

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2015

THESES 2015 / TOU3 / 2115

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Ludovic JOUANDOU

**POTENTIEL THERAPEUTIQUE DES CELLULES SOUCHES
DANS L'ARTHROSE**

Lundi 7 Décembre 2015

Directeur de thèse : Bettina COUDERC

JURY

Président : Daniel CUSSAC, Professeur des Universités
1er assesseur : Bettina COUDERC, Professeur des Universités
2ème assesseur : Mathieu COTONAT, Docteur en Pharmacie

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2014

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G	Physiologie
M. CHAVANT L	Mycologie
Mme FOURASTÉ I	Pharmacognosie
M. MOULIS C	Pharmacognosie
M. ROUGE P	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CHATELUT E	Pharmacologie	Mme BARRE A	Biologie
M. FAVRE G	Biochimie	Mme BAZIARD G	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S	Mathématiques – Biostat.
M. PARINI A	Physiologie	M. BENOIST H	Immunologie
M. PASQUIER C (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B	Biochimie
Mme ROUSSIN A	Pharmacologie	M. CUSSAC D (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S	Biochimie
M. SIÉ P	Hématologie	M. FABRE N	Pharmacognosie
M. VALENTIN A	Parasitologie	M. GAIRIN J-E	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAUMONT C	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F	Chimie analytique
		M. SALLES B	Toxicologie
		Mme SAUTEREAU A-M	Pharmacie galénique
		M. SÉGUI B	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P	Chimie analytique
		Mme TABOULET F	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P	Pharmacie Clinique	Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie	Mme AUTHIER H	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique	M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique	Mme BON C	Biophysique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie	M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F	Pharmacologie	Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
		M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C	Physiologie
		Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
		Mme COSTE A (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N	Biochimie
		Mme DERAÈVE C	Chimie Thérapeutique
		Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
		Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F	Toxicologie
		Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
		Mme LEFEVRE L	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A	Biochimie
		M. MARTI G	Pharmacognosie
		Mme MIREY G (*)	Toxicologie
		Mme MONTFERRAN S	Biochimie
		M. Olichon A	Biochimie
		M. PERE D	Pharmacognosie
		Mme PHILIBERT C	Toxicologie
		Mme PORTHE G	Immunologie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D	Hématologie
		Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche	
Mme COOL C (**)	Physiologie	Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme FONTAN C	Biophysique	Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
Mme KELLER L	Biochimie	M IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique
M. PÉRES M. (**)	Immunologie		
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique		
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique		

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2014

Remerciements

Mes premiers remerciements sont dédiés aux membres du jury :

A Mme Bettina Couderc qui a accepté de diriger mon travail. J'ai apprécié les échanges que nous avons eu lors de la rédaction de cette thèse. Merci pour votre investissement et votre gentillesse. Veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A Mr Daniel Cussac, merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Merci également pour la qualité de vos enseignements et votre accessibilité tout au long de ces études. Veuillez trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude.

A Mr Mathieu Cotonat, merci d'être présent dans ce jury. Vous m'avez fait découvrir pleinement le métier de pharmacien d'officine et je suis heureux d'avoir pu évoluer à vos côtés. Veuillez trouver ici le témoignage de mon estime et de ma reconnaissance.

Aux équipes officinales au sein desquelles j'ai pu exercer,

A l'équipe de la pharmacie Cotonat : en plus de Mr Cotonat, je tiens à remercier Pénélope, Seham, Sylvie et Marie. Vous avez été très accueillantes et très formatrices. Merci pour ces moments partagés. Ce fut un grand plaisir de travailler à vos côtés.

A l'équipe de la pharmacie de Limayrac : Mme Nicole Arnaud, Mme Alexandra Ochando, Malorie, Christelle et Véronique. Merci d'avoir accepté un garçon au sein de votre équipe ! Vous m'avez permis d'évoluer tant sur le plan humain que professionnel et je vous en suis très reconnaissant. Un grand merci.

A ma famille,

Papa, Maman, c'est grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui. Vous m'avez autorisé à tenter ma chance dans ces études et je vous en serai toujours reconnaissant. Merci de m'avoir

encouragé pendant ces longues années et d'avoir été disponibles lorsque j'en avais besoin.
Merci tout simplement d'être là.

Aurélien, Marion, mon grand frère et ma grande sœur, vous avez été, chacun à votre manière, un exemple à suivre. Merci de vous être toujours intéressé à mon parcours durant ces longues études.

Je sais que je peux toujours compter sur vous.

Merci Marion d'avoir apporté dans la famille, avec l'aide de Fabrice, ce grand rayon de soleil qu'est Noémie.

A tous mes grands-parents, oncles et tantes, cousins et cousines, je suis très heureux de posséder une famille si soudée. C'est toujours avec grand plaisir que je vous retrouve lors de nos repas festifs. Merci à vous tous.

A mes amis,

Les amis Nayais : Germain et Thibaud. Merci pour cette amitié qui dure maintenant depuis plus de 10 ans. Que de beaux moments passés avec vous et que de fous rires (voyage en Italie, camping, soirées...la liste est longue!!). Tout est simple avec vous et malgré l'éloignement vous m'avez été précieux durant ces années d'études. Je sais que notre amitié durera encore longtemps ! Merci à toi aussi Clara qui a rendu Germain un peu moins fou !

Les amis de fac : David, Nolwenn, Laure, Hélène et Manon. J'aurai pu vous appeler les copains de galère mais en réalité notre amitié nous a permis de faire de ces études des moments de bonheur. C'est même passé trop vite et j'aurai dû venir plus souvent en cours pour en profiter !

Vous êtes des personnes formidables. Je ne suis pas prêt d'oublier tous les moments partagés à vos côtés que ça soit dans les amphithéâtres où nos vacances estivales. Chacun va suivre son chemin maintenant mais je suis persuadé que l'on se soutiendra et que l'on restera en contact, car c'est une réelle amitié qui nous unit. Merci pour tout les amis.

Les amis du tennis : Seb, Guillaume, Micka. C'est pour vous que je fais cette thèse car à votre

âge avancé, l'arthrose vous guette ! Plus sérieusement merci pour tous ces beaux moments vécus avec vous sur, et en dehors du court. Nos matchs et entraînements m'ont permis de me changer les idées durant mes périodes studieuses et cela a été très important pour ma réussite. Ne changez rien (à part peut être le service pour toi Guillaume!).

Les amis du FEPT : Clément, Simon, Robin, François, Dan, Etienne, Hugo. Notre amitié a débuté sur les terrains de football et s'est ensuite poursuivie tout au long de ces 6 années. J'ai été fier de porter les couleurs de l'équipe de pharmacie à vos côtés ! Merci à vous pour ces beaux moments et bonne continuation à chacun d'entre vous.

A ma chérie,

Comme on dit le meilleur ou en l'occurrence la meilleure pour la fin. Voilà maintenant 5 ans que nous sommes engagés dans le même bateau et saches que tu as été un soutien sans failles. Merci pour tout le bonheur que tu m'as apporté jusqu'à présent. Tu as été d'une grande aide et une source de motivation pour que je finisse ce mémoire. Dans quelques jours tu en auras terminé toi aussi avec ces études et je suis très fier de toi. Une nouvelle aventure va commencer pour nous 2 et je suis impatient de découvrir cela à tes côtés. Merci tout simplement de faire partie de ma vie.

Merci aussi à ta famille qui m'a accueilli à bras ouverts. J'apprécie tous ces moments passés à leurs côtés grâce à leur gentillesse.

Table des matières

Liste des abréviations.....	10
Liste des figures.....	12
Introduction.....	14
A. L'arthrose.....	15
A.I Définition.....	15
A.II Épidémiologie.....	15
A.III Description d'une articulation saine	16
A.III.1 Le cartilage.....	17
A.III.1.a) La matrice extracellulaire.....	18
A.III.1.b) Les chondrocytes.....	19
A.III.2 L'os sous-chondral.....	20
A.III.3 Le liquide synovial.....	21
A.III.4 La membrane synoviale.....	21
A.IV Physiopathologie de l'arthrose.....	22
A.V Étiologie de l'arthrose.....	25
A.VI Facteurs de risque.....	26
A.VII Diagnostic de l'arthrose.....	27
A.VII.1 Clinique.....	27
A.VII.1.a) La douleur.....	27
A.VII.1.b) La raideur.....	28
A.VII.1.c) La perte de mobilité.....	28
A.VII.1.d) Les craquements.....	28
A.VII.1.e) Les tuméfactions et épanchements.....	28
A.VII.1.f) Modification de la statique corporelle.....	29
A.VII.2 L'imagerie.....	29
A.VII.2.a) La radiographie standard.....	29
A.VII.2.b) L'IRM.....	31
A.VII.2.c) L'arthroscanner.....	32
A.VII.2.d) L'échographie.....	33
A.VII.3 Les marqueurs biologiques.....	34
A.VIII Traitements actuels de l'arthrose.....	36
A.VIII.1 Les médicaments per os.....	37
A.VIII.1.a) Les antalgiques.....	37
A.VIII.1.b) Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou AINS.....	38
A.VIII.1.c) Les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente ou AASAL.....	38
A.VIII.2 Les traitements locaux.....	40
A.VIII.2.a) Les topiques AINS.....	40
A.VIII.2.b) Ponction du liquide articulaire.....	41
A.VIII.2.c) Infiltration de corticoïdes.....	41
A.VIII.2.d) La viscosupplémentation.....	43
A.VIII.2.e) Le lavage articulaire du genou.....	44
A.VIII.3 La kinésithérapie	45
A.VIII.4 Les orthèses.....	46
A.VIII.4.a) Orthèses et arthrose du genou.....	47
A.VIII.4.b) Orthèses et arthrose de la main.....	48
A.VIII.5 Les prothèses.....	49
A.VIII.5.a) Prothèse de hanche.....	50
A.VIII.5.b) Prothèse du genou.....	51

A.VIII.6 Autres approches thérapeutiques.....	53
B. Les cellules souches.....	55
B.I Introduction	55
B.II Historique.....	56
B.III Classification des cellules souches.....	57
B.III.1 Les cellules souches embryonnaires (CSE).....	57
B.III.2 Les cellules souches fœtales.....	59
B.III.2.a) Les cellules du sang de cordon.....	59
B.III.2.b) Les cellules de la paroi du cordon ombilical.....	60
B.III.3 Les cellules souches adultes.....	61
B.III.3.a) Les cellules souches hématopoïétiques.....	61
B.III.3.b) Les cellules souches mésenchymateuses.....	62
B.III.3.c) Autres types de cellules souches adultes.....	63
B.III.4 Les cellules souches pluripotentes induites ou IPS.....	65
B.IV Les niches des cellules souches.....	66
B.V Bioéthique et réglementation encadrant l'utilisation des cellules souches.....	68
B.V.1 La bioéthique en France.....	68
B.V.2 Quel statut pour les thérapies cellulaires ?.....	70
B.V.2.a) Les MTI.....	71
B.V.2.b) Les MTI-PP.....	71
B.V.2.c) Les préparations.....	72
B.V.3 La problématique des brevets.....	72
B.V.4 Législation sur les cellules souches à l'étranger.....	73
B.V.4.a) Politique de recherche permissive.....	74
B.V.4.b) Politique de recherche flexible.....	74
B.V.4.c) Politique de recherche restrictive.....	75
B.VI Développement d'une thérapie par cellules souches.....	76
B.VI.1 Évaluation préclinique.....	76
B.VI.2 Évaluation clinique.....	77
B.VI.3 Financement des essais cliniques.....	78
B.VI.4 Accès au traitement pour les patients.....	79
B.VII Utilisations possibles des cellules souches.....	80
B.VII.1 Modélisation des maladies.....	80
B.VII.2 Criblage pharmacologique et tests toxicologiques.....	83
B.VII.3 Thérapie cellulaire ou médecine régénérative basée sur les cellules souches.....	83
B.VII.3.a) Thérapies cellulaires existantes.....	84
B.VII.3.b) Les essais cliniques en cours.....	87
C. Arthrose et cellules souches	92
C.I Procédures conventionnelles de réparation du cartilage.....	92
C.I.1 Technique des micro-fractures.....	92
C.I.2 Greffe autologue ostéochondrale et mosaïcplasty.....	95
C.I.3 Transplantation de chondrocytes autologues.....	97
C.II Cellules souches et arthrose.....	101
C.II.1 Quelles cellules souches ?.....	101
C.II.2 Les sources de CSM utilisables.....	103
C.II.3 Propriétés des CSM pour traiter l'arthrose.....	105
C.III L'ingénierie tissulaire : outil indispensable pour traiter l'arthrose ?.....	109
C.IV Thérapies cellulaires et/ou ingénierie tissulaire à l'essai dans l'arthrose.....	111
C.IV.1 Études expérimentales chez l'animal.....	112
C.IV.2 Études chez l'homme.....	114

C.IV.2.a) Technique avec mise en culture.....	115
C.IV.2.b) Technique en une seule étape	117
C.V Discussion.....	121
Conclusion générale.....	124
Bibliographie.....	125

Liste des abréviations

A

AASAL : anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente

AINS : anti inflammatoire non stéroïdien

AMM : autorisation de mise sur le marché

AVC : accident vasculaire cérébral

C

CAT : committee for advanced therapie

CDK : cyclin-dependant kinase

CJUE : cour de justice de l'union européenne

CSE : cellules souches embryonnaires

CSH : cellues souches hématopoïétiques

CSM : celllules souches mésenchymateuses

D

DMLA : dégénérescence maculaire liée à l'âge

E

EULAR : european league againt rheumatism

F

FDA : food and drug administration

G

GAG : glycosaminoglycanes

H

HAS : haute autorité de santé

HLA : human leucocyte antigens

I

IGF1 : insulin Growth Factor 1

IPP : inhibiteur de la pompe à proton

IPS : cellules pluripotentes induites

ISCT : the international society for cellular therapy position statement

M

MEC : matrice extra cellulaire

MTI : médicaments de thérapie innovante

MTIPP : médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement

MMPs : métalloprotéases matricielles

N

NO : monoxyde d'azote

O

OARSI : osteoarthritis research society international

OEB : office européen des brevets

OMS : organisation mondiale de la santé

P

PTG : prothèse totale du genou

PTH : prothèse totale de hanche

PUC : prothèse uni-compartmentaire

T

TGF β : transforming Growth Factor β

TIMP : tissue inhibitory of MMP

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'une articulation mobile et ses différentes structures.	p.17
Figure 2 : Composition de la matrice extra-cellulaire.	p.19
Figure 3 : Signes radiologiques de la gonarthrose.	p.30
Figure 4 : IRM coupe frontale du genou.	p.31
Figure 5 : Arthroscanner du genou. Reconstruction coronale.	p.32
Figure 6 : Les différentes orthèses du genou.	p.48
Figure 7 : Les différentes orthèses poignet/pouce.	p.49
Figure 8 : Les différents composants d'une prothèse de hanche.	p.51
Figure 9 : Prothèse de hanche sur une radiographie.	p.51
Figure 10 : Prothèse uni-compartimentaire fémoro-tibial.	p.52
Figure 11 : Radiographie d'une PTG à charnière.	p.52
Figure 12 : Radiographie d'une PTG à glissement.	p.52
Figure 13 : Blastocyste.	p.58
Figure 14 : Modélisation d'une maladie à l'aide de cellules IPS.	p.81
Figure 15 : Forages multiples au niveau d'un condyle fémoral.	p.93
Figure 16 : Différentes étapes de la technique des micro-fractures.	p.93
Figure 17 : Micro-forages.	p.94
Figure 18 : Injection à la seringue de la matrice de collagène I et III.	p.94
Figure 19 : Explication schématique de la mosaïcplasty.	p.95
Figure 20 : Carottes ostéochondrales prélevées sur zone saine de cartilage.	p.96
Figure 21 : Zone greffée avec carottes ostéochondrales.	p.96
Figure 22 : Les étapes de la transplantation autologue de chondrocyte.	p.98

Figure 23 : Utilisation d'une matrice à la place du lambeau de périoste.	p.98
Figure 24 : Analyses macroscopiques des condyles fémoraux.	p.107
Figure 25 : Analyses histologiques des condyles fémoraux.	p.108
Figure 26 : Principe de l'ingénierie tissulaire.	p.110
Figure 27: Analyse macroscopique des différents groupes de genoux.	p.113
Figure 28 : Micro-forages du condyle fémoral.	p.118
Figure 29 : Injection de la matrice contenant les CSM.	p.118
Figure 30 : visualisation par arthroscopie de la régénération du cartilage par technique des micro-forages et greffe de CSM chez un patient de 48 ans présentant une arthrose de stade IV.	p.119
Figure 31 : Arthroscanner du genou avant et après opération par micro-forages et greffe de cellules souches	p.120

Introduction

L'arthrose est la plus fréquente des maladies articulaires et la principale source de handicap locomoteur. Longtemps considérée comme une usure dégénérative inévitable car liée au vieillissement des articulations, elle est aujourd'hui de plus en plus décrite comme un processus pathologique articulaire dynamique, fait de destruction et de réparation, avec des lésions qui peuvent apparaître à tout âge. L'arthrose est une maladie qui se définit au premier plan par une dégénérescence anormale du cartilage mais l'ensemble de l'articulation est en réalité concernée. Tout type d'articulation peut être touché par l'arthrose, occasionnant divers symptômes tels que douleur, raideur, craquement et perte de fonctionnalité. Aussi, les traitements actuels visent à soulager ces symptômes et à freiner au mieux la perte de cartilage. La régénération de ce dernier est impossible aujourd'hui mais l'avènement des cellules souches pourrait faire évoluer ce constat.

En effet, ces dernières offrent de nombreuses perspectives de thérapies innovantes régénératrices et sont un domaine pour lequel la recherche scientifique est extrêmement active. Ces cellules ont des formidables capacités de renouvellement et de différenciation. Elles peuvent être classées en fonction de leur potentiel ou bien de leur origine. Ainsi, divers types de cellules souches sont disponibles : les cellules souches embryonnaires, les cellules souches mésenchymateuse ou encore les cellules souches pluripotentes induites.

A travers l'analyse de la littérature scientifique, le but de cette thèse est de déterminer si les cellules souches permettent une régénération efficace et complète du cartilage. Si tel est le cas, une nouvelle prise en charge thérapeutique du patient arthrosique serait alors disponible et des millions de personnes pourraient en bénéficier.

A. L'arthrose

A.I Définition

Nous pouvons retenir la définition proposée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) :
« *L'arthrose est la résultante de phénomènes mécaniques et biologiques qui déstabilisent l'équilibre entre la synthèse et la dégradation du cartilage, de l'os sous-chondral et de l'ensemble des tissus conjonctifs de l'articulation* ».

Il faut donc bien comprendre que l'arthrose ne peut se résumer à la seule atteinte du cartilage car au cours de son évolution, toutes les structures de l'articulation seront concernées.

De plus, il est important de faire la distinction entre l'arthrose et d'autres pathologies touchant les articulations. On distinguera ainsi parmi toutes les affections ostéo-articulaires :

- les affections d'origine dégénérative dont fait partie l'arthrose
- les affections d'origine inflammatoire dans lesquelles les plus connues sont la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante ou encore le rhumatisme psoriasique (1).

