joost C., SLUIMER, Jordi, BRUIJN, Daniël J. et GOSENS, Taco, 2010. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *The American Journal of Sports Medicine*. février 2010. Vol. 38, n° 2, pp. 255-262.

PELLETIER, Jean-Pierre, BOILEAU, Christelle, BOILY, Martin, BRUNET, Julie, MINEAU, François, GENG, Changshen, REBOUL, Pascal, LAUFER, Stefan, LAJEUNESSE, Daniel et MARTEL-PELLETIER, Johanne, 2005. The protective effect of licofelone on experimental osteoarthritis is correlated with the downregulation of gene expression and protein synthesis of several major cartilage catabolic factors: MMP-13, cathepsin K and aggrecanases. *Arthritis Research & Therapy*. 19 juillet 2005. Vol. 7, n° 5, pp. R1091.

PELLETIER, J. P., CLOUTIER, J. M. et MARTEL-PELLETIER, J., 1989. In vitro effects of tiaprofenic acid, sodium salicylate and hydrocortisone on the proteoglycan metabolism of human osteoarthritic cartilage. *The Journal of Rheumatology*. mai 1989. Vol. 16, n° 5, pp. 646-655.

PICHEREAU, Fanny, DÉCORY, Margot et CUEVAS RAMOS, Gabriel, 2014. Autologous Platelet Concentrate as a Treatment for Horses with Refractory Fetlock Osteoarthritis. *Journal of Equine Veterinary Science*. avril 2014. Vol. 34, n° 4, pp. 489-493.

PINOTEAU, Audrey, 2014. *Bilan actualisé sur les complications d'infiltrations intra-articulaire de corticoïdes chez le cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon 1.

PLAAS, A H et SANDY, J D, 1984. Age-related decrease in the link-stability of proteoglycan aggregates formed by articular chondrocytes. *Biochemical Journal*. 15 mai 1984. Vol. 220, n° 1, pp. 337-340.

POOLE, A. R., KOJIMA, T., YASUDA, T., MWALE, F., KOBAYASHI, M. et LAVERTY, S., 2001. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. octobre 2001. N° 391 Suppl, pp. S26-33.

PROCKOP, D. J., 1999. Heritable osteoarthritis. Diagnosis and possible modes of cell and gene therapy. *Osteoarthritis and Cartilage*. 1 juillet 1999. Vol. 7, n° 4, pp. 364-366. DOI 10.1053/joca.1998.0213. PMID: 10419768

PUJOL, Jp, 2000. L'agrécane, enzyme-clé de la dégradation du cartilage dans l'arthrose ? *médecine/sciences*. 2000. Vol. 16, n° 2, pp. 276.

RAEKALLIO, M., TAYLOR, P. M. et BENNETT, R. C., 1997. Preliminary investigations of

pain and analgesia assessment in horses administered phenylbutazone or placebo after arthroscopic surgery. *Veterinary surgery: VS*. avril 1997. Vol. 26, n° 2, pp. 150–155.

RANNOU, F, POIRAUDEAU, S et REVEL, M, 2001. Le cartilage : de la mécanobiologie au traitement physique. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique*. juin 2001. Vol. 44, n° 5, pp. 259–267.

RICHARDSON, D. W. et DODGE, G. R., 2003. Dose-dependent effects of corticosteroids on the expression of matrix-related genes in normal and cytokine-treated articular chondrocytes. *Inflammation Research*. 2003. Vol. 52, n° 1, pp. 039–049.

ROBINSON, E et SPRAYBERRY, Kim A., 1998. *Current techniques in equine surgery and lameness*. 2nd edition. Saunders Elsevier. ISBN 978-0721646015.

ROBINSON, E, 2008. *Current therapy in equine medicine*. 6ème. Saunders. ISBN 978-1416054757.

RODGERS, Martha R., 2006. Effects of oral glucosamine and chondroitin sulfates supplementation on frequency of intra-articular therapy of the horse tarsus. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 2006. Vol. 4, n° 2, pp. 155.

ROSS, Mike W. et DYSON, Sue J., 2010. *Diagnosis and management of lameness in the horse*. 2nd edition. Elsevier/Saunders. ISBN 978-1416060697.