A.II Épidémiologie

Peu de travaux ont été entrepris pour établir l'épidémiologie de l'arthrose en France. D'après les chiffres de la première grande enquête nationale sur l'arthrose menée par l'AFLAR (Association Française de Lutte Anti-Rhumatismale) au début des années 2000, on estime que 9 à 10 millions de personnes sont touchées par l'arthrose, ce qui représente 17% de la population. Entre 1993 et 2003, l'augmentation des patients atteints a été de 54%. Dans cette même période, le nombre d'arrêt de travail imputable à cette pathologie est de 5 millions (2). Ainsi, à titre d'exemple, pour l'année 2002, l'arthrose aurait engendré un coût de 1,6 milliards d'euros. Les experts considèrent qu'aujourd'hui ce montant pourrait atteindre 3 milliards d'euros.

L'arthrose représente la seconde cause d'invalidité après les maladies cardio-vasculaires.

Même si l'arthrose ne se résume pas à un vieillissement de l'articulation, elle est présente le plus fréquemment chez les personnes de plus de 65 ans. Ainsi, 3% de la population sera concernée avant 45 ans, 65% après 65 ans et enfin 80% au-delà de 80 ans.

La fréquence varie en fonction de l'âge mais également en fonction de la localisation. L'arthrose de la colonne vertébrale est la plus fréquente dans la tranche d'âge 65-75 ans avec 70 à 75% des personnes. Néanmoins ce type d'arthrose reste le plus souvent silencieux et n'occasionne pas de douleurs. L'arthrose des doigts arrive en seconde position avec 60% alors que l'arthrose du genou et de la hanche concernent respectivement 30% et 10% des personnes de cette même tranche d'âge (3). D'autres articulations sont concernées (épaule, coude, cheville, poignet) mais ces dernières sont plus rarement atteintes.

A noter qu'une étude de cohorte comprenant 878 patients atteints d'arthrose symptomatique de hanche et/ou de genou est actuellement en cours. Cette étude est un programme de la société française de rhumatologie. Elle a été lancée en 2007 et doit durer 10 ans. Ce programme multi-régional et inédit en France consiste en un suivi au fil du temps de personnes souffrant d'arthrose des membres inférieurs. Les premiers résultats ont permis d'établir avec plus de précision la prévalence de l'arthrose en France. Ainsi, la fréquence de l'arthrose symptomatique de la hanche est de 1,9% pour les hommes et de 2,5% pour les femmes. Celle du genou est de 4,7% pour les hommes contre 6,6% pour les femmes (4). On note également que passé 50 ans, l'arthrose est plus fréquente chez la femme.

A.III Description d'une articulation saine

L'articulation est l'endroit où deux extrémités osseuses vont se rencontrer. C'est une jonction entre deux os qui vont donc être reliés et éventuellement mis en mouvement l'un par rapport à l'autre, on parlera alors d'articulation mobile.

De nombreuses structures seront nécessaires à cette mobilité et entrent donc dans la composition d'une articulation. Nous détaillerons uniquement les structures ayant une responsabilité dans l'arthrose, ces dernières peuvent être identifiées sur la figure ci-après.

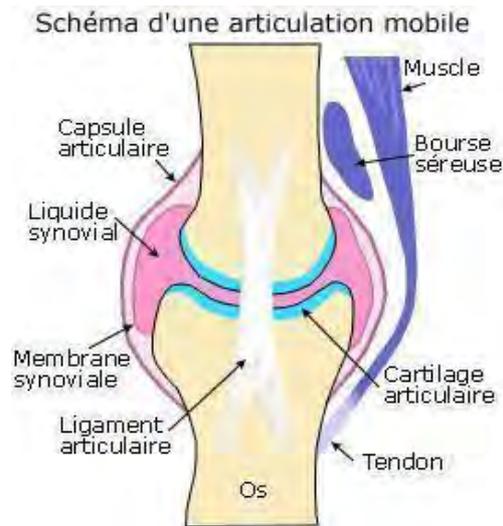


Figure 1 : schéma d'une articulation mobile et ses différentes structures

(disponible sur : patricia-pacaut-pharmasurf.net)

A.III.1 Le cartilage

Le tissu cartilagineux fait partie des tissus conjonctifs, c'est à dire un tissu qui a pour principale fonction de servir de soutien et de protéger les autres tissus corporels. Ce cartilage constitue donc le revêtement des extrémités osseuses. Sur le plan histologique, le cartilage articulaire fait partie du cartilage hyalin, par opposition au cartilage élastique ou cartilage fibreux retrouvés dans d'autres parties du corps (conduit auditif externe ou larynx pour le cartilage élastique, disque intervertébral ou symphyse pubienne pour le cartilage fibreux). C'est l'aspect translucide de ce type de cartilage qui lui a donné le nom de « hyalin ». Il a un rôle essentiel qui est d'assurer le glissement des extrémités osseuses les unes par rapport aux autres. Cela est possible grâce à un coefficient de friction extrêmement faible (inférieur à celui d'un patin sur la glace!). Il doit aussi résister à des forces de compression et de tension très importantes en particulier au niveau des membres inférieurs.

On comprend donc qu'en fonction de sa localisation, l'épaisseur du cartilage variera d'une articulation à une autre. C'est par exemple au niveau de la rotule du genou que le cartilage est le plus épais (plus de 5 millimètres). Le cartilage de l'homme est généralement plus épais que celui de la femme (5).

Si on l'observe à l'œil nu, le cartilage articulaire apparaît blanc nacré, lisse et ferme. Chez les personnes âgées, il prend une teinte jaunâtre. De plus, il apparaît que le cartilage d'une

personne âgée ne souffrant pas d'arthrose est aussi épais que celui d'un adulte.

Microscopiquement, le cartilage est un tissu dépourvu de vaisseaux et nerfs, d'où sa faible capacité de cicatrisation. Néanmoins il s'agit bien d'un tissu vivant, en perpétuel renouvellement puisqu'on considère qu'il se renouvelle tous les 3 mois environ (5).

On distingue deux éléments au sein du cartilage : la matrice extracellulaire (MEC) et des cellules appelées chondrocytes.

A.III.1.a) La matrice extracellulaire

La MEC est composée majoritairement d'eau (65-80% du poids humide du tissu), de collagènes (10-30% du poids humide) et de protéoglycanes (5-10% du poids humide) (6).

On y trouve un réseau de fibres de collagène fibrillaire de type II rigide formant une armature solide. Le collagène est une protéine synthétisée par un type cellulaire bien précis. Ainsi le collagène de type II est synthétisé par les chondrocytes du cartilage. Il existe une douzaine de collagènes caractérisés par un chiffre romain et un même groupe de cellules produit

préférentiellement un ou plusieurs types de collagènes.

Nous avons vu que le cartilage doit résister à des forces de tension extrêmes. Ceci est rendu possible grâce à une disposition bien précise du réseau de fibres de collagène : dans la couche la plus superficielle elles sont parallèles les unes aux autres permettant de résister aux forces de tension. A contrario, dans les couches les plus profondes du cartilage (là où les forces de tension sont moindres), leur disposition est perpendiculaire à la surface du cartilage et elles sont regroupées autour des chondrocytes.

On trouve à l'intérieur de ce réseau de collagène des molécules « emprisonnées », formées de chaînes de sucres (les glycosaminoglycanes (GAG)). Ces GAG se lient sur une protéine centrale nommée l'agrécane. Les agrécannes se lient à l'acide hyaluronique pour former des macro-agrégats appelés protéoglycanes (7) (cf figure 2).

Ces protéoglycanes ont un fort pouvoir hydrophile ce qui leur permet de retenir les molécules d'eau et de mettre sous tension les fibres de collagène.

Ces molécules d'eau sont en mouvement, ce qui permet de résister aux forces de compression que subit l'articulation. On peut même comparer ces protéoglycanes à

d'énormes éponges (6).

Le maintien de l'ensemble de cette structure est assuré par de nombreuses protéines dites adhésives (COMP, fibromoduline, fibronectine) qui ont pour fonction de lier les macromolécules entre elles et de se lier aux protéines du chondrocyte. On obtient alors une structure très cohésive permettant au cartilage d'assurer ses fonctions mécaniques.

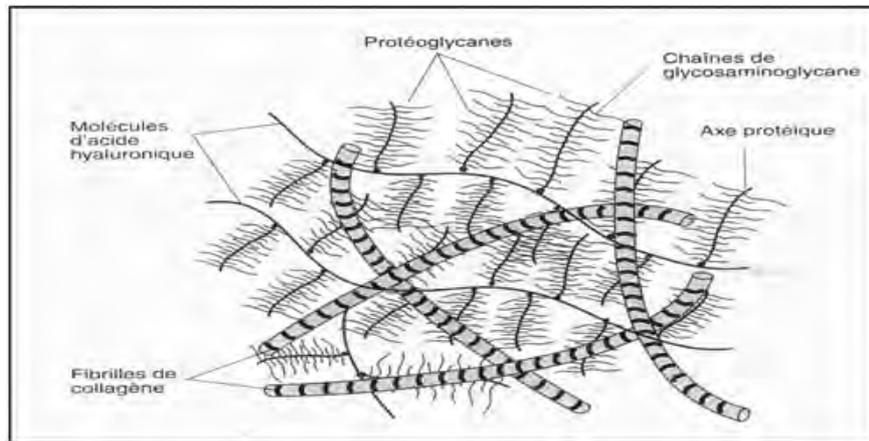


Figure 2 : Composition de la matrice extra-cellulaire
(disponible sur : coordination-nationale-infirmiere.org)

A.III.1.b) Les chondrocytes

Le chondrocyte est le seul type cellulaire présent au niveau du cartilage. Il est « emprisonné » dans la MEC. Sa proportion est faible puisqu'il n'occupe que 10% du volume total. Ce pourcentage varie en fonction de l'individu, et pour un même individu, du type d'articulation concerné.

Le chondrocyte est une cellule qui, la plupart du temps, est au repos. Il ne migre pas et ne se multiplie que très peu dans un cartilage articulaire normal. Il a un fonctionnement anaérobie car pour rappel le cartilage n'est pas vascularisé (pourcentage d'O₂ inférieur à 7%). Il va se nourrir par capillarité à partir du liquide synovial et de l'os sous-chondral.

Le chondrocyte est riche en lysosomes, mitochondries et en vacuoles de glycogène. Son principal substrat est le glucose. Ce glucose consommé est converti en glucosamine pour réaliser la synthèse des protéoglycanes puisque le chondrocyte possède l'ensemble du répertoire génétique pour synthétiser à la fois les composants de la matrice, mais également les enzymes (protéases matricielles) détruisant cette même matrice. C'est grâce aux

nombreux récepteurs exprimés à sa surface que le chondrocyte interprétera les signaux de la MEC et activera sa machinerie interne. Ainsi, tout changement (physique ou chimique) désorganisant l'environnement cellulaire de la matrice va agir comme un signal pour le chondrocyte qui réagira en s'activant.

Dans des cas pathologiques, il produira par exemple des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 ou le TNF-alpha provoquant la destruction du cartilage par activation des protéases (6).

On peut alors affirmer que le métabolisme du chondrocyte dépend de l'intensité et du rythme des pressions cycliques auxquelles il est soumis et qui déterminent son comportement métabolique (7).

Ainsi dans un cartilage normal adulte, tout est parfaitement régulé : la survie des chondrocytes, l'équilibre entre la synthèse et la destruction de la matrice, l'architecture de la matrice, le nombre et la fonction des récepteurs membranaires.

A.III.2 L'os sous-chondral

L'os sous-chondral se situe directement sous le cartilage, il constitue l'assise du cartilage. Étant vascularisé et innervé, il va jouer un rôle nutritif pour les couches profondes du cartilage pendant la croissance. Ce rôle diminue à l'âge adulte. Son épaisseur varie entre 0,1 et 2 mm et peut même atteindre 3 mm dans les régions à fortes contraintes mécaniques. Cette différence d'épaisseur est due au fait que l'os sous-chondral joue un rôle primordial dans l'amortissement des chocs au même titre que le cartilage (50% de l'amortissement articulaire) (8).

L'os sous-chondral subit un remodelage osseux dû à l'action des ostéoclastes (détruisant l'os) et des ostéoblastes (fabricant l'os). Dans une articulation saine, ce mécanisme de destruction/fabrication est en équilibre. Lors de l'arthrose on observe une hyperactivité des ostéoblastes résultant en une fabrication de tissu osseux excessive et mal organisée. On peut ainsi observer la formation de géodes (perte de substance osseuse) et d'ostéophytes (excroissance osseuse) au niveau de l'os sous-chondral. Ces déformations entraîneraient une diminution de la capacité d'absorption des chocs pouvant conduire à une dégénérescence ultérieure du cartilage (9).

A.III.3 Le liquide synovial

Le liquide synovial ou liquide articulaire est secrété par les synoviocytes de la membrane synoviale qui tapisse la face interne de la capsule articulaire. Il est présent dans toutes les articulations mais en quantité très faible (1 à 2 ml dans le genou par exemple) (5). Ceci ne représente à peine que quelques gouttes, ce qui explique la difficulté de prélèvement et d'analyse. C'est un liquide citrin, clair et limpide, fortement visqueux.

Il contient les mêmes protéines que celles du plasma mais à des concentrations différentes. Le constituant le plus important est l'acide hyaluronique, présent à une concentration de 3g/L (ce qui représente seulement 3 mg pour le liquide total d'une articulation) (10). C'est ce constituant qui confère son pouvoir lubrifiant au liquide synovial.

Enfin, le liquide synovial a un rôle nourricier pour le cartilage via le glucose et les facteurs de croissance.

A.III.4 La membrane synoviale

La membrane synoviale tapisse la face intérieure de la capsule articulaire (enveloppe fibreuse entourant l'articulation). Ces structures sont intimement liées. Elle est composée essentiellement de fibres élastiques et de tissu adipeux. Elle a pour aspect une membrane fine, lisse, de couleur jaune pâle, et l'on peut apercevoir des petits vaisseaux. En effet, la membrane synoviale est un tissu vascularisé et innervé et s'organise en replis ou « franges ».

On distingue deux couches, même si par endroits, la démarcation n'est pas nette :

- la couche sous-intimale (subintima) qui est en contact avec la capsule articulaire ;
- la couche bordante (intima) en contact avec la cavité articulaire.

La synoviale possède plusieurs fonctions :

- elle a un rôle de trophicité vis-à-vis de l'articulation. Elle participe à ses propriétés mécaniques et à sa stabilité.
- elle exerce un rôle de barrière de filtrations et d'échanges : élaboration et résorption du liquide synovial.
- elle joue un rôle de défense contre les agressions extérieures.

Les cellules qui la composent sont appelées synoviocytes. Ces cellules sont des actrices de l'arthrose car elles sont capables de produire certaines cytokines pro-inflammatoires.

A.IV Physiopathologie de l'arthrose

Le cartilage arthrosique passe par différents stades. On observe dans un premier temps un ramollissement (stade initial), suivi d'une fissuration superficielle (stade intermédiaire) et enfin une fissuration plus profonde qui entraîne un amincissement voir une disparition totale du cartilage (stade final), l'os sous-chondral sera alors mis à nu. Dans une articulation arthrosique, toutes les lésions ne seront pas au même stade évolutif. Cependant on peut distinguer des mécanismes bien précis pour chaque stade.

. Stade initial

Suite à l'agression initiale du tissu, des facteurs de croissance chondrocytaires vont être secrétés afin de tenter de réparer le cartilage. On observe une production intense de protéoglycanes et donc une augmentation de l'hydratation aboutissant au ramollissement du cartilage.

Dans un premier temps, il y a un équilibre entre la synthèse et la dégradation de la matrice. Mais rapidement, les protéoglycanes et le collagène néo-synthétisés auront respectivement une taille moindre et des propriétés biomécaniques de moins bonne qualité. La synthèse est donc défailante pour répondre à la dégradation. L'os sous-chondral est lui aussi stimulé pour tenter de réparer le cartilage et cela se traduira par la création d'ostéophytes.

Enfin, à la surface du cartilage, les fibres de collagène ne seront plus parallèles entre elles ce qui va aboutir à une perte de résistance. Des fissures vont alors apparaître ce qui est le signe du stade intermédiaire.

. Stade intermédiaire

On observe différents phénomènes au cours de ce stade. Tout d'abord le chondrocyte présente une hyperactivité catabolique, c'est donc une dégradation autocrine de la matrice extracellulaire. A cela vient s'ajouter l'action de la membrane synoviale qui va relarguer dans

le cartilage des enzymes et des cytokines : destruction paracrine. Les enzymes concernées sont des enzymes protéolytiques (métalloprotéases et agrécanases) et glycolytiques, secrétées sous l'effet des cytokines pro-inflammatoires. Il faut noter que dans un cartilage sain, de telles enzymes sont présentes mais un système d'inhibition enzymatique permet de maintenir l'équilibre entre anabolisme et catabolisme.

Dans une articulation arthrosique, le système d'inhibition est dépassé par l'hyperactivité enzymatique.

Le second phénomène concerne les activités anaboliques du chondrocyte : certaines cytokines produites commandent l'inhibition de la synthèse des composants naturels du cartilage.

Enfin apparaissent des modifications phénotypiques et métaboliques du chondrocyte. Sous l'effet du stress mécanique et du changement de la matrice dans laquelle il « baigne », le chondrocyte se différencie en un fibrochondrocyte. Ce dernier synthétise alors des composants normalement absents dans un cartilage normal tels que : collagène de type I, versicane, fibronectine et autres protéines non collagéniques. Par ailleurs, il existe aussi une accélération du cycle de maturation cellulaire menant à la prolifération des chondrocytes puis à leur hypertrophie et enfin à leur mort par apoptose.

En résumé, le déséquilibre entre enzymes protéolytiques et glycolytiques et leurs inhibiteurs, le défaut de réponse anabolique et la mort cellulaire du chondrocyte contribuent à la dégradation inéluctable de la MEC. De plus, la matrice néo-synthétisée résiste moins bien aux pressions cycliques, ce qui auto-entretient la maladie.

. Stade final

Plus on avance dans le processus arthrosique et plus la destruction gagne les couches profondes du cartilage mettant à nu l'os sous-chondral.

De nombreux chondrocytes sont en voie d'apoptose et il persiste un tissu fibro-cartilagineux. Les débris du cartilage entraînent l'activation de la membrane synoviale ce qui pourrait contribuer à la chondrolyse avec libération de cytokines pro-inflammatoires, de dérivés radicalaires de l'oxygène et de métalloprotéases. De même, les altérations de l'os sous-chondral contribuent également à pérenniser la maladie.

Nous venons de voir les différents stades de dégradation du tissu cartilagineux. Cette dégradation étant causée par perte de l'homéostasie entre facteurs anaboliques et

cataboliques, nous pouvons faire un focus sur ces différents facteurs puisqu'ils représentent tous potentiellement des cibles thérapeutiques pour soigner l'arthrose.

. Facteurs anaboliques

Ces facteurs sont sécrétés par le chondrocyte, l'os sous-chondral et le tissu synovial. Il s'agit de l'IGF1 (insulin Growth Factor 1) et le TGF β (transforming Growth Factor β) qui vont stimuler la synthèse des protéoglycanes en vue d'une réparation cartilagineuse.

. Facteurs cataboliques

Ces facteurs cataboliques sont essentiellement synthétisés par les chondrocytes mais aussi par les synoviocytes ou les ostéoblastes de l'os sous-chondral. On retrouve parmi ces facteurs des protéases, des cytokines, le monoxyde d'azote et des prostaglandines.

Les protéases peuvent être divisées en deux groupes : les métalloprotéases matricielles (MMPs) d'un côté et les agrécanases de l'autre. Les métalloprotéases induisent la dégradation du collagène. Les agrécanases comme leur nom l'indique, dégradent les agrécanes. Les inhibiteurs naturels des protéases sont les TIMP pour « tissue inhibitory of MMP ».

Parmi les cytokines pro-inflammatoires, il a été démontré sur modèle animal que l'IL- β est un pivot de la destruction articulaire et qu'il est le principal médiateur de l'activation enzymatique (11). Il a de multiples effets : induction de sa propre synthèse, il empêche la synthèse des TIMPS, stimule le système activateur plasminogène/plasmine ainsi que la synthèse et le relargage des prostaglandines.

Dans un milieu riche en IL-1, la synthèse du collagène de type II est diminuée au profit du collagène de type I et III qui sont de moins bonne qualité.

Le monoxyde d'Azote (NO) diminue le processus anabolique et augmente le processus catabolique du chondrocyte. Il inhibe la synthèse des agrécanes et du collagène de type II et stimule l'activité des MMP. On pense qu'il jouerait aussi un rôle dans l'apoptose du chondrocyte.

Enfin les prostaglandines sont des composants synthétisés à partir d'acide arachidonique sous l'action des enzymes cyclo-oxygénases. Elles stimulent l'inflammation articulaire par production de MMP.

Les médiateurs de l'inflammation n'ont pas tous été découverts ni leurs rôles bien établis donc la recherche continue également dans ce domaine.

A.V Étiologie de l'arthrose

Dans la plupart des cas, l'origine de l'arthrose est multifactorielle. On considère d'ailleurs l'arthrose davantage comme un syndrome qu'une maladie en tant que telle.

On peut néanmoins tomber d'accord sur le fait que les contraintes mécaniques semblent être la principale cause d'arthrose. Partant de ce principe, on peut distinguer deux types d'arthrose :

- l'arthrose liée à une surcharge mécanique sur une articulation normale
- l'arthrose liée à une charge mécanique normale sur une articulation anormale

Dans le premier cas, on parle d'arthrose secondaire. C'est le cas des dysplasies, des ruptures du ligament croisé antérieur, des surcharges pondérales ou fonctionnelles par hyper-utilisation due au sport ou à la profession. L'arthrose peut être expliquée dans ces cas là par l'application de forces mécaniques trop prolongées ou trop importantes sur les surfaces articulaires.

On a tenté de reproduire ces cas de figure *in vitro*. Des contraintes de cisaillement ont été appliquées sur une culture chondrocytaire et l'on a observé une augmentation de médiateurs pro-inflammatoires, du NO, des prostaglandines et une diminution des macromolécules de la matrice (agrécane et collagène de type II) (11).

Dans le second type d'arthrose, dite arthrose primaire, l'étiologie n'est pas connue. Diverses causes peuvent ainsi amener à une fragilisation de l'articulation. Ces causes peuvent être soit intra-cartilagineuses, sous-chondrales (ostéonécrose épiphysaire, maladie de Paget) ou à point de départ synovial. De plus, plusieurs études ont largement étudié différents gènes dont l'expression est augmentée ou diminuée au cours de l'arthrose. Néanmoins pour le moment aucune mutation génique ne semble être significative.

Même si l'étiologie de l'arthrose ne peut être clairement établie, on peut identifier plusieurs facteurs de risques.

A.VI Facteurs de risque

Les facteurs de risque de l'arthrose sont nombreux mais ne sont pas tous parfaitement définis. Il est important de les connaître car on peut agir efficacement sur certains d'entre

eux.

- L'âge : on a vu que l'augmentation de la fréquence de l'arthrose est liée avec l'avancée de l'âge. Avant 50 ans, elle est comparable chez l'homme et chez la femme. L'augmentation est plus rapide chez la femme après la ménopause.
- La ménopause : chez les femmes, il a été démontré que l'arthrose était plus fréquente après la ménopause. On pense que les hormones sexuelles pourraient être en cause mais pour le moment aucun traitement hormonal substitutif n'a fait preuve d'effet protecteur dans l'arthrose.
- L'obésité : rôle indéniable dans l'arthrose du genou. On comprend facilement les contraintes mécaniques qu'un surpoids engendre sur l'articulation. Par contre, on n'explique pas la relation entre obésité et arthrose digitale. L'obésité est un facteur prédisposant de l'apparition d'arthrose mais aussi de son aggravation.
- Traumatismes articulaires et micro-traumatismes répétés : les fractures articulaires, entorses du ligament croisé du genou ou bien ablation totale d'un ménisque sont souvent à l'origine d'une arthrose avec des signes apparaissant une dizaine d'années plus tard. De même les micro-traumatismes répétés, dus à une sollicitation trop importante, entraînent des lésions microscopiques qui peuvent entraîner l'apparition d'une arthrose. On pense notamment aux ouvriers utilisateurs du marteau piqueur, couturières, pianistes ou carreleurs.
- Les troubles de l'architecture des membres : certaines anomalies du squelette ou des membres peuvent être le départ d'une arthrose. On peut citer le défaut d'alignement en varus ou valgus dans la gonarthrose (12) ou bien la luxation congénitale de hanche dans la coxarthrose. Ces déformations entraînent un excès de frottement sur un compartiment articulaire bien précis (par exemple le compartiment fémoro-tibial interne en cas de varus).

A.VII Diagnostic de l'arthrose

Le diagnostic de l'arthrose se fait le plus souvent par la description des douleurs ressenties par le patient. On utilise ensuite des techniques d'imagerie ou de biologie afin d'affirmer ou

bien éliminer d'autres causes pouvant être à l'origine de symptômes proches de ceux de l'arthrose.

A.VII.1 Clinique

Les manifestations cliniques sont nombreuses et variées. Elles sont également d'intensités différentes selon le stade d'arthrose et sa localisation.

A.VII.1.a) La douleur

Nous avons vu que le cartilage n'était pas innervé, sa dégradation ne devrait donc pas occasionner de douleur. Pourtant cette dernière est bien présente, c'est le principal motif de consultation. En réalité, la douleur pourrait venir de la souffrance des tissus de voisinage du cartilage (membrane synoviale, os sous-chondral) qui, eux, sont innervés. Autre explication possible, la néo-neuro-génèse, c'est à dire l'apparition de terminaisons nerveuses dans le cartilage malade expliquerait la douleur ressentie.

La douleur est accentuée lorsque l'articulation est sollicitée alors qu'elle est en charge. La douleur est en principe absente lorsque l'articulation est au repos. Cette spécificité permet d'ailleurs de faire la distinction entre l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde où les douleurs sont présentes même au repos.

Ainsi pour une personne active, les douleurs vont se renforcer au fil de la journée, parallèlement à l'accumulation des sollicitations supportées par l'articulation. Ces douleurs restent localisées au niveau de l'articulation concernée. On peut trouver cependant des exceptions comme dans l'arthrose de la hanche puisque ici les douleurs peuvent irradier jusque dans la cuisse, la fesse ou même le genou.

A.VII.1.b) La raideur

Les articulations touchées par l'arthrose sont également plus raides. Suite à une mise au repos, le patient qui voudra solliciter son genou par exemple aura du mal à le faire. Ces

difficultés correspondent à la phase de dérouillage et disparaissent avec des mouvements.

A.VII.1.c) La perte de mobilité

Cette perte de mobilité est la conséquence d'une articulation raide et douloureuse. Ainsi, en fonction de l'articulation concernée, certains mouvements seront difficiles voire impossibles. Par exemple la coxarthrose et la gonarthrose rendront la marche pénible, des difficultés à lacer ses chaussures ou bien à enfiler ses chaussettes. Une arthrose de l'épaule compliquera l'enfilage de manteau. Plus les articulations arthrosiques seront ménagées et plus ces contraintes augmenteront car il y aura une perte de la masse musculaire, ce qui a des conséquences sur la stabilité des articulations.

A.VII.1.d) Les craquements

Lorsque le cartilage n'exerce plus sa fonction de lubrifiant, les extrémités osseuses glissent moins bien les unes sur les autres. Cela se traduit par des craquements ou bruits de frottement. Attention cependant, ces craquements ne sont pas révélateurs de la gravité de l'affection.

A.VII.1.e) Les tuméfactions et épanchements

Ces signes peuvent être à la fois dus à l'avancée de l'arthrose ou bien à de l'arthrite. C'est pour cela que lorsque une articulation est douloureuse, chaude et enflée, le praticien doit rechercher s'il ne s'agit pas d'une arthrite microcristalline ou infectieuse.

L'arthrose peut provoquer des inflammations secondaires notamment au niveau des doigts et des genoux.

A.VII.1.f) Modification de la statique corporelle

A un stade très avancé de l'arthrose, lorsque l'usure du cartilage est maximale, il peut y avoir

une modification de la position des extrémités osseuses. On peut donc observer des déformations avec des jambes en X ou en arceaux lors d'arthrose du genou. Au niveau des mains, cela se traduit par une déformation des extrémités phalangiennes et l'apparition de nodules sur le dos du doigt appelés nodules d'Heberden.

Notons que le praticien peut utiliser des scores pour évaluer l'arthrose chez son patient. On peut citer notamment le score WOMAC (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis index) dans l'évaluation d'une arthrose des membres inférieurs. Ce score évalue le domaine de la douleur, de la raideur et de la fonctionnalité de l'articulation (13).

A.VII.2 L'imagerie

L'imagerie est un complément indispensable de l'examen clinique. C'est un élément clé pour le diagnostic et la surveillance évolutive. La radiographie standard occupe une place majeure mais ces dernières années de nouvelles techniques (IRM, échographie, arthroscanner) sont utilisées pour une approche diagnostique et thérapeutique de la maladie.

A.VII.2.a) La radiographie standard

Il faut toujours respecter les deux principes de la radiographie standard ostéo-articulaire. Le premier

consiste à radiographier les deux articulations paires et symétriques. Cela à pour but de comparer l'articulation arthrosique avec l'autre articulation à priori saine.

Le deuxième principe est d'effectuer la radiographie dans deux plans de l'espace. Ainsi, la lecture et l'interprétation des clichés en deux dimensions se rapprochent plus de la réalité qui existe en trois dimensions. Les clichés de face et de profil remplissent parfaitement ces conditions.

Lors d'une radiographie standard on recherche des signes bien précis :

- pincement localisé de l'interligne
- ostéophytose

- condensation ou ostéoclérose
- géodes sous-chondrales

Ces signes sont décrits sur la figure suivante.



Figure 3 : Signes radiologiques de la gonarthrose (disponible sur : pharm-upp.fr)

Si les deux premiers signes sont visibles à la radiographie, cela suffit pour établir le diagnostic. Il est cependant important de noter qu'il n'existe pas de relation entre l'importance des signes radiographiques et la sévérité des douleurs. Il arrive donc parfois qu'une personne présentant tous les signes de l'arthrose sur la radiographie avec un important pincement articulaire, une forte ostéoclérose sous-chondrale ou de nombreux ostéophytes ne ressente qu'une faible douleur et inversement.

Même si la plupart du temps les radiographies standard suffisent à poser le diagnostic d'arthrose, cette technique d'imagerie a ses limites puisque le cartilage n'est pas visible directement, il faut le « deviner ». Il en est de même pour les autres structures articulaires et péri-articulaires (membrane synoviale, liquide synovial, moelle osseuse des épiphyses..). Des lésions au niveau du cartilage resteront donc invisibles sur la radiographie, d'où l'intérêt d'autres techniques d'imagerie qui apportent une vision sur ces éléments (14).

A.VII.2.b) L'IRM

L'imagerie par résonance magnétique permet de bien différencier les tissus mous les uns des autres contrairement à la radiographie. Elle peut donc mettre en évidence des phénomènes

évolutifs et actifs au niveau de l'os et pas seulement une accumulation de dégâts observés sur une radiographie (15).

Au final, des anomalies comme la perte de cartilage, œdème osseux, épanchement articulaire ou une inflammation de la synoviale ne seront visible que par IRM. De plus c'est une technique non irradiante.

Les différentes structures de l'articulation prennent des teintes différentes : du noir vers le blanc en passant par le gris (cf figure 4).



*Figure 4 : IRM coupe frontale du genou. Le cartilage apparaît en gris clair.
Lésion du cartilage au niveau de la flèche.*

Il est possible d'utiliser lors d'une IRM un produit de contraste. C'est ainsi que le Gadolinium est injecté par voie veineuse pour aller se fixer préférentiellement dans les zones hyper-vascularisées, inflammatoires et œdémateuses. Ces zones apparaîtront alors clairement sur le cliché.

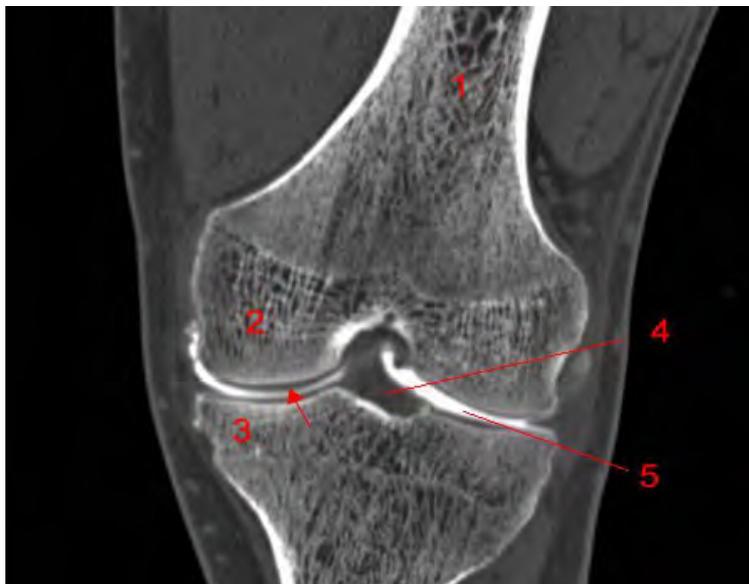
Enfin on parvient de mieux en mieux grâce à l'IRM à estimer le volume du cartilage. Ceci est très important car on peut suivre l'évolution de l'épaisseur du cartilage dans le temps en effectuant des IRM à intervalles réguliers.

En conclusion on peut dire que l'IRM est une technologie d'avenir dans le domaine de

l'arthrose car elle permet de visualiser toutes les structures concernées par cette pathologie et donc d'établir un diagnostic plus précis. Néanmoins le coût de cet examen reste important donc il n'interviendra qu'en seconde intention, lorsque la radiographie n'aura pas apporté les preuves suffisantes pour le diagnostic.

A.VII.2.c) L'arthroscanner

Cette technique consiste à injecter au patient un produit de contraste iodé directement dans l'articulation concernée. On effectue ensuite des clichés radiographiques pour étudier le contenu de l'articulation. Il s'agit donc d'une technique invasive et irradiante.



*Figure 5 : Arthroscanner du genou. Reconstruction coronale.
1 :Fémur 2 : Condyle fémoral 3 : Plateau tibial 4 : Ligament croisé
antérieur 5 : Produit de contraste Flèche : Cartilage artériel.
(disponible sur : www.info-radiologie.ch)*

L'arthroscanner permet d'étudier parfaitement la surface et l'épaisseur des cartilages, la cavité articulaire et la membrane synoviale. Dans l'arthrose c'est un outil utile pour visualiser de façon très efficace les moindres variations de surface et de hauteur des cartilages tels qu'un amincissement, fissures ou lésions pouvant aller jusqu'à l'os sous-chondral. Les ostéophytes et géodes apparaissent également.

Invasive et irradiante cette technique présente deux autres inconvénients. Tout d'abord les modifications de la moelle osseuse située dans l'os sous-chondral ne sont pas mises en évidence. Ensuite lors de « chondropathies fermées », c'est à dire un cartilage sans lésions,

seulement gonflé et mou, les anomalies situées dans le cartilage n'apparaîtront pas.

A.VII.2.d) L'échographie

La place de l'échographie est encore à déterminer dans le diagnostic de l'arthrose. Cependant cette technique permet de visualiser directement le cartilage articulaire ainsi que le processus inflammatoire articulaire ou périarticulaire présent lors des poussées arthrosiques. Elle permet tout comme l'IRM de déceler les lésions précoces du cartilage.

Le praticien effectue un balayage sur toute la surface articulaire avec la sonde et cela dans au moins deux plans perpendiculaires. Le principe de la technique repose sur l'échogénicité (intensité de la réflexion des ultra-sons) des différents tissus. Par exemple les extrémités osseuses sont hyperéchogènes alors que la substance cartilagineuse est anéchogène (elle laisse passer entièrement les ultra-sons). Ainsi l'aspect échographique d'une articulation normale est caractérisé par les bords réguliers et hyperéchogènes des corticales des os qui forment la cavité articulaire. Dans la cavité articulaire, on peut reconnaître le cartilage comme une structure anéchogène régulière, limitée postérieurement par de la corticale osseuse et antérieurement par le liquide articulaire.

Cette technique est maintenant très utilisée dans le cadre des ponctions et des infiltrations des articulations périphériques. Le médecin s'aide de l'échographie comme d'un guide pour ponctionner ou injecter un produit à un endroit précis de l'articulation.

Points positifs, la technique échographique est facile d'utilisation, non invasive, non irradiante et son coût est très raisonnable comparé à celui de l'IRM.

La vision de l'articulation reste cependant partielle puisque les corticales osseuses font un barrage aux ultra-sons.

Aujourd'hui un bilan radio-clinique reste le plus souvent suffisant pour établir un diagnostic d'arthrose. Il faut cependant garder en mémoire que la radiographie est mal corrélée avec les symptômes du patient. De même, elle n'offre pas un bon indicateur de l'évolution de l'arthrose. C'est ainsi que l'IRM peut trouver sa place dans le diagnostic de l'arthrose, soit pour déceler plus rapidement un début d'arthrose, soit pour suivre l'évolution de l'ensemble

des structures articulaires. L'échographie et l'arthroscanner peuvent également intervenir en seconde intention et ne doivent pas être négligés.

A.VII.3 Les marqueurs biologiques

Un biomarqueur est une mesure biologique d'une condition biologique. Par définition, c'est une caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme indicateur des procédés biologiques normaux, de procédés pathogènes ou des réactions pharmacologiques à une intervention thérapeutique.

A ce jour, aucun marqueur n'est utilisé pour le diagnostic ou comme élément prédictif de l'évolution de l'arthrose.

Néanmoins, les biomarqueurs de l'arthrose sont aujourd'hui un sujet de recherche important dans le monde scientifique. Le but est de trouver des marqueurs qui seraient sensibles au changement arthrosique de l'articulation (intérêt diagnostique), et sensibles aux variations structurelles de la maladie (intérêt pronostique).

On sait aujourd'hui que la recherche d'un marqueur unique est illusoire et que l'on se tourne vers un ensemble de marqueurs : ceux des différents tissus de l'articulation, de la synthèse et de la dégradation de ces tissus. Nous pouvons donc faire le point sur certains d'entre eux qui se révèlent prometteurs.