ROUGHLEY, Peter J. et WHITE, Robert, J., 1980. Age-related Changes in the Structure of the Proteoglycan Subunits from Human Articular Cartilage. *The Journal of Biological Chemistry*. 1980. Vol. 255, n° 1, pp. 217–224.

SÁNCHEZ, M., ANITUA, E., AZOFRA, J., AGUIRRE, J. J. et ANDIA, I., 2008. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. *Clinical and Experimental Rheumatology*. octobre 2008. Vol. 26, n° 5, pp. 910–913.

SCHAEFER, Elysia C., STEWART, Allison A., DURGAM, Sushmitha S., BYRON, Christopher R. et STEWART, Matthew C., 2009. Effects of sodium hyaluronate and triamcinolone acetonide on glucosaminoglycan metabolism in equine articular chondrocytes treated with interleukin-1. *American journal of veterinary research*. 2009. Vol. 70, n° 12, pp. 1494–1501.

SILVA, R. F., CARMONA, J. U. et REZENDE, C. M. F., 2013. Intra-articular injections of autologous platelet concentrates in dogs with surgical reparation of cranial cruciate ligament rupture: a pilot study. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology: V.C.O.T.* 2013. Vol. 26, n° 4, pp. 285–290.

SMETS, F., CROISIER, J.-L., FORTHOMME, B., CRIELAARD, J.-M. et KAUX, J.-F., 2012. Applications cliniques du plasma riche en plaquettes (PRP) dans les lésions tendineuses : revue de la littérature. *Science & Sports*. juin 2012. Vol. 27, n° 3, pp. 141–153.

SNIEKERS, Y.H., WEINANS, H., BIERMA-ZEINSTRAS, S.M., VAN LEEUWEN, J.P.T.M. et VAN OSCH, G.J.V.M., 2008. Animal models for osteoarthritis: the effect of ovariectomy and estrogen treatment – a systematic approach. *Osteoarthritis and Cartilage*. mai 2008. Vol. 16, n° 5, pp. 533–541.

SOPHIA FOX, Alice J., BEDI, Asheesh et RODEO, Scott A., 2009. The Basic Science of Articular Cartilage. *Sports Health*. novembre 2009. Vol. 1, n° 6, pp. 461–468.

SPAAS, J. H., OOSTERLINCK, Maarten, BROECKX, Sarah, DUMOULIN, Michèle, SAUNDERS, Jimmy, VAN SOOM, Ann, PILLE, Frederik et VAN DE WALLE, Gerlinde, 2012. Treatment of equine degenerative joint disease with autologous peripheral blood-derived mesenchymal stem cells: a case report. *Vlaams Dierg Tijdschrift*. 2012. Vol. 81, pp. 11–15.

STOLTZ, J. F., 2000. *Mechanobiology: Cartilage and Chondrocyte*. IOS Press. ISBN 9781586030513.

SUN, Y., FENG, Y., ZHANG, C. Q., CHEN, S. B. et CHENG, X. G., 2010. The regenerative effect of platelet-rich plasma on healing in large osteochondral defects. *International Orthopaedics*. avril 2010. Vol. 34, n° 4, pp. 589–597.

SUTTER, Wes, 2007. PRP : Platelet Rich Plasma. . octobre 2007.

SUTTER, W. Wesley, KANEPS, Andris J. et BERTONE, Alicia L., 2004. Comparison of hematologic values and transforming growth factor-beta and insulin-like growth factor concentrations in platelet concentrates obtained by use of buffy coat and apheresis methods from equine blood. *American Journal of Veterinary Research*. juillet 2004. Vol. 65, n° 7, pp. 924–930.

TAMBA, Guillaume, 2005. *Le diagnostic de l'arthrose du membre du cheval*. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

TANDON, P. N. et AGARWAL, R., 1989. A study of nutritional transport in a synovial joint. *Computers & Mathematics with Applications*. 1989. Vol. 17, n° 7, pp. 1131–1141.

TAYLOR, S. E., SMITH, R. K. W. et CLEGG, P. D., 2007. Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific fact or clinical fiction? *Equine Veterinary Journal*. mars 2007. Vol. 39, n° 2, pp. 172–180.