Intéressons nous dans un premier temps à l'étude menée par Lavoie et coll (16) qui ont cherché à identifier les gènes et les protéines régulant l'homéostasie du cartilage. De là en est sorti un facteur de transcription PITX1. Il s'avère que ce facteur de transcription était moins exprimé dans les chondrocytes articulaires des patients atteints d'arthrose primaire du genou ou de la hanche. Chez une souris transgéniques ayant perdu une copie du gène PITX1, des symptômes similaires à ceux de l'arthrose s'installent. Ce facteur de transcription peut être régulé, le but était donc de déterminer le mécanisme responsable de l'expression ou non de ce facteur. C'est ainsi que les chercheurs ont identifié la prohibitine (PHB1) dans un complexe répresseur sur le promoteur du gène PITX1. Rappelons qu'un promoteur est une région d'ADN située en amont du gène et indispensable à la transcription de l'ADN en ARN. Ainsi plus PHB1 est exprimé, plus PITX1 est inactif.

Il a été observé une accumulation de PHB1 nucléaire au niveau des chondrocytes articulaires

des patients atteints d'arthrose. Cette accumulation est absente chez les sujets sains.

Cette étude a donc démontré un rôle important de la prohibitine dans l'arthrose. On pourrait donc imaginer un prélèvement sanguin afin de doser la concentration de PHB1 pour prévoir et évaluer l'apparition précoce et l'évolution de l'arthrose.

Les études se poursuivent pour déterminer la sensibilité et la spécificité de PHB1 comme marqueur spécifique de l'arthrose, pour voir notamment si elle pourrait être impliquée dans d'autres maladies rhumatismales. De plus nous ne savons pas encore à quel point l'accumulation de PHB1 précède les premiers symptômes cliniques de l'arthrose.

Une autre recherche menée par Henrotin Y et coll (17) a attiré l'attention sur une protéine : la fibuline 3. Les chercheurs ont analysé les protéines urinaires de plusieurs femmes souffrant de gonarthrose et les ont comparées à celles de sujets sains. De là en est ressorti deux peptides issus de la fibuline 3 : Fib3-1 et Fib3-2.

Les auteurs ont ensuite mis au point un dosage sérique de ces deux peptides. Ils ont constaté que ces peptides sont augmentés dans le sérum de sujets arthrosiques de façon spécifique (environ 80%) et de façon sensible (70%). Ils ont enfin localisé la fibuline 3 dans le cartilage : cette protéine est présente dans les chondrocytes et la matrice extracellulaire.

Nous sommes donc en présence de nouveaux biomarqueurs de l'arthrose issus de la dégradation de la fibuline 3. Attention cependant car cette protéine n'est pas exprimée uniquement dans le cartilage. De plus, cette étude ne permet pas de dire si ces biomarqueurs permettent un diagnostic précoce de l'arthrose.

Enfin une dernière étude du Dr Christian Beyer et coll (18) montre la présence dans le sang de trois microARNs spécifiques qui pourraient prédire le développement d'une arthrose sévère. Les microARNs permettent de réguler l'expression des gènes.

Pour identifier ces trois microARNs, les investigateurs ont analysé l'ensemble des microARNs présents dans les échantillons sanguins de 816 patients atteints d'arthrose débutante. Ils ont ensuite porté leur attention sur les microARNs présents chez les patients qui ont reçu une prothèse de hanche ou du genou à cause de l'évolution sévère de leur arthrose. C'est comme cela que miR-454, miR-885-5p et let-7e ont été identifiés comme microARNs associés à un développement sévère de l'arthrose. Le Dr Beyer affirme même « qu'il existe une relation dose-dépendante inverse entre les taux de let-7e et le nombre d'implantations de prothèse

du genou et de la hanche ».

Ces résultats doivent être confirmés sur un plus large échantillon de patients et on ne sait pas encore si ces microARNs sont à l'origine de la maladie ou s'ils ont simplement un impact sur l'activité de la pathologie.

En conclusion, les marqueurs biologiques font l'objet d'une recherche active. Ils pourraient permettre un diagnostic précoce de la maladie et avoir une valeur prédictive sur son évolution.

De plus les chercheurs souhaiteraient également s'en servir comme témoin de l'efficacité de traitements futurs.

A.VIII Traitements actuels de l'arthrose

Tout le monde s'accorde à dire qu'à ce jour les traitements de l'arthrose permettent au mieux de ralentir la dégradation du cartilage et de soulager le patient vis à vis des douleurs ressenties. Il s'agit d'une prise en charge symptomatique, en aucun cas ils n'aboutissent à une reconstruction du cartilage.

Du fait qu'aucun traitement n'offre une solution définitive au problème d'arthrose (mis à part le remplacement de l'articulation par une prothèse), plusieurs moyens thérapeutiques peuvent être envisagés.

La prise en charge doit être personnalisée en fonction de l'âge du patient, de son activité quotidienne, de ses antécédents, de l'affection associée et la présence ou non de signes inflammatoires locaux. L'arthrose étant une maladie évolutive, l'importance des symptômes varie d'un patient à un autre et d'un moment à un autre chez le même patient. Le praticien doit donc faire preuve d'un ajustement régulier de sa stratégie thérapeutique.

A.VIII.1 Les médicaments per os

Divers médicaments sont employés dans le traitement de l'arthrose, certains par voie orale, d'autres par voie locale.

A.VIII.1.a) Les antalgiques

Quand on parle d'antalgique on pense bien évidemment au paracétamol. Il s'agit de l'antalgique de première intention. En effet il possède un excellent rapport bénéfice/risque, présente peu d'interactions avec d'autres médicaments et peu de contre-indication courantes à son utilisation, y compris chez la personne âgée.

Son utilisation doit se faire à une dose suffisante, 3 à 4 grammes par jour et il peut être utilisé au long cours si son efficacité s'avère adéquate. Des articles reprenant certaines études témoignent du fait que le paracétamol est aussi efficace dans l'arthrose périphérique que la prise d'ibuprofène, et ce avec une meilleure tolérance (19). Attention cependant, le paracétamol n'est pas dépourvu de toxicité (notamment sur le foie) et il faut également prendre en compte son interaction avec les anticoagulants (inhibition de leur métabolisme hépatique et donc possible surdosage en anticoagulants).

Si le paracétamol ne suffit pas à soulager le patient, on peut avoir recours aux antalgiques de palier II. Il s'agit de la codéine ou du tramadol. Ces antalgiques ont une action à la fois centrale et périphérique. Leur utilisation nécessite des précautions d'emploi : prudence chez les patients présentant une hypertension intracrânienne, à risque de convulsions, patients sous psychotropes ou déprimeurs du système nerveux central. Il faudra également adapter la posologie chez le sujet âgé et en cas d'insuffisance rénale, hépatique ou respiratoire.

On doit les employer de manière temporaire car sur du long terme ils entraînent accoutumance et dépendance en plus des effets indésirables les plus fréquemment rapportés (sommolence, constipation, vertige).

Les antalgiques de palier III (morphiniques) n'ont théoriquement pas leur place dans la prise en charge de la douleur arthrosique. En effet leur utilisation est limitée par des problèmes de tolérance et de dépendance.

A.VIII.1.b) Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou AINS

Les AINS arrivent en seconde intention lorsque les patients ne répondent pas au paracétamol. Ils sont les plus efficaces lorsqu'il y a une inflammation et notamment lors de poussée douloureuse d'arthrose avec une synovite se traduisant par un épanchement. La liste des

AINS est longue et le choix qui s'offre au médecin est vaste et varié. On peut citer de manière subjective les plus fréquemment prescrits ou demandés au comptoir : acide acétylsalicylique, kétoprofène, ibuprofène, célécoxib, piroxicam, diclofénac, naproxène...

Tout comme les antalgiques de palier II, on préconise leur emploi sur une période brève (une dizaine de jours) et on les réserve pour les crises douloureuses.

Il existe plusieurs contre-indications à l'emploi des AINS :

- ulcère gastro-duodéal évolutif
- insuffisance hépatocellulaire sévère
- antécédents de saignements ou de perforation digestifs survenus sous AINS
- insuffisance cardiaque sévère
- insuffisance rénale sévère
- grossesse (à partir du 6ème mois)

Le médecin doit toujours avoir en tête l'action au long cours de la molécule qu'il va prescrire car cette action peut être davantage délétère que bénéfique. Il est recommandé de prescrire en association à l'AINS un inhibiteur de la pompe à proton (IPP). Cet IPP a pour but de prévenir les effets indésirables tels que brûlures d'estomac ou reflux gastro-œsophagien.

L'utilisation chez le sujet âgé doit toujours être précautionneuse du fait du risque plus élevé d'effets secondaires digestifs, rénaux et cardiovasculaires.

A.VIII.1.c) Les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente ou AASAL

Ces médicaments peuvent être considérés comme le traitement de fond de l'arthrose et on leur attribue le terme de traitements chondroprotecteurs.

On trouve plusieurs molécules dans cette catégorie : insaponifiable d'avocat et de soja (Piasclédine®), diacéréine (Art50®), chondroïtine sulfate (Chondrosulf®), glucosamine sulfate (Dolenio®, Osaflexan®) et glucosamine chlorhydrate (Flexea®, Voltaflex®). Tous ces médicaments possèdent une autorisation de mise sur le marché (AMM).

Il a été démontré dans plusieurs études que cette classe de médicament avait une modeste efficacité symptomatique rémanente après un délai d'action de plusieurs semaines (20). En revanche, leur effet chondroprotecteur ou structuromodulateur (capacité d'un traitement à

retarder, stabiliser, prévenir, voire réparer les lésions arthrosiques) n'a jamais été réellement prouvé. Schématiquement, les AASAL ont montré *in vitro* chez l'animal leur capacité à la fois à augmenter l'expression de gènes codant pour certaines protéines matricielles du cartilage et à diminuer la dégradation de la matrice extracellulaire par des mécanismes divers. Parmi ces mécanismes on trouve la synthèse de protéoglycanes et l'augmentation de facteurs de croissance comme le TGFβ qui est un puissant facteur anabolique pour le chondrocyte. Les AASAL ont également démontré une activité anti-catabolique au niveau de l'expression des cytokines pro-inflammatoires et des enzymes.

Les études chez l'homme n'ont pas donné des résultats équivoques et la Haute Autorité de Santé (HAS) a ainsi décidé du déremboursement de ces médicaments depuis Mars 2015. La HAS estime que le service médical rendu (SMR) est insuffisant dans le traitement symptomatique de l'arthrose (21). Plus précisément elle estime que « leurs effets sur la douleur et la gêne fonctionnelles liées à l'arthrose sont minimes et de pertinence clinique discutable. Ils ne permettent pas de réduire la consommation d'AINS ». Ainsi « le SMR est insuffisant pour justifier leur prise en charge par la solidarité nationale ».

Suite à cette décision, les associations de patients ont manifesté leur mécontentement. Il est vrai que le bénéfice apporté par ces médicaments peut paraître minime mais il était non négligeable. Ces médicaments étaient très bien tolérés et l'on peut craindre maintenant une prescription à la hausse d'AINS qui eux peuvent entraîner de nombreux effets indésirables surtout si les patients en abusent.

Les AASAL faisaient partie intégrante du traitement de l'arthrose mais leur utilisation va dorénavant sensiblement diminuer maintenant qu'ils ne sont plus remboursés.

A.VIII.2 Les traitements locaux

A.VIII.2.a) Les topiques AINS

Un topique est un traitement percutané sans effraction de la peau. Dans le cas de l'arthrose, il s'agit de topique à visée antalgique et anti-inflammatoire. Les AINS topiques ont un mécanisme d'action semblable à celui d'un AINS par voie orale (inhibition de la cyclo-

oxygénase et de la synthèse des prostaglandines pro-inflammatoires).

Certaines molécules ont fait l'objet d'études rigoureuses pour évaluer leur bénéfice dans le traitement local de l'arthrose. La conclusion de ces études est que les topiques anti-inflammatoires étudiés sont globalement plus efficaces que le placebo sur la douleur, la raideur et l'impotence fonctionnelle (22).

Autre point positif et important, ces topiques ont un faible passage systémique ce qui apporte un avantage certain en terme de tolérance avec une réduction des effets indésirables généraux.

Parmi les topiques les plus utilisés dans l'arthrose on peut citer : le diclofénac sodique (Voltarene®), le diclofénac épolamine (Flector®), le kétoprofène (Kétum®), l'acide niflumique (Niflugel®)...

A savoir que le diclofénac est le seul AINS topique à posséder l'AMM dans le traitement de la gonarthrose en France. Les autres molécules ont pour indication l'arthrose des doigts (23).

Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés sont de type cutané avec érythème et prurit bénins. Vigilance toutefois avec le kétoprofène qui est photosensibilisant.

En résumé, les AINS topiques présentent l'avantage d'être efficaces et sûrs d'emploi avec un moindre coût en terme de santé publique et sont particulièrement bien acceptés par les patients.

Ainsi les sociétés savantes telles que l'EULAR (European League Against Rheumatism) recommandent l'utilisation des AINS topiques pour le traitement de l'arthrose des genoux et des doigts, notamment chez les sujets mal tolérants aux AINS oraux.

A.VIII.2.b) Ponction du liquide articulaire

Une ponction est nécessaire lors d'un épanchement de synovie, également appelé hydarthrose. Cet épanchement est présent lors d'une poussée arthrosique mais également lors d'une lésion traumatique (fracture articulaire, entorse grave). Il est essentiellement retrouvé au niveau du genou.

Dans le cas de l'arthrose, l'inflammation de la membrane synoviale conduit à une augmentation de la sécrétion du liquide synovial. Il s'agit d'une réaction de défense face à la

destruction du cartilage. Au niveau clinique cela se traduit par une chaleur locale et un gonflement articulaire.

Pour évacuer l'épanchement, le médecin va effectuer une ponction articulaire. Ce geste est le plus souvent effectué par un rhumatologue. Le liquide synovial est prélevé avec une aiguille d'une dimension adaptée au volume de l'articulation dans des conditions d'asepsie rigoureuses. Il est ensuite recueilli dans un flacon stérile.

Dans l'arthrose, la ponction des épanchements volumineux et douloureux permet d'obtenir une cessation rapide de la douleur ainsi qu'une amélioration de la fonction articulaire.

Le liquide articulaire recueilli joue également un rôle déterminant dans le diagnostic des autres affections articulaires. Différentes analyses seront réalisées : l'analyse biochimique (dosage de protéines et de glucose), l'analyse cytologique (comptage des cellules et recherche de cristaux) et l'analyse microbiologique (recherche de bactéries).

Si l'on s'en tient à l'arthrose, le liquide articulaire sera d'aspect jaune pâle avec une viscosité importante. Le nombre de cellules est inférieur à $2000/\text{mm}^3$. Il s'agit d'un liquide dit « mécanique ».

La ponction du liquide synovial n'est donc pas un véritable traitement de l'arthrose mais il permet de soulager rapidement et de manière efficace le patient présentant un épanchement.

A.VIII.2.c) Infiltration de corticoïdes

La cortisone par voie orale est très peu utilisée dans le traitement de l'arthrose. L'injection d'un corticoïde peut, elle, s'avérer très efficace lors d'une poussée douloureuse et congestive. Injectée directement dans l'articulation concernée, la cortisone ne passe pratiquement pas dans le sang et limite ainsi la survenue d'effets indésirables (prise de poids, ostéoporose, fonte musculaire, fragilisation de la peau...). Cependant l'infiltration de corticoïdes n'est pas sans risque et le nombre d'injections se limitera à trois ou quatre par an pour une même articulation (19).

Le genou est l'articulation qui bénéficie en majorité de ce type de traitement. D'autres articulations peuvent être concernées par ce geste : à la hanche, à la base du pouce, certaines

articulations au niveau de la colonne vertébrale. Pour ces articulations, l'infiltration peut se faire sous échographie ou radio-guidage afin de guider précisément l'aiguille dans la cavité articulaire. Toute injection doit être réalisée dans des conditions d'asepsie rigoureuses, le plus souvent par un rhumatologue ou un radiologue. Souvent redoutée, elle ne fait en réalité pas plus mal qu'une prise de sang. Elle se fait sous anesthésie locale et dure entre 15 et 20 minutes.

Suite à l'infiltration une douleur au point d'injection peut apparaître. Il arrive également que la douleur articulaire soit majorée, aussi on recommande aux patients de ne pas forcer sur leur articulation pendant les heures qui suivent. Ces troubles disparaissent spontanément au bout de quelques heures. Le risque le plus redouté est une infection au niveau de l'articulation infiltrée mais ce risque est évalué à moins de 1 pour 70000 (24).

On peut utiliser des corticoïdes « retards » pour avoir un effet prolongé sur la diminution de la douleur. Néanmoins aucune injection de cortisone ne permet de soulager le patient sur du très long terme.

Les produits utilisés en première intention sont la bétaméthasone (Diprostène®), l'acétonide de triamcinolone (Kenacort®) et le cortivasol (Altim®).

Nous pouvons dire que l'infiltration de corticoïdes est un traitement efficace en cas de poussée arthrosique douloureuse mais sans efficacité sur du long terme. Il s'agit d'un geste invasif et il ne doit pas être imposé au patient mais plutôt être discuté avec le médecin pour identifier les bénéfices qu'il peut apporter.

A.VIII.2.d) La viscosupplémentation

La viscosupplémentation correspond à l'infiltration d'acide hyaluronique dans une cavité articulaire.

C'est un traitement de plus en plus utilisé aujourd'hui. Tout comme l'injection de cortisone, ce traitement a pour but de diminuer la douleur articulaire mais a en plus l'objectif d'améliorer l'état fonctionnel de l'articulation arthrosique sur du long terme. Les produits concernés sont, entre autres, le Hyalgan®, le Synvisc® et l'Arthrum®.

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, l'acide hyaluronique est un

glycosaminoglycane de nature visqueuse et élastique présent dans le liquide synovial. C'est l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire. Nous avons aussi vu qu'au cours de l'arthrose, le liquide synovial est soit appauvri en acide hyaluronique, soit présente un acide hyaluronique de moins bonne qualité. Tout ceci rend le cartilage plus vulnérable aux forces de frictions et de compressions.

Il a donc été supposé que l'apport d'acide hyaluronique pouvait rendre ses qualités de viscosité et de lubrification au liquide synovial. Encore une fois, c'est pour l'articulation du genou que la viscosupplémentation est la plus fréquente. C'est pour cette articulation que l'on possède le plus d'études. Les chercheurs ont donc pu établir le mécanisme d'action de l'acide hyaluronique lorsqu'il est injecté. Il est décrit que l'effet bénéfique des injections serait dû à une production autocrine d'acide hyaluronique, on parle de visco-induction. De plus, l'acide hyaluronique possède des vertus anti-inflammatoires sur les synoviocytes (25). Il aurait enfin un effet lubrificateur et de contrôle de la perméabilité de la membrane cellulaire. Malgré ces observations, le mécanisme d'action de l'acide hyaluronique reste très complexe et n'est pas complètement élucidé.

Outre le mécanisme d'action, la majorité des études plaident pour une efficacité clinique. Pour autant, dans de nombreuses études, l'effet clinique sur la douleur et sur la fonction reste modeste comparativement à un placebo (25). Il s'agit cependant d'un traitement très bien toléré et pour lequel la balance bénéfices/risques reste largement positive.

Pour la gonarthrose, le schéma d'administration est en général d'une injection par semaine, trois semaines consécutives soit trois injections. Il existe également des schémas de mono-injection avec des quantités injectées en volume plus importantes d'acide hyaluronique. A noter que la sécurité sociale rembourse une série de trois injections et ceci de façon annuelle. Ces injections sont recommandées pour des gonarthroses sans épanchement, en dehors des poussées congestives et en seconde intention après échec des antalgiques et des AINS. Contrairement aux infiltrations de corticoïdes, l'installation de l'effet antalgique est lente mais peut perdurer plusieurs mois selon les patients.