TODHUNTER, R. J., FUBINI, S. L., WOOTTON, J. A. et LUST, G., 1996. Effect of methylprednisolone acetate on proteoglycan and collagen metabolism of articular cartilage explants. *The Journal of Rheumatology*. juillet 1996. Vol. 23, n° 7, pp. 1207–1213.

TROTTER, Gayle W., YOVICH, John V., MCILWRAITH, C. W. et NORRDIN, Robert W., 1989. Effects of intramuscular polysulfated glycosaminoglycan on chemical and physical defects in equine articular cartilage. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1989. Vol. 53, n° 2, pp. 224.

TUNG, Jayne T., ARNOLD, Carolyn E., ALEXANDER, Lee H., YUZBASIYAN-GURKAN, Vilma, VENTA, Patrick J., RICHARDSON, Dean W. et CARON, John P., 2002. Evaluation of the influence of prostaglandin E2 on recombinant equine interleukin-1beta-stimulated matrix metalloproteinases 1, 3, and 13 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 expression in equine chondrocyte cultures. *American Journal of Veterinary Research*. juillet 2002. Vol. 63, n° 7, pp. 987-993.

VAN DEN BOOM, R., BRAMA, P. a. J., KIERS, G. H., DEGROOT, J., BARNEVELD, A. et VAN WEEREN, R. R., 2004. The influence of repeated arthrocentesis and exercise on matrix metalloproteinase and tumour necrosis factor alpha activities in normal equine joints. *Equine Veterinary Journal*. mars 2004. Vol. 36, n° 2, pp. 155-159.

VAN DER KRAAN, P.M., 2012. Osteoarthritis year 2012 in review: biology. *Osteoarthritis and Cartilage*. décembre 2012. Vol. 20, n° 12, pp. 1447-1450.

VANHARANTA, H., 1983. Glycosaminoglycan polysulphate treatment in experimental osteoarthritis in rabbits. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 1983. Vol. 12, n° 3, pp. 225-230.

VIEL, E, BEN AMMAR, M-S et ELEDJAM, J-J, 2006. AINS, inhibiteurs de la COX2. *Evaluation et traitement de la douleur*. Elsevier Masson. 2006. pp. 603:616.

WALLACE, J. L., REUTER, B. K., MCKNIGHT, W. et BAK, A., 1998. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: are they really effective, selective, and GI-safe? *Journal of Clinical Gastroenterology*. 1998. Vol. 27 Suppl 1, pp. S28-34.

WANDEL, Simon, JÜNI, Peter, TENDAL, Britta, NÜESCH, Eveline, VILLIGER, Peter M., WELTON, Nicky J., REICHENBACH, Stephan et TRELLE, Sven, 2010. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *BMJ*. 16 septembre 2010. Vol. 341, pp. c4675.

WANG, Qian, ROZELLE, Andrew L, LEPUS, Christin M, SCANZELLO, Carla R, SONG, Jason J, LARSEN, D Meegan, CRISH, James F, BEBEK, Gurkan, RITTER, Susan Y, LINDSTROM, Tamsin M, HWANG, Inyong, WONG, Heidi H, PUNZI, Leonardo, ENCARNACION, Angelo, SHAMLOO, Mehrdad, GOODMAN, Stuart B, WYSS-CORAY, Tony, GOLDRING, Steven R, BANDA, Nirmal K, THURMAN, Joshua M, GOBEZIE, Reuben, CROW, Mary K, HOLERS, V Michael, LEE, David M et ROBINSON, William H, 2011. Identification of a central role for complement in osteoarthritis. *Nature Medicine*. 6 novembre 2011. Vol. 17, n° 12, pp. 1674-1679.

WANG, Yuze, WEI, Lei, ZENG, Lingyuan, HE, Dongdong et WEI, Xiaochun, 2013. Nutrition and degeneration of articular cartilage. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. août 2013. Vol. 21, n° 8, pp. 1751-1762.

WEHLING, Peter, MOSER, Carsten, FRISBIE, David, MCILWRAITH, C. Wayne, KAWCAK, Christopher E., KRAUSPE, Ruediger et REINECKE, Julio A., 2007. Autologous

conditioned serum in the treatment of orthopedic diseases. *BioDrugs*. 2007. Vol. 21, n° 5, pp. 323–332.