Le mécanisme d'action décrit ci-dessus pourrait nous laisser penser que l'acide hyaluronique offre un effet protecteur sur les couches les plus superficielles du cartilage. Bien qu'observé *in vitro*, il n'y a pas de preuve en clinique humaine que les injections d'acide hyaluronique soient de nature à diminuer la progression structurale de l'arthrose (25).

Les autres études qui se sont intéressées à la viscosupplémentation sur d'autres articulations

(pouce, cheville, hanche) ont conclu à une efficacité moindre que celle obtenue pour la gonarthrose. Néanmoins il reste à déterminer les conditions optimales de ces injections avant de pouvoir conclure à une absence d'efficacité.

Bien que l'efficacité des injections intra-articulaires d'acide hyaluronique reste modeste et variable d'un patient à un autre, ce traitement fait aujourd'hui partie intégrante de la prise en charge au quotidien des patients souffrant de gonarthrose.

A.VIII.2.e) Le lavage articulaire du genou

Il s'agit d'une irrigation du genou avec du sérum physiologique qui est généralement suivie d'une injection intra-articulaire de corticoïde ou d'une viscosupplémentation.

Le but de ce traitement est de diminuer la douleur du genou grâce à l'élimination de micro particules intra-articulaires qui entretiennent l'inflammation de l'articulation. Ces micro particules peuvent être des dépôts de fibrine, de débris cartilagineux et des micro calcifications.

Ce traitement est effectué sous anesthésie locale. Un premier trocart relié à la poche de sérum physiologique est introduit. Un second trocart est placé juste en dessous du premier. Il est relié à une tubulure qui permet l'écoulement articulaire vers l'extérieur. Au cours du lavage articulaire, le médecin imprime au genou des mouvements de flexion limités ainsi que des massages du genou pour favoriser le passage du liquide dans tous les espaces articulaires. Il sera injecté deux litres de sérum physiologique. Cet examen dure en moyenne 45 minutes.

Il n'est pas rare que ce traitement soit pratiqué même si aucune étude n'a réellement démontré son efficacité. Ainsi en 2010, Avouac et coll (26) ont conclu qu'un lavage articulaire ne suffisait pas à assurer une amélioration significative de la douleur ou de la fonction et que la combinaison d'un lavage articulaire et l'injection de corticoïdes n'était pas plus efficace que le lavage seul.

A.VIII.3 La kinésithérapie

La kinésithérapie est une thérapie non pharmacologique et a une place très importante

puisqu'elle fait partie des recommandations pour la prise en charge de l'arthrose. Ainsi l'EULAR ou l'OARSI (Osteoarthritis Research Society International) insistent sur l'importance de l'exercice et du renforcement musculaire.

Nous savons que l'inactivité et le surmenage ont tous les deux des effets nocifs sur le cartilage. Lorsqu'une articulation est atteinte d'arthrose, le mouvement reste essentiel afin d'éviter la perte de la contraction musculaire qui entraîne une atrophie du cartilage. Ainsi il faut trouver le juste milieu entre le repos et l'activité articulaire. Le repos sera seulement indiqué lors d'une poussée inflammatoire de l'arthrose.

La kinésithérapie a plusieurs objectifs (27) :

- améliorer et maintenir une amplitude correcte au niveau des articulations atteintes pour permettre la réalisation des activités courantes.
- maintenir une force musculaire correcte à l'aide d'un travail statique.
- augmenter la stabilité articulaire et diminuer le stress biomécanique sur les articulations atteintes. L'instabilité articulaire doit être palliée par le renforcement statique des muscles stabilisateurs et des éléments péri-articulaires.
- augmenter l'endurance de toutes les activités car l'arthrose diminue l'endurance cardiovasculaire et celle des muscles péri-articulaires.
- améliorer une marche efficace et sûre puisque l'arthrose des membres inférieurs et spécialement celle du genou et de la hanche sont à l'origine d'une boiterie d'esquive, d'instabilité articulaire et de faiblesse musculaire.
- diminuer la douleur.

Pour atteindre ces objectifs le patient arthrosique devra effectuer différents exercices, seul ou en groupe, accompagné ou non d'un kinésithérapeute :

- exercices isométriques : c'est une contraction musculaire sans recours aux mouvements. Ces exercices ont un effet de renforcement, ils sont réalisés sans contraintes et bien tolérés en augmentant d'un moindre degré la pression intra-articulaire.
- exercices dynamiques : alternance des contractions concentriques (rapprochement des unités contractiles du muscle) et contractions excentriques (étirement du muscle).

- étirements musculaires : il ne faut pas négliger les étirements musculaires car ils permettent de maintenir et d'améliorer l'amplitude articulaire, la force et la contracture musculaire.
- exercices en charge : ils sont nécessaires afin de préserver l'anatomie et la fonction du cartilage.
- exercice physique : il améliore l'endurance cardiovasculaire. Lors de l'arthrose, les patients diminuent leur endurance cardiovasculaire alors qu'ils peuvent la conserver en exerçant certains sports atraumatiques comme la marche, le cyclisme ou la natation.

Ce programme d'exercice doit être conduit et suivi par un kinésithérapeute pour modifier si besoin le type d'exercice et/ou son intensité.

La kinésithérapie permet d'améliorer le quotidien des patients arthrosiques. Elle permet parfois une amélioration des douleurs identique à celle procurée par les antalgiques ou les anti-inflammatoires.

A.VIII.4 Les orthèses

Les patients atteints d'arthrose nécessitent des aides techniques dans un but d'économie articulaire afin de protéger les articulations.

C'est cette aide que tente d'apporter les orthèses qui sont aujourd'hui de plus en plus prescrites.

Les orthèses fabriquées aujourd'hui concernent l'arthrose du genou et l'arthrose de la main.

A.VIII.4.a) Orthèses et arthrose du genou

En cas de gonarthrose, trois types d'orthèses peuvent être proposés : attelle de repos, orthèse élastique (genouillère) et orthèse rigide articulée (orthèse de décharge du genou).

Les orthèses de repos servent à immobiliser l'articulation, tout effet dynamique est donc exclu. Nous avons vu précédemment l'effet bénéfique de la mobilisation de l'articulation (avec des exercices adaptés) même lorsque cette articulation était douloureuse. Aucun essai clinique n'a étudié l'efficacité de ce type de prothèse et leur utilisation n'est donc pas recommandée (28).

Les orthèses élastiques peuvent être baleinées ou non, avec ou sans fenêtre rotulienne. Elles ont un effet de contention modeste et permettent un alignement de la rotule et une stabilisation fémorotibiale dans le plan frontal (27). Ce type d'orthèse bénéficie d'une étude (Kirkley et coll) qui a comparé un groupe contrôle, un groupe porteur d'une orthèse élastique et un troisième groupe où les patients portaient une orthèse rigide articulée. A six mois de suivi, il a été observé une diminution de la douleur à la marche et à la montée d'escaliers pour les deux groupes porteurs d'orthèses (28). A ce jour, l'OARSI recommande le port d'une orthèse élastique lors d'une « déformation en varus ou en valgus mineure ou modérée, afin de réduire la douleur, améliorer la stabilité et diminuer le risque de chute ».

Enfin les orthèses rigides articulées constituent des appareils dynamiques et comportent une tige, bracelet et charnière latérale. Leur objectif est de diminuer les charges compressives transmises à la surface articulaire. Au cours de la même étude présentée ci-dessus, ce type d'orthèse était plus efficace pour l'effet antalgique apporté au patient lors des tests de marche ou de montée des escaliers. Une autre étude menée par Brouwer et coll a montré une diminution de la douleur mais également une augmentation du périmètre de marche dans le groupe porteur de l'orthèse rigide articulée.

Il faut cependant noter que l'observance du port de ce type d'orthèse est médiocre.



*Figure 6 : les différentes orthèses du genou
de gauche à droite : orthèse de repos, orthèse élastique, orthèse rigide articulée
(disponible sur : www.goural.fr et www.vidal.fr)*

A.VIII.4.b) Orthèses et arthrose de la main

Le terme arthrose de la main est un terme qui englobe l'arthrose du poignet, l'arthrose du pouce, et l'arthrose des autres doigts de la main.

Pour ces orthèses, peu d'études randomisées sont disponibles. On s'appuie donc sur les recommandations de l'OARSI qui mentionne les attelles de la base du pouce pour prévenir et/ou corriger l'angulation latérale et la déformation en flexion.

De façon identique aux orthèses du genou, on distinguera les orthèses de repos et les orthèses dynamique ou d'activité.

Les orthèses de repos sont utilisées le plus souvent en complément du traitement médicamenteux lors par exemple d'une poussée douloureuse de l'arthrose des mains.

Une étude publiée en 2009 de Rannou et coll avait évalué l'efficacité du port nocturne d'attelles de repos dans la rhizarthrose et a montré des effets positifs sur la douleur et le handicap à 12 mois ainsi qu'une bonne observance et l'absence d'effets indésirables (27). Ces orthèses peuvent concerner conjointement les articulations du poignet et de la main ou peuvent se limiter au poignet ou aux articulations de la base du pouce comme pour la rhizarthrose.

Les orthèses dynamiques tentent de diminuer les contraintes appliquées aux articulations.

Contrairement aux attelles de repos portées le plus souvent la nuit, ces dernières doivent être portées le jour et être les plus courtes possible pour préserver la mobilité des articulations saines.

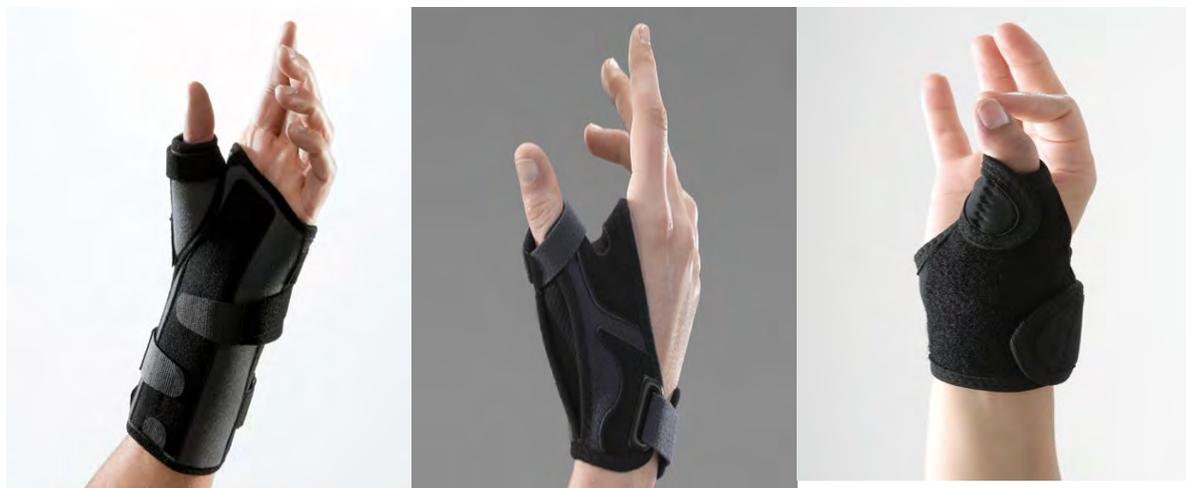


Figure 7 : les différentes orthèses poignet/pouce
De gauche à droite : orthèse d'immobilisation poignet/pouce, orthèse d'immobilisation pouce, orthèse d'activité pouce
(disponible sur www.sofamed.com et www.gibaud.com)

A.VIII.5 Les prothèses

Nous avons vu que l'arsenal thérapeutique actuel permet au mieux une prise en charge symptomatique de l'arthrose. L'usure du cartilage est irréversible et pour certains patients il arrive un moment où les différents traitements ne suffisent plus à contrôler la douleur. Les difficultés de mouvement dans la vie quotidienne deviennent telles qu'il est utile voir indispensable d'envisager une intervention chirurgicale avec la pose d'une prothèse.

Le but d'une telle opération est la disparition de la douleur arthrosique et la récupération des mobilités de l'articulation.

Que ce soit pour une prothèse de hanche, de genou ou d'épaule, la décision doit être prise suite à une concertation entre le patient, le médecin généraliste et le chirurgien orthopédiste. Comme toute chirurgie, la pose d'une prothèse n'est pas une opération anodine et tous les bénéfices et risques potentiels doivent être abordés avec le patient arthrosique.

S'il était coutume de dire que la mise en place d'une prothèse n'était considérée que comme l'ultime recours, ceci est moins vrai aujourd'hui. En effet, la récupération chez un patient qui a

beaucoup attendu et beaucoup souffert sera plus longue que la moyenne. Il s'agit donc de trouver avec le chirurgien le moment idéal basé uniquement sur les symptômes du patient et non sur les signes radiologiques.

Nous nous limiterons à la description des prothèses de hanche et de genou qui sont les deux articulations très majoritairement concernées par ces opérations. A savoir qu'il existe cependant des prothèses d'épaule, de cheville, de coude ou même de poignet.

A.VIII.5.a) Prothèse de hanche

La prothèse de hanche est le type de prothèse utilisé dans l'arthrose le plus fréquent en France. En 2013, environ 140000 prothèses de hanche ont été implantées en France (29).

Deux interventions sont possibles : la prothèse totale de hanche (PTH) et la prothèse partielle. Les structures anatomiques concernées par la prothèse de hanche sont la tête fémorale et le cotyle qui est la cavité dans laquelle s'articule la tête du fémur.

Dans la prothèse partielle, seule la tête fémorale est remplacée alors que pour une PTH la tête fémorale et le cotyle seront tous deux remplacés.

La prothèse partielle est une opération moins lourde et qui préserve davantage le capital osseux mais n'est possible que si le cartilage du cotyle est sain.

La prothèse comporte plusieurs éléments (cf figure 8) : une cupule qui est une partie hémisphérique creuse destinée à être implantée au niveau du cotyle, et la tige avec une tête sphérique qui est implantée au niveau du fémur. Ces deux parties s'articulent entre elles grâce à un insert en polyéthylène ou en céramique.

L'intervention se pratique par une incision courte (8 à 10 cm) au niveau de la région fessière. La progression jusqu'à l'articulation se fait en respectant les différents groupes musculaires. Lorsque l'articulation est atteinte, elle est luxée pour permettre au chirurgien de travailler directement sur les surfaces osseuses. La tête fémorale et son col sont sectionnés très précisément selon la planification pré-opératoire. Il en est de même pour le cotyle. Il est alors possible d'implanter les différents éléments de la prothèse.

La mise en place de la prothèse au niveau de l'os peut se faire avec ou sans ciment. Tous les chirurgiens ne sont pas d'accord sur le sujet mais il semblerait qu'il faille préférer une implantation sans ciment. Pour ne plus avoir à utiliser de ciment tout en gardant une fixation parfaite, les différentes parties de la prothèse sont revêtues d'une matière proche des

constituants calciques de l'os (hydroxyapatite). Ce revêtement en quelque sorte naturel, va être ré-habité par l'os qui entoure la prothèse et éviter ainsi tout risque de rejet. Ensuite la tige fémorale et la pièce cotyloïdienne sont fixées par impaction, c'est à dire qu'ils vont s'intégrer de façon solide et stable dans l'os.

L'intervention dure en moyenne une heure. Après l'opération les douleurs sont présentes mais peu prononcées. Les redons (tuyaux drainant le sang) sont laissés en place en moyenne quatre jours.

La marche peut être reprise assez rapidement après l'opération (24 à 48h) à l'aide de cannes anglaises ou d'un déambulateur. La rééducation est primordiale pour retrouver une marche stable.

On considère que la durée de vie moyenne d'une prothèse de hanche est de 20 ans en l'absence de complications.

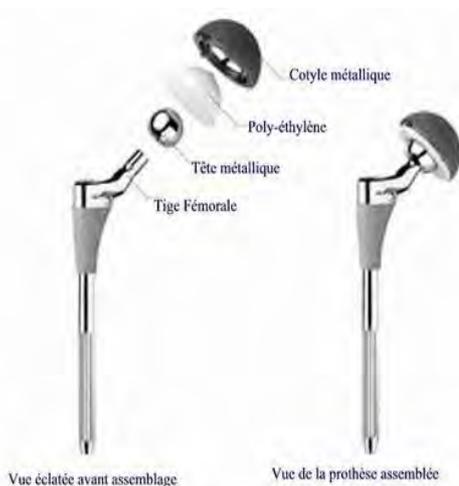


Figure 8 : les différents composants d'une prothèse de hanche
(disponible sur : www.chir-ortho.com)



Figure 9 : prothèse de hanche sur une radiographie
(disponible sur : lookfordiagnostic.com)

A.VIII.5.b) Prothèse du genou

On considère que 50000 prothèses de genou sont posées chaque année en France (30). C'est une intervention bien maîtrisée et de plus en plus pratiquée compte tenu de ses résultats obtenus et de la longévité améliorée des implants.

Comme pour la hanche, il existe plusieurs types de prothèses en fonction de l'usure osseuse

et ligamentaire. On trouvera donc des prothèses uni-compartmentaire (PUC) et des prothèses totales du genou (PTG).

Les PUC ont pour objectif de remplacer l'un des trois compartiments du genou (fémoro-tibial interne, fémoro-tibial externe ou fémoro-patellaire), préservant la totalité des ligaments intra et extra articulaires. C'est le compartiment fémoro-tibial interne qui est le plus souvent remplacé. Lorsque la PUC est techniquement réalisable (faible déformation frontale, stabilité ligamentaire parfaite, pas de surcharge pondérale, douleur localisée au compartiment détérioré) le résultat fonctionnel obtenu est en général meilleur que celui d'une prothèse totale. De plus la co-morbidité est moindre et les suites opératoires et la rééducation sont plus simples (31). En revanche leur implantation s'avère bien plus compliquée et peut conduire à un échec précoce.

Lorsque toute l'articulation est touchée, on utilisera une PTG. En réalité, il existe deux sortes de PTG : la prothèse de genou totale à charnière et la prothèse de genou totale à glissement. Les PTG à charnière ont été les premières prothèses de genou posées. Elles ne comportent qu'un seul degré de liberté en flexion-extension. Aujourd'hui, elles ne sont pratiquement plus utilisées du fait de leur durée de vie courte compte tenu des contraintes imposées aux implants et qui occasionnent des descellements.

Par conséquent les PTG à glissement sont largement majoritaires. C'est ce type de prothèse qui permet la qualité et la fiabilité des résultats actuels. Il s'agit d'implants sans union fixe entre la pièce fémorale et la pièce tibiale.



Figure 10 : prothèse uni-compartmentaire fémoro-tibial
(disponible sur : www.medicaexpo.fr)

Figure 11 : radiographie d'une PTG à charnière
(disponibles sur : www.drmayer.fr)

Figure 12 : radiographie d'une PTG à glissement
(disponibles sur : www.drmayer.fr)

Quel que soit le type de prothèse, les matériaux utilisés sont le métal pour les composants du

fémur et du tibia et le polyéthylène pour la surface intermédiaire remplaçant les ménisques ou pour le resurfaçage de la rotule.

Ces prothèses sont fixées à l'os soit par un ciment chirurgical soit par un matériau recouvrant l'implant conjugué à une repousse osseuse autour de la prothèse.

De plus en plus fréquente aujourd'hui, la mise en place d'une prothèse peut être menée sous le contrôle d'un ordinateur afin de s'assurer d'une coupe osseuse et d'une pose des implants parfaite.

Après opération, de la même manière que pour une prothèse de hanche, le premier lever est autorisé entre le 1er et le 3ème jour selon les cas. La rééducation doit également commencer très rapidement et être poursuivie à domicile ou bien dans un centre.

A.VIII.6 Autres approches thérapeutiques

Il n'est pas rare qu'aujourd'hui, avant d'envisager un geste chirurgical, certains patients se tournent vers d'autres traitements moins conventionnels que ceux décrits ci-dessus.

Ces traitements peuvent être homéopathiques, de phytothérapie, d'aromathérapie ou bien faire appel à des compléments alimentaires. Là encore, le but est d'obtenir une réduction de la douleur et d'apporter un confort articulaire à ces patients.

Commençons par l'homéopathie qui fait l'objet de demandes assez fréquentes au comptoir. La souche *Rhus Toxicodendron* peut être utilisée à la fois pour le traitement de fond de l'arthrose mais aussi pour les poussées douloureuses. L'*Arnica* par voie orale ou locale est fréquemment utilisée également. En traitement de fond, il convient de prendre *Dulcamara* 7CH et *Natrum Sulfuricum* 7CH si les symptômes sont plus prononcés lorsqu'il pleut. Si ces derniers apparaissent à cause du froid, *Nux Vomica* 5CH et *Calcarea Phosphorica* 5CH sont plus recommandés (32).

La phytothérapie fait appel à des plantes comme l'*harpagophytum* (action anti-inflammatoire et antalgique), le gingembre (puissant anti-inflammatoire) et le saule blanc (action similaire à l'Aspirine®) (33).

En aromathérapie, on peut, entre autres, faire appel aux huiles essentielles de Gaulthérie (anti-inflammatoire, action chauffante) et d'Eucalyptus citronné (anti-inflammatoire,

antalgique et anti-rhumatismale puissante). Mélangées et diluées dans une huile végétale, on obtient une préparation pouvant être appliquée localement sur les articulations douloureuses.

Enfin, on retrouve globalement dans les compléments alimentaires les mêmes composants que ceux des AASAL présentés dans un chapitre précédent. D'autres substances comme les acides gras oméga-3 et l'acide gamma-linolénique pourraient contribuer à améliorer la mobilité des articulations. On peut également citer le silicium qui aurait un effet bénéfique sur la santé des os et des articulations.

En résumé, même si ces autres approches thérapeutiques n'ont pas fait l'objet d'études sérieuses pour conclure à un réel effet bénéfique, il faut néanmoins pouvoir les intégrer au traitement de l'arthrose lorsque le patient est demandeur d'une alternative à l'allopathie.

B. Les cellules souches

Il est question dans cette partie de présenter les cellules souches : leur origine, leur fonctionnement, leur potentiel, les aspects réglementaires qui les encadrent et leurs utilisations actuelles. Ceci est indispensable pour discuter ensuite de leur potentiel thérapeutique dans l'arthrose.

B.I Introduction

Une cellule souche est une cellule indifférenciée possédant un potentiel de différenciation en au moins un type cellulaire. En plus de sa capacité de différenciation, une cellule souche est caractérisée par son auto-renouvellement. Il s'agit de la capacité pour une cellule de proliférer indéfiniment tout en maintenant un état indifférencié. Cet auto-renouvellement se fait par division cellulaire et l'on observe deux types de division. D'un côté la division cellulaire symétrique donne naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère (division symétrique holoblastique) ou bien deux cellules filles identiques entre elles mais un peu plus différenciées que la cellule mère (division symétrique hétéroblastique). De l'autre côté, la division asymétrique donne naissance à une cellule fille identique à la cellule mère et à une cellule différenciée.

Selon leurs capacités de différenciation, on distingue plusieurs types de cellules souches :

- Les cellules souches totipotentes : ces cellules peuvent donner tous les types cellulaires embryonnaires et extra-embryonnaires.
- Les cellules souches pluripotentes : ces cellules ont la capacité de donner, après différenciation, l'ensemble des tissus d'un organisme, mis à part les annexes embryonnaires tels que le placenta ou le cordon ombilical. Ces cellules sont à l'origine des trois tissus primaires de l'embryon : endoderme, ectoderme et mésoderme.
- Les cellules souches multipotentes : cellules capables de générer uniquement quelques types cellulaires d'un tissu donné. L'exemple classique est celui des cellules souches de la peau qui peuvent se différencier en cellules épidermiques,

glandes sébacées ou follicules pileux.

- Les cellules souches unipotentes : ces cellules ne donnent qu'un seul type de cellules mais elles gardent la capacité d'auto-renouvellement. On peut citer les cellules souches épidermiques qui se différencient uniquement en kératinocytes.

Le monde scientifique fonde beaucoup d'espoir sur les cellules souches et la recherche est très active dans ce domaine. Les chercheurs tentent d'exploiter les propriétés d'auto-renouvellement et de régénération des cellules souches pour des applications médicales et développer des thérapies cellulaires pour des maladies incurables jusqu'à maintenant.

Nous présenterons dans cette partie les difficultés rencontrées pour le prélèvement des cellules souches, leur manipulation *in vitro*, leur différenciation, leur comportement *in vivo*, sans oublier le respect de l'éthique encadrant l'usage de ces cellules.

B.II Historique

Si aujourd'hui le nombre d'essais cliniques utilisant des cellules souches se multiplie, la découverte et les avancées scientifiques de ces dernières sont plutôt récentes.

C'est en 1981 que Martin Evans (prix Nobel de médecine 2007) fit la découverte des cellules souches. Ce scientifique britannique parvint pour la première fois à identifier les cellules souches d'une souris, à les isoler puis à les placer en culture.

C'est ensuite en 1986 que ce même Martin Evans, accompagné de Mario Capecchi et Oliver Smithies, fit naître les premières souris issues de cellules souches embryonnaires. C'est d'ailleurs en 2007 que ces trois personnages recevront le prix Nobel de médecine pour leur découverte concernant le ciblage de gènes sur les cellules souches embryonnaires de souris (34).

Il faudra attendre 1998 pour que James Thomson et son équipe arrivent à isoler des cellules souches à partir d'embryons humains résultant de fécondation *in vitro* et ne faisant plus l'objet de projet parental. Les cellules qu'ils isolent possèdent bien les propriétés de cellules souches : capacité de différenciation et propriété d'auto-renouvellement se traduisant par un taux de télomérase élevé.

Les avancées scientifiques ont ensuite été limitées par la réglementation très stricte encadrant l'utilisation des embryons humains pour la recherche sur les cellules souches.

Mais c'est en 2006 que le japonais Shinya Yamanaka fit la prouesse scientifique de reprogrammer une cellule déjà différenciée en cellule souche pluripotente. Les cellules obtenues furent nommées « cellules pluripotentes induites ou iPS (35). Cette découverte lui a valu le prix Nobel de médecine en 2012. Ces cellules obtenues par l'introduction de quatre gènes dans des cellules différenciées sont capables de devenir n'importe quelle cellule du corps. Néanmoins, le processus de reprogrammation cellulaire n'est pas encore complètement contrôlé et les scientifiques tentent encore aujourd'hui de perfectionner cette méthode.

B.III Classification des cellules souches

Nous avons vu qu'il est possible de classer les cellules souches en fonction de leur potentiel de différenciation. Il est également intéressant de réaliser une classification en fonction de leur présence au cours du développement de l'être humain.

B.III.1 Les cellules souches embryonnaires (CSE)

Comme leur nom l'indique, les CSE sont issues de l'embryon à un stade très précoce de son développement. C'est la seule classe de cellules souches qui a la capacité de s'auto-renouveler indéfiniment tout en maintenant une pluri-potentialité et pouvant ainsi se différencier en tous les types cellulaires d'un organisme. Les CSE sont donc des cellules pluripotentes.

Ces cellules sont présentes et peuvent être prélevées chez un embryon entre le 5ème et le 7ème jour (36). C'est le stade blastocyste du développement embryonnaire. Il peut être grossièrement comparé à une boule d'environ 100 cellules (37). On distingue deux parties au niveau du blastocyste (cf figure 13) :

- une couche externe de cellules (trophoblastes) appelée trophoctoderme qui formera par la suite le placenta qui supporte l'embryon quand il se développe dans l'utérus.
- Un groupe de cellules internes, appelé masse cellulaire interne contenant 10 à 20

cellules. Il s'agit des CSE.

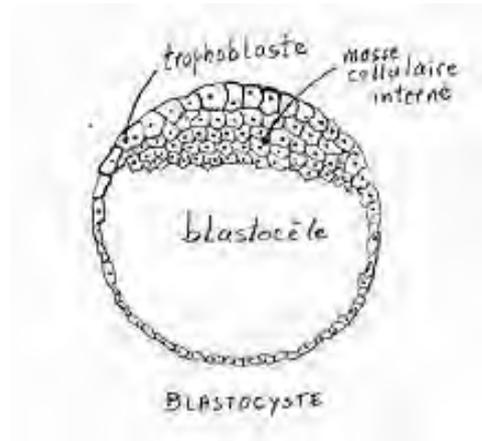


Figure 13 : blastocyste
(disponible sur wikiwand.com)

Une fois ces cellules prélevées, elles sont placées en culture. Pour rendre la culture de cellules souches possible, il a fallu que les chercheurs découvrent les signaux physiques et/ou chimiques produits dans l'embryon et qui aboutissaient au final à la différenciation cellulaire. Ces signaux sont notamment des sécrétions chimiques provenant de cellules avoisinantes, de la communication directe par contact cellule/cellule ou de la contrainte mécanique causée par des mouvements de l'embryon pendant le développement (38).

L'objectif des biologistes est de créer dans les boîtes de Petri des conditions similaires pour obtenir une différenciation des CSE vers le type de cellule qu'ils souhaitent utiliser pour leurs études.

Les chercheurs peuvent donc influencer la différenciation cellulaire grâce à l'emploi de facteurs de croissance ou d'inhibition, de substrats de culture cellulaire, d'environnements de co-culture ou même de culture tridimensionnelle.

Le prélèvement des cellules du blastocyste engendre la destruction de l'embryon. Ceci soulève bien évidemment des problèmes éthiques puisqu'il s'agit de la destruction d'une vie humaine potentielle.

En pratique, le prélèvement s'effectue sur des embryons surnuméraires obtenus par fécondation *in vitro* et congelés en vue d'un projet parental finalement abandonné.

Aujourd'hui plus de 200 lignées de cellules souches embryonnaires humaines sont disponibles pour la communauté internationale de chercheurs (39). Chaque lignée possède son propre génome.

Si les CSE offrent de très nombreuses perspectives pour certaines maladies, nous verrons qu'elles ne sont pas concernées dans la recherche pour soigner l'arthrose.

B.III.2 Les cellules souches fœtales

Les cellules souches fœtales ont des caractéristiques intermédiaires entre les cellules souches embryonnaires et les cellules souches adultes. Lors de la période fœtale, les tissus sont en cours de développement mais sont déjà parfaitement spécifiés. Les cellules qui les constituent ne sont donc plus des CSE mais elles gardent une capacité de prolifération très supérieure à celle des cellules souches adultes leur permettant d'assurer la croissance des organes. Ce sont des cellules multipotentes.

Elles peuvent être isolées à partir de fœtus résultant d'avortements mais surtout à partir du sang foeto-placentaire restant dans le cordon ombilical. En réalité, les chercheurs s'intéressent aux cellules du sang du cordon mais aussi depuis peu aux cellules présentes dans la paroi du cordon ombilical.

B.III.2.a) Les cellules du sang de cordon

Le sang de cordon ombilical est une source de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Cela fait déjà plus de 20 ans que les CSH issus du sang de cordon ont été mises en évidence et utilisées pour traiter des hémopathies bénignes ou malignes et également des troubles métaboliques et immunitaires en pédiatrie (40). Ainsi en 2012, 4 316 patients ont reçu une ou plusieurs injections de CSH en France (41). On trouve également des CSH dans la moelle osseuse ou le sang périphérique d'un adulte mais la découverte de leur présence dans le sang de cordon a offert une troisième source de CSH. De plus, comparées aux CSH adultes, ces dernières sont moins agressives pour le receveur car elles sont « naïves » sur le plan immunologique donc ont un meilleur potentiel pour des greffes allogéniques.

Le prélèvement s'effectue par ponction des vaisseaux ombilicaux après la naissance. Ce geste est sans danger pour la mère et pour le nouveau-né. Ce prélèvement s'effectue avec l'accord de la mère.

Une fois les CSH obtenues, elles sont phénotypées HLA (human leucocyte antigens) afin de définir le phénotype de compatibilité tissulaire. Seuls les prélèvements répondant à des

critères stricts de qualité sont conservés (richesse cellulaire suffisante, sérologie normale de la mère, bactériologie négative). En France c'est le réseau français de sang placentaire qui regroupe et coordonne les activités des banques chargées de la conservation et celles des maternités accréditées pour les prélèvements. Le tout est piloté par l'agence de la biomédecine.

Petit bémol tout de même, le nombre de cellules récolté est faible comparé à celui effectué chez l'adulte au niveau de la moelle osseuse ou au niveau du sang périphérique.

B.III.2.b) Les cellules de la paroi du cordon ombilical

Ces dernières années, des recherches ont permis d'identifier de nouvelles cellules au niveau du cordon ombilical. Il ne s'agit plus de cellules du sang de cordon mais de cellules présentes dans le tissu élastique et résistant qui protège les vaisseaux ombilicaux. Ce tissu est nommé gelée de Wharton en référence à Thomas Wharton qui l'a décrit pour la première fois en 1656 (42).

Les cellules obtenues ont les propriétés caractéristiques des cellules souches mésenchymateuses (CSM). De manière identique au prélèvement des cellules de cordon ombilical, il n'y a pas de contraintes éthiques et seul le consentement de la mère est nécessaire. Le geste de ponction est indolore pour la mère et le nouveau-né. Après isolement des CSM issues du cordon, elles peuvent être cryoconservées pour être réutilisées plus tard.

En plus de leur forte capacité d'auto-renouvellement, différentes études ont prouvé que ces cellules pouvaient se différencier *in vitro* en plusieurs types cellulaires sous l'influence de facteurs de croissance (42) : adipocytes, chondrocytes, ostéocytes, cardiomyocytes, cellules endothéliales...

A ce jour, les CSM sont majoritairement obtenues à partir de la moelle osseuse ou des tissus adipeux d'une personne adulte. Cependant les CSM de la gelée de Warthon semblent offrir plusieurs avantages tels qu'un potentiel illimité d'abondance, un prélèvement non douloureux et non iatrogène, une prolifération *in vitro* supérieure, une immunogénicité moindre (faible expression de molécules HLA) et une immunomodulation supérieure. Ces cellules permettraient davantage d'injections allogéniques par comparaison aux sources actuelles de CSM.

Même si l'isolement des CSM à partir de prélèvement de moelle osseuse reste la méthode la

plus employée (42), la gelée de Warthon représente une source de CSM très intéressante et l'on peut imaginer qu'elle permette un jour une avancée dans le traitement de l'arthrose étant donné leur capacité de différenciation en chondrocytes.

B.III.3 Les cellules souches adultes

Les cellules souches adultes se trouvent dans plusieurs tissus différents de l'individu adulte et en quantité minime. Ces cellules sont responsables de la guérison et du renouvellement des tissus dans lesquels elles se trouvent. Elles sont qualifiées de multipotentes ou d'unipotentes. Les chercheurs ont identifié et continuent d'identifier ces cellules souches dans divers tissus : moelle osseuse, cerveau, sang, tissu adipeux, tissu cutané, intestin...

Nous nous proposons de décrire les cellules faisant l'objet du plus de recherche actuellement et porteuses d'espoir pour l'avenir.

B.III.3.a) Les cellules souches hématopoïétiques

Nous avons déjà présenté ces cellules puisqu'elles sont également présentes dans le sang de cordon ombilical. Chez l'adulte, elles sont présentes au niveau de la moelle osseuse. Les CSH sont le type de cellules souches qui est le mieux caractérisé puisque leur existence dans la moelle osseuse a été démontrée il y a plus de 50 ans (43). Elles peuvent se différencier en cellules de la lignée myéloïde (érythrocytes, granulocytes, monocytes/macrophages et plaquettes) et de la lignée lymphoïde (lymphocytes B et T et cellules natural killer). Leur proportion dans la moelle osseuse est rare (environ 1% des cellules) (44) et leur fréquence diminue avec l'âge.

Dans la moelle osseuse, l'environnement va dicter les états dans lesquels doivent se trouver les CSH. Ainsi selon les signaux émis par ce micro-environnement, les CSH seront soit quiescentes, soit en auto-renouvellement ou bien seront engagées dans une différenciation.

Il arrive parfois que les CSH quittent la moelle osseuse pour se retrouver dans la circulation sanguine périphérique. Ainsi il existe deux « réservoirs » et deux choix de prélèvement possibles des CSH : la moelle osseuse et le sang.

Le prélèvement de moelle s'effectue directement dans les os plats du bassin (crêtes iliaques postérieures) sous anesthésie générale. Ce prélèvement dure environ 1 heure et nécessite

une hospitalisation de 48 heures.

Le prélèvement de CSH périphériques nécessite au préalable que le donneur reçoive un facteur de croissance hématopoïétique permettant à une petite partie des cellules de la moelle osseuse de migrer vers le sang. On peut alors recueillir le sang veineux du patient : les CSH seront isolées et les autres composants retourneront dans la circulation sanguine du donneur (prélèvement par cytaphérèse). Ce type de prélèvement dure 3 heures environ.

A noter que le prélèvement de la moelle osseuse permet d'obtenir à la fois des CSH mais aussi le micro-environnement de ces dernières, ce qui n'est pas le cas pour le second type de prélèvement.

Le médecin choisit le type de prélèvement en fonction de la maladie dont souffre le patient, son âge et selon le protocole de préparation à la greffe. Par exemple, dans l'aplasie médullaire, le micro-environnement est indispensable à la greffe donc c'est le prélèvement de moelle osseuse qui sera utilisé. Pour les maladies qui nécessitent une grosse quantité de CSH, ce sera le prélèvement sanguin qui sera préféré (45).

B.III.3.b) Les cellules souches mésenchymateuses

Les CSM ont été d'abord identifiées et isolées à partir de la moelle osseuse. Ce n'est que par la suite que d'autres localisations ont été découvertes. On pense notamment à la gelée de Warthon ou bien à leur présence dans le tissu adipeux.

C'est Caplan en 1991 qui a introduit le nom de cellules souches mésenchymateuses pour caractériser cette population de cellules à l'origine notamment de l'os, du cartilage et des fibroblastes (46). Les CSM se différencient donc classiquement en ostéoblastes, chondroblastes, adipocytes ou fibroblastes.

Les CSM ont un grand potentiel d'amplification en culture mais n'expriment pas à leur surface de marqueur spécifique qui pourrait les définir précisément. Elles ont plutôt un ensemble de marqueurs dont certains varient en fonction de leur origine tissulaire (46).