WHITMAN, D. H., BERRY, R. L. et GREEN, D. M., 1997. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. novembre 1997. Vol. 55, n° 11, pp. 1294–1299.

WIELAND, Heike A., MICHAELIS, Martin, KIRSCHBAUM, Bernhard J. et RUDOLPHI, Karl A., 2005. Osteoarthritis - an untreatable disease? *Nature Reviews. Drug Discovery*. avril 2005. Vol. 4, n° 4, pp. 331–344.

WILLIAMS, Adam, SMITH, Julia R., ALLAWAY, David, HARRIS, Pat, LIDDELL, Susan et MOBASHERI, Ali, 2013. Carprofen inhibits the release of matrix metalloproteinases 1, 3, and 13 in the secretome of an explant model of articular cartilage stimulated with interleukin 1 β . *Arthritis Research & Therapy*. 2013. Vol. 15, n° 6, pp. R223.

WOO, T. et ADACHI, J. D., 2001. Role of bisphosphonates and calcitonin in the prevention and treatment of osteoporosis. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*. juillet 2001. Vol. 15, n° 3, pp. 469–481.

WU, Li Dong, YU, Hua Chen, XIONG, Yan et FENG, Jie, 2006. Effect of dehydroepiandrosterone on cartilage and synovium of knee joints with osteoarthritis in rabbits. *Rheumatology International*. novembre 2006. Vol. 27, n° 1, pp. 79–85.

WYSE, C. A., MCNIE, K. A., TANNAHILL, V. J., TANNAHIL, V. J., MURRAY, J. K. et LOVE, S., 2008. Prevalence of obesity in riding horses in Scotland. *The Veterinary Record*. 3 mai 2008. Vol. 162, n° 18, pp. 590–591.

YAMADA, Yoichi, UEDA, Minoru, NAIKI, Takahito, TAKAHASHI, Makoto, HATA, Ken-Ichiro et NAGASAKA, Tetsuro, 2004. Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: tissue-engineered bone regeneration. *Tissue Engineering*. juin 2004. Vol. 10, n° 5-6, pp. 955–964.

YANG, K. G. Auw, RAIJMAKERS, N. J. H., VAN ARKEL, E. R. A., CARON, J. J., RIJK, P. C., WILLEMS, W. J., ZIJL, J. A. C., VERBOUT, A. J., DHERT, W. J. A. et SARIS, D. B. F., 2008. Autologous interleukin-1 receptor antagonist improves function and symptoms in osteoarthritis when compared to placebo in a prospective randomized controlled trial. *Osteoarthritis and Cartilage*. avril 2008. Vol. 16, n° 4, pp. 498–505.

YATES, Angela C., STEWART, Allison A., BYRON, Christopher R., PONDENIS, Holly C., KAUFMANN, Karissa M. et CONSTABLE, Peter D., 2006. Effects of sodium hyaluronate and methylprednisolone acetate on proteoglycan metabolism in equine articular chondrocytes treated with interleukin-1. *American Journal of Veterinary Research*. décembre 2006. Vol. 67, n° 12, pp. 1980–1986.

YOSHIDA, Minoru, TOKUDA, Haruhiko, ISHISAKI, Akira, KANNO, Yosuke, HARADA, Atsushi, SHIMUZU, Katsuji et KOZAWA, Osamu, 2005. Tiludronate inhibits prostaglandin F₂ α -induced vascular endothelial growth factor synthesis in osteoblasts. *Molecular and Cellular Endocrinology*. mai 2005. Vol. 236, n° 1–2, pp. 59–66.

ZUFFOVA, K., KRISOVA, S., ZERT, Z. et OTHERS, 2013. Platelet rich plasma treatment of superficial digital flexor tendon lesions in racing Thoroughbreds. *Veterinarni Medicina*. 2013. Vol. 58, n° 4, pp. 230–239.

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'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **PICHEREAU Fanny** intitulée « **Traitements contre l'arthrose chez le cheval, étude d'une nouvelle approche thérapeutique : Plasma enrichi en plaquettes.** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.