Leur nombre est très réduit puisque seulement 0,001 à 0,01% des cellules de la moelle osseuse sont des CSM (47). Ces dernières années, de nouvelles localisations de CSM ont été découvertes. C'est ainsi que les biologistes ont trouvé des CSM dans le tissu adipeux où elles sont 100 à 1000 fois plus abondantes que dans la moelle. D'autres tissus comme la pulpe

dentaire ou des tissus ophtalmologiques renferment des CSM. Étant donné l'absence de marqueur spécifique, il est difficile de dire si ces nouvelles sources contiennent des CSM identiques ou proches des CSM de la moelle osseuse. Un comité, « The International Society for Cellular Therapy position statement » ou ISCT a proposé trois critères d'identification des CSM humaines. Pour être qualifiée de CSM, une cellule doit adhérer au plastique, exprimer certains marqueurs (CD105, CD73, CD90), être négative pour d'autres (CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α , CD19 et pour l'HLA-DR) et enfin avoir le potentiel de différenciation en ostéoblastes, chondroblastes et en adipocytes *in vitro*. Au regard de ces critères les cellules identifiées dans les tissus évoqués ci-dessus sont considérées comme des CSM.

Du fait de leur accessibilité et de leur potentiel de différenciation les CSM pourraient offrir de nombreuses perspectives thérapeutiques pour diverses pathologies mais leur rôle *in vivo* n'est pas encore clairement établi. Il semblerait que les CSM aient plusieurs fonctions. Leur rôle premier est d'assurer le renouvellement physiologique des cellules des tissus squelettiques et également en cas d'atteinte tissulaire. Deuxièmement, au niveau de la moelle osseuse, elles feraient parti du micro-environnement régulant l'auto-renouvellement ou la différenciation des CSH (46). Enfin elles auraient une action immunomodulatrice car elles peuvent interagir de manière directe ou indirecte avec les cellules de l'immunité.

Il existe de nombreuses études et essais cliniques basés sur l'utilisation des CSM et nous verrons dans la troisième partie que c'est ce type de cellules souches qui est à l'essai pour trouver un traitement efficace à l'arthrose.

B.III.3.c) Autres types de cellules souches adultes

Pour le professeur Henry Joyeux, « les cellules souches adultes sont présentes dans chaque organe pour son renouvellement naturel, malgré le vieillissement » (48). Ainsi mis à part les CSM et les CSH précédemment décrites, des cellules souches multipotentes ou unipotentes peuvent régénérer l'organe dont elles sont issues. Nous pouvons donc de manière exhaustive les présenter de manière succincte.

Commençons par les cellules souches de la peau qui est un tissu essentiel pour notre corps. Les scientifiques ont identifié plusieurs types (49) :

- Les cellules souches épidermiques responsables de la régénération quotidienne des différentes couches de l'épiderme.
- Les cellules souches du follicule pileux pouvant régénérer les follicules pileux mais aussi les glandes sébacées.
- Les cellules souches de mélanocytes responsables de la régénération de ce type cellulaire qui produit la mélatonine et joue donc un rôle essentiel pour la pigmentation de la peau.

Ces cellules souches présentent un intérêt majeur dans la reconstruction cutanée après des cicatrices ou des brûlures.

Des cellules souches intestinales ont également pu être identifiées. Elles sont multipotentes et donnent naissance à quatre principales lignées cellulaires : les entérocytes (rôle d'absorption), les cellules entéro-endocrines (sécrétion d'hormones peptidiques), cellules de Gobelet (sécrétion du mucus intestinal) et les cellules de Paneth (sécrétion des peptides antibactériens). Le tissu intestinal étant un tissu à renouvellement rapide (comme l'épiderme), on comprend le rôle primordial de ces cellules souches. De plus, leur utilisation pourrait permettre de traiter les pathologies inflammatoires intestinales.

Parlons maintenant d'un organe noble : le cœur. Le cœur a longtemps été considéré comme un organe incapable de se régénérer. Il est vrai que lors d'un infarctus, les cellules privées d'oxygène meurent en laissant une cicatrice. Cependant, il a été découvert des cellules souches cardiaques résidant dans le myocarde et donnant naissance aux myocytes, aux cellules musculaires lisses des vaisseaux et aux cellules endothéliales du cœur (50). Ainsi le cœur serait capable d'auto-renouvellement et le nombre de myocytes n'est pas défini à la naissance puisqu'ils peuvent être générés tout au long de la vie. L'utilisation de ces cellules souches pour le traitement des maladies cardiaques semble être une opportunité exceptionnelle.

Nous terminerons ce paragraphe en évoquant la présence de cellules souches qui laissent entrevoir de multiples possibilités : les cellules souches dans le système nerveux central.

De la même manière que pour le cœur, nous nous étions fait à l'idée que le cerveau ne peut se renouveler et que le nombre de neurones est décroissant au cours de la vie d'un individu.

La découverte de cellules souches neurales a bousculé toutes ces affirmations. En effet ce type de cellule permet d'obtenir, après différenciation, les trois grands phénotypes de cellules nerveuses, à savoir : les neurones, les astrocytes et les oligodendrocytes. Il est possible de stimuler les cellules souches neurales ou bien de les transplanter. On est donc en présence de stratégies prometteuses pour restaurer des zones de cerveau endommagées après une ischémie, un traumatisme ou suite à une maladie neurodégénérative (Parkinson, Alzheimer ou Huntington).

B.III.4 Les cellules souches pluripotentes induites ou IPS

Si les chercheurs avaient pour habitude d'opposer les cellules souches embryonnaires et adultes, la découverte en 2006 de cellules adultes « reprogrammables » a changé notre vision sur le mode de fonctionnement de ces cellules. Il est possible aujourd'hui de prélever quasiment n'importe quelle cellule d'un adulte et de la reprogrammer génétiquement afin de la rendre pluripotente, avec les mêmes capacités qu'une cellule souche embryonnaire. Cette prouesse a été réalisée pour la première fois en 2007 et on possède à ce jour des centaines de lignées cellulaires IPS qui ont pour origine la quasi totalité des types de cellules adultes (51).

Cette reprogrammation passe par des modifications génétiques ayant pour objectif de réactiver les signaux d'immaturité et de prolifération. Quatre gènes sont surexprimés dans les cellules souches embryonnaires : Oct3/4, Sox2, c-Myc et Klf4. En ajoutant ces quatre gènes et en les faisant s'exprimer dans une cellule adulte on obtient une IPS.

Pour faire pénétrer ces gènes dans la cellule, les premières méthodes utilisaient des vecteurs viraux dits intégratifs. L'utilisation de ce type de vecteur modifiait le génome de la cellule et entraînait un risque de mutation et d'expression prolongée de ces gènes. Pour corriger ce défaut, on utilise actuellement des plasmides ou encore le virus de Sendai. Ces derniers ont l'avantage de bien pénétrer dans la cellule et de disparaître ensuite au cours des divisions successives de la cellule. Le risque de mutation est donc moindre.

Malgré cette amélioration, il faut rester assez prudent car l'utilisation des IPS est très récente et pose encore des questions. Ainsi les chercheurs se sont aperçu que suite à la reprogrammation, certaines modifications du génome acquises au cours de la vie de la cellule persistaient. Il faudrait également avoir plus de recul par rapport aux modifications génétiques que l'on fait subir à la cellule afin de vérifier si l'on n'altère pas le fonctionnement

des IPS sur du long terme (51).

Certains scientifiques espèrent maintenant pouvoir créer des IPS sans modification génétique mais plutôt en agissant uniquement sur les conditions de culture.

Il est important de noter qu'on ne peut utiliser les IPS telles quelles *in vivo* car elles proliféreraient en tout type cellulaire et seraient à l'origine de tératome. Il est donc indispensable de les diriger vers le type cellulaire souhaité *in vitro* grâce à des facteurs de croissance spécifiques avant de les implanter. Il s'agit donc d'une étape de re-différenciation qui est bien maîtrisée aujourd'hui pour certains types de cellules comme les cellules cardiaques, sanguines, neurales ou encore rétiniennes.

Nous sommes donc en présence d'une découverte récente mais majeure de ces dernières années. Nul doute que de grandes avancées thérapeutiques pourront être réalisées grâce à ces cellules.

B.IV Les niches des cellules souches

La notion de niche de cellules souches doit être abordée afin de comprendre le comportement d'une cellule souche au sein de l'organisme.

C'est Schofield qui a évoqué pour la première fois en 1978, chez la souris, le concept de niche à cellule souche (52). C'est ainsi qu'il décrit le micro-environnement physiologique permettant aux cellules souches hématopoïétique en l'occurrence de pérenniser.

Depuis, de nombreuses expériences ont été effectuées pour confirmer la présence de niches et pour s'apercevoir que leurs rôles et leurs compositions étaient extrêmement complexes.

On peut définir une niche comme étant le micro-environnement qui abrite et protège les cellules souches des signaux de différenciation ou d'apoptose. Elle a un rôle dans le maintien de l'homéostasie tissulaire en équilibrant la balance entre quiescence, auto-renouvellement, différenciation et mobilisation.

Chaque niche est spécifique du tissu dans lequel elle se trouve et donc des cellules souches qu'elle contient. L'étude de plusieurs niches a permis néanmoins de regrouper et d'identifier des composants communs. Une niche se compose donc de cellules souches, de cellules du stroma qui communiquent entre elles mais aussi avec les cellules souches, d'une matrice extra-cellulaire où circulent des signaux, de vaisseaux sanguins ayant pour fonction le

transport des signaux et des cellules et enfin de fibres nerveuses qui servent à la communication de messages de la périphérie vers la niche.

Nous pouvons voir de manière un peu plus détaillée les différentes fonctions de la niche.

Un de ses rôles est de laisser certaines cellules souches à l'état de « repos », appelé état de quiescence correspondant à la phase G₀ d'un cycle cellulaire. Cette quiescence est primordiale puisqu'elle permet de conserver un stock de cellules souches afin de répondre à des besoins ultérieurs de prolifération ou de différenciation. Pour qu'une cellule reste en phase G₀, il faut qu'il y ait sécrétion par l'environnement de protéines inhibitrices du cycle cellulaire telles que les inhibiteurs des cyclin-dépendant kinase (CDK) (53).

La seconde fonction de la niche est d'émettre des signaux afin que certaines cellules sortent de leur état de quiescence pour s'auto-renouveler et ensuite se différencier. L'auto-renouvellement passe par une division cellulaire qui peut soit être symétrique et donner deux cellules filles identiques, soit être asymétrique et donner une cellule fille qui restera dans la niche conservant alors le statut de cellule souche et une autre cellule fille qui sortira de la niche pour suivre une différenciation. La niche a un rôle important dans ces divisions car la présence de facteurs provenant de l'environnement peuvent orienter une des deux cellules filles vers la différenciation. De même, l'ancrage des cellules souches dans la niche via les cellules de soutien ou via la matrice extra-cellulaire a une influence sur l'orientation du fuseau mitotique et donc sur le type de division que subira la cellule souche.

Enfin, la dernière fonction de la niche concerne l'adhésion ou la migration des cellules souches. Cela passe par les contacts cellule-cellule et/ou cellule-matrice extracellulaire. Des protéines trans-membranaires appelées cadhérines permettent les jonctions entre les cellules et donc l'adhésion entre elles. Les intégrines, elles, permettent une adhésion des cellules souches à la lame basale et donc un maintien dans la niche (43). A l'inverse, des molécules dégradant les intégrines et cadhérines ainsi que la sécrétion de facteurs chémoattractants sont à l'origine d'une migration des cellules souches en dehors de la niche.

Tous ces mécanismes de régulation sont très complexes et certains sont encore méconnus. La connaissance et la compréhension des niches cellulaires sont des facteurs importants pour pouvoir reproduire des conditions similaires *in vitro* pour contrôler le renouvellement et la différenciation des cellules souches.

B.V Bioéthique et réglementation encadrant l'utilisation des cellules souches

Nous avons vu au cours des chapitres précédents les multiples possibilités offertes par l'utilisation des cellules souches. La recherche est intense et avance vite ce qui nécessite un cadre réglementaire pour ne pas dépasser certaines frontières éthiques.

B.V.1 La bioéthique en France

Bioéthique vient de « bio » qui signifie « vivant » et « éthique » qui veut dire « ce qui est bon et utile pour l'homme » (54). Ainsi la bioéthique encadre les activités médicales et la recherche lorsque des éléments du corps humain sont utilisés. Son champ d'action comprend entre autres la greffe d'organes et de moelle osseuse, l'assistance médicale à la procréation, les recherches sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires et le dépistage de maladies faisant appel aux gènes.

La bioéthique doit tenter d'apporter des réponses aux questions posées par le progrès scientifique et technique tout en conservant les valeurs morales de notre société. Le respect de la dignité humaine et la protection des plus vulnérables en sont les priorités.

C'est ainsi que plusieurs lois bioéthiques ou révisions de loi se sont succédé.

Les cellules souches embryonnaires ont soulevé de nombreux débats éthiques puisque comme nous l'avons vu, leur prélèvement nécessite la destruction d'un embryon et donc potentiellement d'une vie humaine.

La loi actuelle est celle du 6 Août 2013 qui vient modifier la loi du 7 Juillet 2011 « relative à la bioéthique en autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires » (55).

En voici le contenu : « Aucune recherche sur l'embryon humain ni sur les cellules souches embryonnaires ne peut être entreprise sans autorisation. Un protocole de recherche conduit sur un embryon humain ou sur des cellules souches embryonnaires issues d'un embryon humain ne peut être autorisé que si :

- La pertinence scientifique de la recherche est établie.
- La recherche, fondamentale ou appliquée, s'inscrit dans une finalité médicale.

- En l'état des connaissances scientifiques, cette recherche ne peut être menée sans recourir à ces embryons ou ces cellules souches embryonnaires.
- Le projet et les conditions de mise en œuvre du protocole respectent les principes éthiques relatifs à la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires ».

Ensuite, la loi précise le type d'embryon pouvant être utilisé pour effectuer les recherches. Il s'agit uniquement d'embryons conçus *in vitro* dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et qui ne font plus l'objet d'un projet parental. Le couple doit être consentant pour permettre les recherches sur « leur » embryon. Enfin, c'est l'Agence de la biomédecine qui est compétente dans la délivrance des autorisations de protocoles de recherche.

Nous venons de voir que la recherche sur les cellules souches embryonnaires est très réglementée. D'autres types de cellules souches peuvent être concernées par la bioéthique. Par exemple, l'utilisation du cordon ombilical pour le prélèvement de cellules souches hématopoïétiques (sang du cordon) ou mésenchymateuses (gelée de Wharton) a fait débat ces dernières années.

Longtemps considéré comme un déchet opératoire, le cordon ombilical et les cellules qu'il contient ont désormais le même statut que celui des tissus, cellules et produits du corps humain. Ceci a été reconnu dans l'article 7 de la loi bioéthique de juillet 2011 (56). Cette loi confirme que la collecte des cellules du cordon ne peut se faire que dans le cadre d'un don anonyme et gratuit. Proposés par des banques privées à l'étranger, le prélèvement et la conservation à des fins autologues pour un usage futur hypothétique est interdit. La conservation à des fins personnelles ou intrafamiliales est autorisée uniquement si une nécessité thérapeutique a été reconnue au moment de la naissance et du prélèvement. Il existe actuellement en France cinq banques publiques de sang de cordon et plus de trente maternités où le prélèvement est possible. Cette pratique est peu développée ce qui oblige la France à acheter des greffons à prix d'or à l'étranger.

L'accès aux cellules souches adultes est, lui, facilité car le prélèvement est effectué sur un adulte et seul le consentement éclairé de la personne est nécessaire. Néanmoins, la découverte des IPS et tous les espoirs que suscitent ces cellules souches amènent à se poser les bonnes questions. En effet, il deviendra possible un jour de recréer tout type d'organe et si

cette avancée scientifique profitera aux personnes nécessitant une greffe, on peut également craindre des dérives. Cela offrirait à n'importe quel humain le « pouvoir de jouvence » en remplaçant ses organes vieillissants par des organes jeunes.

De plus, certaines études récentes se sont penchées sur la reprogrammation d'une cellule non pas jusqu'à la pluripotente mais jusqu'à la totipotente (57). Cette nouvelle découverte laisse entrevoir qu'à partir d'une cellule différenciée d'un adulte, on puisse obtenir une cellule souche totipotente qui, placée dans l'utérus d'une mère porteuse donnerait naissance à un clone de la personne donneuse (58). Le débat sur le clonage thérapeutique est ainsi relancé même s'il est formellement interdit en France.

B.V.2 Quel statut pour les thérapies cellulaires ?

Les différents types de cellules souches offrent de multiples possibilités de thérapies cellulaires. Nous verrons dans un autre chapitre que certaines thérapies cellulaires sont déjà utilisées (à base de cellules souches hématopoïétiques surtout) et que de nombreuses autres sont en cours d'évaluation au travers d'essais cliniques. La multiplication du nombre de thérapies cellulaires a nécessité un nouveau statut juridique. C'est une réglementation européenne récente qui donne un nouveau cadre avec le changement de statut des « thérapies cellulaires » qui deviennent des « médicaments de thérapie innovante » (59). Ainsi, tous les produits de thérapie cellulaire, de l'ingénierie tissulaire, les produits combinant dispositifs médicaux et cellules/tissus ainsi que les produits de thérapie génique ont maintenant le statut de médicament. Cette nouvelle réglementation a pour but de faciliter et stimuler la recherche dans un cadre harmonisé au niveau européen. Elle vise aussi à développer la qualité et la sécurité de ces nouveaux produits et améliorer l'évaluation de ces produits innovants avec la mise en place d'un comité des thérapies innovantes à l'Agence de médecine européenne : le Committee for Advanced Therapies (CAT).

En réalité, trois grands types de produits existent aujourd'hui et chacun relève d'un cadre réglementaire spécifique. On retrouve les médicaments de thérapie innovante (MTI), les médicaments de thérapie innovante préparés ponctuellement (MTI-PP) et enfin les préparations.

B.V.2.a) Les MTI

Ces médicaments regroupent les médicaments de thérapie génique, de thérapie cellulaire somatique, ceux issus de l'ingénierie tissulaire et cellulaire et les médicaments combinés de thérapie innovante. Ils sont régulés au niveau national pour les essais cliniques et au niveau européen pour leur mise sur le marché et l'ensemble des procédures de suivi post-autorisation.

Un produit est un MTI si des modifications substantielles sont réalisées au cours de la production des cellules. Par modification substantielle on entend le découpage, broyage, centrifugation, stérilisation, concentration ou purification des cellules, congélation, cryoconservation... En résumé une modification substantielle entraîne une modification des propriétés biologiques initiales des cellules ou tissus. L'autre critère qui permet de définir si le produit est un MTI est la fonction essentielle du tissu ou cellule en question et du mode d'action du produit. Ainsi le produit est un MTI si les cellules ou les tissus ne sont pas destinés à être utilisés pour la ou les même(s) fonction(s) essentielle(s) chez le receveur et chez le donneur.

Étant considérés comme des médicaments, ces produits doivent être fabriqués selon les Bonnes Pratiques de Fabrication applicable aux médicaments à usage humain. De même les Bonnes Pratiques de Laboratoire pour les études de toxicologie et les Bonnes Pratiques Cliniques pour les essais cliniques doivent être respectées.