Fait à Toulouse, le 22 mai 2015
Docteur Gabriel CUEVAS RAMOS
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

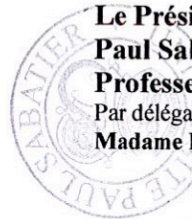
Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Jean-Claude BRETHES



Vu :
Le Président du jury :
Professeure Bettina COUDERC



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT
Par délégation, la Vice-Présidente du CEVU
Madame Régine ANDRÉ OBRECHT



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

NOM : PICHEREAU

PRENOM : Fanny

TITRE : TRAITEMENTS CONTRE L'ARTHROSE CHEZ LE CHEVAL ET ETUDE D'UNE NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE : PLASMA ENRICHI EN PLAQUETTES

RESUME :

L'ostéoartrrose est l'une des affections les plus courantes touchant l'appareil musculo-squelettique et entraînant l'arrêt de la carrière sportive chez le cheval. L'utilisation d'injections intra-articulaires de corticostéroïdes se voit très souvent proposée comme choix thérapeutique. D'autres alternatives ou traitements complémentaires peuvent être utilisés chez le cheval, comme par exemple des anti-inflammatoires non stéroïdiens, des injections d'acide hyaluronique, ou encore des compléments alimentaires anti-arthrosiques.

L'ostéoartrrose repose sur la rupture d'un équilibre complexe entre des phénomènes anaboliques et cataboliques. Lorsque l'équilibre est rompu, l'action des cytokines pro-inflammatoires va être exacerbée. De nouvelles thérapies cherchent donc à rétablir cet équilibre en inhibant ces cytokines.

La nouvelle approche proposée ici consiste à apporter directement les facteurs de croissance intervenant dans les phénomènes anaboliques. Les facteurs de croissance contenus dans les plaquettes sont connus pour leur propriété anabolique et angiogénique, apportant un effet bénéfique sur l'épithélium synovial, le cartilage et donc sur la douleur. Le but de cette nouvelle thérapie est de réaliser des injections de plasma autologue concentré en plaquettes afin d'apporter ces facteurs de croissance en grand nombre. Après un an de suivi, nous montrons que 80% des 20 chevaux traités avec cette unique solution autologue concentrée en plaquettes peuvent retourner au travail. Ce traitement serait donc un choix sûr et peu coûteux pour le traitement d'ostéoartrrose réfractaire chez le cheval.

MOTS-CLES : ostéoartrrose, cheval, articulation, cartilage, cytokine, glucocorticoïdes, anti-inflammatoires non stéroïdiens, acide hyaluronique, IRAP, plasma enrichi en plaquette

TITLE : OSTEOARTHRITIS TREATMENTS IN THE HORSE AND STUDY OF A NEW APPROACH : PLATELET-RICH PLASMA

ABSTRACT :

Osteoarthritis is one of the most common musculoskeletal pathologies in horses, and is a disease capable of halting their athletic career. The use of intra-articular corticosteroid injections is often proposed as a therapeutic choice. Alternative or complementary treatments can be used in horses, such as nonsteroidal anti-inflammatory drugs, injections of hyaluronic acid, or anti-arthritis oral supplements.

Osteoarthritis is based on the breakdown of a complex balance between anabolic and catabolic processes. When the balance is broken, the action of pro-inflammatory cytokines will be exacerbated. New therapies are seeking to redress this balance by inhibiting these cytokines.

The new approach proposed here is to bring directly growth factors involved in the anabolic phenomena. Growth factors contained in platelets are known to have anabolic and angiogenic properties bringing a positive effect on synovial epithelium, cartilage and so on pain. The purpose of this new therapy is to realize autologous platelet concentrate injections to provide these growth factors in large numbers. We show here the method for platelet concentrate preparation, the follow up evaluation approach and the outcome of 20 cases with refractory osteoarthritis treated exclusively with autologous platelet concentrate. After a one year follow up, 80% of patients were able to resume work. According to our results and observations, platelet concentrate be used as a safe and low cost intraarticular therapy for refractory OA in the horse.

KEY WORDS : osteoarthritis, horse, joint, cartilage, glucocorticoids, Nonsteroidal anti-inflammatory drug, hyaluronic acid, IRAP, platelet-rich plasma