B.V.2.b) Les MTI-PP

Si un produit répond à la définition d'un MTI, la question peut être posée si le produit ne répond pas aussi à celle d'un MTI-PP. Ainsi, un MTI-PP est un MTI qui, de part ses caractéristiques et sa destination, est préparé de façon ponctuelle à l'attention d'un malade déterminé. Il ne peut être utilisé que dans l'Etat où il est fabriqué et autorisé. En aucun cas il ne pourra être exporté. Ce type de produit nécessite aussi une AMM et nécessite même de prévoir un suivi particulier de l'efficacité et des effets indésirables ainsi qu'une gestion adaptée des risques. Les exigences pour le développement non clinique et pour les essais cliniques sont les mêmes que celles des MTI.

Nous découvrirons dans la troisième partie que certains essais cliniques sur l'arthrose en France utilisent ce type de produit.

B.V.2.c) Les préparations

Un produit a le statut de préparation s'il ne répond pas aux deux critères cités précédemment (pas de modifications substantielles et les cellules et/ou tissus sont utilisés pour une même fonction essentielle chez le receveur et chez le donneur).

Pour être mis sur le marché le produit doit obtenir, au préalable, une autorisation de « procédés de préparation et de conservation » et les indications thérapeutiques revendiquées doivent être validées. L'autorisation de mise sur le marché est ici nationale, il n'existe pas de procédure d'autorisation européenne.

Il apparaît donc que la réglementation sur les thérapies cellulaires entre autres est complexe et que parfois la limite entre deux types de produits n'est pas si clairement établie.

Pour les chercheurs et les laboratoires désireux de tester et développer une thérapie utilisant des cellules souches, il est primordial d'effectuer une demande de classification du produit pour s'assurer que le développement conduit sera adapté au cadre réglementaire applicable. En cas de doute sur le type de produit utilisé, l'Agence Nationale de la Santé et du Médicament doit être consultée et elle pourra orienter le demandeur si besoin vers le CAT.

B.V.3 La problématique des brevets

Derrière les avancées scientifiques et les nombreuses thérapies cellulaires qui pourraient arriver dans un futur assez proche, se cachent d'énormes investissements financiers. Aujourd'hui, lorsqu'un laboratoire se lance dans la création d'un nouveau médicament et que la recherche aboutit à la commercialisation du produit, un brevet protège ce nouveau médicament et le laboratoire peut donc le commercialiser de manière exclusive pendant de nombreuses années afin d'obtenir un retour sur investissement. En Europe, les brevets sont délivrés par l'office européen des brevets (OEB) et permettent la protection d'une

« invention » pour une période limitée. L'invention peut concerner un produit, un procédé ou un dispositif et pour être brevetable elle doit être nouvelle, susceptible d'application industrielle et impliquer une activité inventive (60).

Qu'en est-il pour les produits à base de cellules souches ?

Depuis 2008, trois demandes de brevets déposées à l'OEB concernant des thérapies issues de cellules souches embryonnaires ont été rejetées. Le motif de refus, commun aux trois demandes, était le suivant : « A partir du moment où un embryon est détruit, que ce soit au cours des travaux de recherche ou lors du développement industriel, la délivrance de brevet n'est pas possible ».

Ainsi, dès que l'on utilisera une lignée de cellules souches embryonnaires obtenues par destruction de l'embryon, le brevet ne pourra être accordé. La cour de justice de l'union européenne (CJUE), également sollicitée pour le dépôt de brevet, arrivait aux mêmes conclusions.

Ce refus de brevetabilité ne concerne donc que les cellules souches embryonnaires et les autres types de cellules souches peuvent elles bénéficier de brevets.

Ces décisions ne permettent donc pas aux chercheurs d'exploiter commercialement le produit issu des recherches avec des cellules souches embryonnaires. On peut donc imaginer que ces mesures n'encouragent pas les entreprises privées à investir dans la recherche sur ce type de cellules même si actuellement la recherche fondamentale est le plus souvent financée par des investissements publics (60). Autre conséquence, la recherche sur les cellules souches pluripotentes d'autres origines, comme les cellules IPS, risque d'être au contraire en augmentation car elles ne sont pas confrontées à ce problème.

B.V.4 Législation sur les cellules souches à l'étranger

Il est difficile de regrouper et d'étudier toutes les législations existantes dans le monde. De la même manière qu'en France c'est la recherche sur les cellules souches embryonnaires qui fait débat.

On peut distinguer trois catégories de pays selon leur législation en matière de recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines.

B.V.4.a) Politique de recherche permissive

Elle concerne des pays comme la Chine, le Royaume-Uni, l'Espagne, l'Inde, l'Australie, Israël ou bien la Russie.

Citons quelques exemples de législation comme celle de la Chine où le clonage reproductif est interdit comme dans tous les pays mais où le clonage thérapeutique est autorisé. Ainsi la Chine dispose de larges possibilités pour la recherche et le développement sur les cellules souches embryonnaires. Ce pays possède donc un environnement libre et favorable pour l'usage thérapeutique des cellules souches. De nombreuses cliniques se sont développées promettant une médecine régénérative basée sur les cellules souches. Jusqu'en mai 2009, les essais cliniques démontrant l'efficacité des traitements n'étaient pas exigés par les autorités (61). Ceci a changé depuis mais des dérives existent encore.

En Espagne ou au Royaume-Uni, une distinction est faite entre un pré-embryon et un embryon. Un pré-embryon est un embryon produit *in vitro* et formé par un groupe de cellules résultant de la division progressive de l'ovocyte depuis sa fécondation jusqu'au 14ème jour. En Espagne, la création de pré-embryon destiné spécifiquement à la recherche est interdite mais la recherche médicale peut avoir à disposition les embryons humains ayant perdu leur capacité de développement biologique ainsi que les embryons ou fœtus morts avec consentement des donneurs. Enfin, la conservation de sang de cordon est très populaire en Espagne ce qui en fait un des pays ayant la plus grande quantité de cordon stockée.

Enfin Israël a été un des premiers pays à étudier les cellules souches et reste un pays leader dans le domaine des biotechnologies. Il n'y a pas de problème sur le statut de l'embryon puisque dans la religion juive, l'embryon n'est considéré comme une vie humaine qu'à partir du 40ème jour de son développement. Ainsi, la recherche sur les cellules souches embryonnaires est largement autorisée et il leur apparaît éthiquement acceptable de créer des embryons uniquement pour la recherche.

B.V.4.b) Politique de recherche flexible

C'est le cas de la France et d'autres pays comme le Canada, les États-Unis, le Brésil, les Pays-Bas, l'Afrique du sud, la Norvège et la Suisse.

Dans ces pays et de façon identique à la France, la recherche est exceptionnellement possible sur les embryons conçus *in vitro* et ne faisant plus l'objet d'un projet parental. Le consentement éclairé du couple donneur est nécessaire.

Aux États-Unis, peu après sa prise de fonction en 2009, le président Barack Obama avait autorisé et débloqué un financement national de recherche sur les cellules souches embryonnaires.

Depuis, de nombreux brevets ont été déposés et la *Food and Drug Administration (FDA)*, qui est l'équivalent de notre ANSM, approuve les essais pré-cliniques et cliniques.

B.V.4.c) Politique de recherche restrictive

Une telle politique est menée en Allemagne, Autriche, Irlande, Italie ou Pologne.

Dans ces pays, des lois interdisent la recherche sur l'embryon mais un assouplissement est en train d'être obtenu notamment en Allemagne ou en Suisse. En Allemagne la recherche n'est possible qu'à partir de cellules souches embryonnaires importées et obtenues dans le pays d'origine sous certaines conditions. L'autorisation est délivrée par l'Institut Robert Koch et sans cette autorisation, les chercheurs s'exposent à des sanctions pénales. L'Allemagne préfère donc investir dans la recherche sur les cellules souches adultes.

Enfin, des pays comme la Pologne ou l'Irlande sont fortement opposés et aucune recherche sur les cellules souches embryonnaires n'est possible.

Nous venons d'effectuer un tour d'horizon des différents règlements à respecter pour l'utilisation des cellules souches en France ou à l'étranger. Si la France avait du retard par rapport à d'autres pays ayant une politique davantage permissive sur la recherche et l'utilisation des cellules souches, les lois et révisions de loi de bioéthique qui se sont succédé depuis 2004 ont permis à la France de rattraper ce retard. Cependant, l'impossibilité actuelle en Europe de breveter une innovation issue de cellule souches embryonnaires peut freiner le développement de thérapies dont nous allons voir les différentes étapes dans le chapitre suivant.

B.VI Développement d'une thérapie par cellules souches

Les premières cellules souches embryonnaires humaines ont été isolées en 1998 et la découverte des IPS date de 2006. Plusieurs années se sont donc écoulées depuis mais aucune thérapie à base de cellules souches embryonnaires ou IPS n'est utilisée en routine aujourd'hui. Nous savons que le monde scientifique est très investi dans la recherche de ces nouvelles thérapies et nous pourrions tout simplement nous demander pourquoi leur développement requiert autant de temps.

Il est donc question ici de détailler les différentes étapes à suivre dans la mise au point d'une thérapie par cellules souches.

Puisque les thérapies cellulaires à base de cellules souches ont le statut de médicament, leur processus de développement sera identique à celui d'un médicament « classique ».

B.VI.1 Évaluation préclinique

Cette première étape se déroule *in vitro* et chez l'animal. Il est obligatoire de mener des études précliniques avant le début de toute recherche relative à l'utilisation d'un produit de thérapie cellulaire chez l'humain. Le but de cette première étape est d'examiner les risques éventuels liés à l'utilisation de ces cellules et à leur mode d'administration. On établit alors le profil toxicologique du produit. En ce qui concerne les produits de thérapie cellulaire, les risques à identifier sont les suivants (liste non exhaustive) :

- tumorigénicité : il a été démontré que certains produits de thérapie cellulaire pouvaient favoriser la formation de tumeurs. Ainsi lors de cette étape, le potentiel de formation de tumeurs des cellules souches utilisées doit être établi.
- bio-distribution et greffage : il faut être certain que les cellules injectées restent au niveau du tissu ciblé par la thérapie. Il faut surveiller le risque que ces cellules migrent partout dans l'organisme et s'installent dans les tissus non ciblés.
- immunogénicité : c'est la capacité du produit à induire une réponse immunitaire suite à son administration. Le risque le plus grand est le rejet de la greffe.
- formation de tissu ectopique : correspond au risque que les cellules souches utilisées se différencient en types cellulaires non désirés.

- voie d'administration du produit : ces risques concernent les dommages tissulaires que peut générer l'administration du produit.

Cette étape doit également permettre de se pencher sur la durée, l'ampleur et la reproductibilité de l'effet recherché et observé. Les avantages potentiels du nouveau produit sont donc évalués. De même, le mécanisme d'action doit être analysé le plus finement possible afin d'élaborer un produit spécifique pour l'évaluation clinique.

Enfin c'est grâce à cette phase et à l'administration de différentes doses du nouveau produit chez des modèles animaux que sera déterminé la dose à administrer chez l'homme. Cette dose est déterminée à partir de la dose sans effet toxique chez l'animal.

La phase pré-clinique est donc incontournable et conditionne grandement l'entrée en phase clinique.

B.VI.2 Évaluation clinique

Elle correspond au début de l'expérimentation chez l'homme. Elle doit permettre d'évaluer la sécurité du produit ainsi que son efficacité. Ainsi, cette expérimentation se fera à la fois sur des sujets sains et sur des sujets malades. L'évaluation clinique pourra arriver à son terme si la sécurité du produit est établie et si la balance bénéfice/risque est positive. En France c'est l'ANSM qui délivre les autorisations d'essais cliniques. De plus, l'essai doit recevoir l'avis favorable du comité consultatif de protection des personnes.

On distingue trois phases au cours d'un essai clinique :

- la phase I : elle se déroule sur un nombre très limité de patients volontaires, sous strict contrôle médical. L'objectif est d'évaluer la sécurité d'emploi du produit, son devenir dans l'organisme, sa tolérance par le patient ainsi que les effets indésirables potentiels.
- la phase II : cette phase doit démontrer une éventuelle efficacité de la thérapie innovante. Les essais sont réalisés sur un nombre plus important de patients et la dose optimale, c'est à dire la posologie, doit être déterminée. Pour évaluer l'efficacité du produit, des études comparatives peuvent être effectuées :

produit de l'essai *versus* placebo.

- La phase III : c'est la phase finale avant la mise sur le marché. Le nombre de patients est beaucoup plus important et doit représenter le plus possible l'ensemble de la population susceptible de recevoir le traitement. Ces essais permettent de comparer l'efficacité thérapeutique du produit innovant par rapport à un traitement existant ou bien par rapport à un placebo. Les études en double aveugle (le patient et le médecin ne savent pas si le produit injecté est la thérapie innovante ou si c'est un placebo) sont le type d'étude ayant le plus de valeur scientifiquement parlant.

Lorsque toutes ces étapes ont été effectuées correctement et que l'efficacité du produit a été démontrée, l'autorisation de mise sur le marché peut alors être délivrée. Il existe une dernière phase après la mise sur le marché, la phase IV, qui permet de suivre l'utilisation à long terme du produit dans des conditions réelles afin de détecter des effets indésirables graves ou bien des complications tardives qui ne peuvent être détectées dans les phases précédentes.

Si au premier abord l'enchaînement des différentes phases et l'obtention de l'AMM peuvent paraître simples, la réalité est toute autre. En effet, de nombreux traitements potentiels à base de cellules souches ne vont pas au bout des différentes phases et se terminent par un échec (62). L'arrêt de l'essai clinique peut être causé par différents facteurs :

- toxicité trop importante
- efficacité faible ou non supérieure aux thérapies existantes
- coût prohibitif
- efficacité supérieure d'une autre thérapie à l'essai

B.VI.3 Financement des essais cliniques

La réalisation d'un essai clinique représente un investissement très important. Ainsi, toutes les recherches pour démontrer qu'un nouveau traitement est sûr et efficace avant l'AMM et la commercialisation du produit peuvent coûter des millions voire des centaines de millions d'euros. Étant donné qu'un grand nombre d'essais cliniques n'aboutiront pas à la mise sur le marché de la nouvelle thérapie, le secteur de l'innovation thérapeutique s'avère être une

entreprise très risquée pour les industriels. Ceci explique qu'aujourd'hui, la majorité des recherches sur ces nouvelles thérapies s'effectue dans des laboratoires universitaires ou dans des hôpitaux financés via des fonds publics nationaux, européens ou internationaux. Cependant, l'apport de fonds supplémentaires par des entreprises privées pourrait accélérer la recherche et la mise au point de ces thérapies.

On peut distinguer deux types d'entreprises participant au développement de thérapies à base de cellules souches. D'une part l'entreprise qui exploite déjà des médicaments homologués. Elle peut alors réinvestir ses revenus dans la création de nouveaux traitements. C'est le genre d'entreprise implantée depuis de nombreuses années et qui emploie un très grand nombre de personnes. Elle possède ses propres laboratoires de recherche et développement pour développer ses produits et il n'est pas rare qu'elle achète des technologies en cours de mise au point à des universités ou à des plus petites entreprises pour terminer leur développement et les commercialiser.

D'autre part, il existe de jeunes entreprises ne possédant aucun médicament homologué et qui s'emploient à produire les données nécessaires à l'obtention d'une AMM. Elles sont financées par des investisseurs spéculatifs qui ont l'espoir de générer un retour sur investissement dans le futur.

Pour le moment, ces thérapies et technologies innovantes sont relativement jeunes et sont donc perçues comme risquées par les plus grands groupes pharmaceutiques. Leurs investissements pour la commercialisation de ces produits restent donc en proportions modestes.

B.VI.4 Accès au traitement pour les patients

Lorsque l'AMM a été obtenue, une longue procédure visant à obtenir le remboursement de la thérapie innovante par les systèmes de santé ou d'assurance propre à chaque pays débute. Par exemple en France, c'est la commission de la transparence de la HAS qui évaluera le service médical rendu et qui décidera si ce produit fera parti de la liste des produits et spécialités remboursables par la sécurité sociale. Le prix de vente sera lui fixé par le comité économique des produits de santé et le taux de remboursement sera établi par l'union nationale des caisses d'assurance-maladie. En Europe, cette procédure est mise en place pays

par pays et aux États-Unis États par États. Cette procédure peut être longue et il peut s'écouler plusieurs années entre l'obtention de l'AMM et la mise à disposition des traitements pour les patients.

Il apparaît clairement que le développement d'un nouveau traitement à base de cellules souches mobilise et requiert des personnes d'horizons divers : les chercheurs, les patients, les investisseurs, les organismes de réglementation et les agences de remboursements.

On comprend donc plus aisément que la mise au point de ces nouvelles thérapies est un processus long et complexe et que les différentes étapes doivent être franchies pas à pas.

B.VII Utilisations possibles des cellules souches

B.VII.1 Modélisation des maladies

Afin de pouvoir traiter une pathologie, les chercheurs ont besoin de pouvoir étudier les mécanismes qui entraînent la maladie, il s'agit de la biologie fondamentale. Sans compréhension de ces mécanismes, il est difficile de pouvoir trouver un traitement adapté.

Ainsi, tout chercheur aimerait pouvoir analyser des cellules « pathologiques » au laboratoire afin d'identifier les anomalies qui ont conduit à son dysfonctionnement. Cela est souvent limité par l'accès au patient et la disponibilité de tissus malades. Prenons l'exemple de maladies neurodégénératives : le prélèvement de neurones d'un patient impose une chirurgie très lourde et ne permet d'obtenir qu'un faible nombre de cellules neurales, ceci est donc peu envisageable car les chercheurs ont besoin de répéter leur expérience de multiples fois afin de comprendre un mécanisme. Un grand nombre de cellules pathologiques doivent donc être à leur disposition pour mener au mieux leurs expériences.

Une des alternatives est l'utilisation de modèles animaux tels que les souris. Elles sont largement employées en recherche car elles peuvent reproduire des symptômes semblables à ceux des maladies humaines. Néanmoins, le modèle animal n'est pas parfait car on ne peut jamais développer tous les aspects de la biologie ou d'une maladie humaine. De plus, des problèmes éthiques sont apparus ces dernières années par rapport à l'utilisation des animaux

en recherche et l'expérimentation animale tend aujourd'hui à être réduite au minimum. Ces modèles requièrent en plus un temps de création assez long et sont onéreux.

C'est dans ce contexte que les cellules souches, et notamment les cellules souches pluripotentes induites, peuvent offrir une solution pour la modélisation des maladies. Nous savons que les IPS ont une grande capacité d'auto-renouvellement et qu'elles peuvent se différencier en n'importe quelle cellule de l'organisme. Elles peuvent donc offrir aux chercheurs des lignées de cellules qui sont en principe impossible à obtenir : c'est l'exemple des neurones mentionné plus haut.

Les cellules souche embryonnaires offrent également cette possibilité mais les IPS ont l'avantage d'être obtenues en reprogrammant les propres cellules d'un patient pour générer ensuite des cellules spécifiques au patient. Ainsi, si une maladie a une cause génétique, les cellules du patient en question porteront elles aussi cette anomalie génétique.

Lorsqu'on analyse une cellule « malade » on identifie les anomalies au stade tardif de la maladie, lorsque cette dernière est cliniquement parlante. Or, les mécanismes cellulaires à l'origine de la maladie ont souvent eu lieu bien avant ce stade là. Grâce à la modélisation de la maladie via les IPS, le chercheur peut suivre la différenciation de la cellule reprogrammée et peut identifier les événements qui surviennent à des stades précoces ce qui offre une meilleure compréhension de la pathologie. Ceci est résumé par le schéma ci-après :

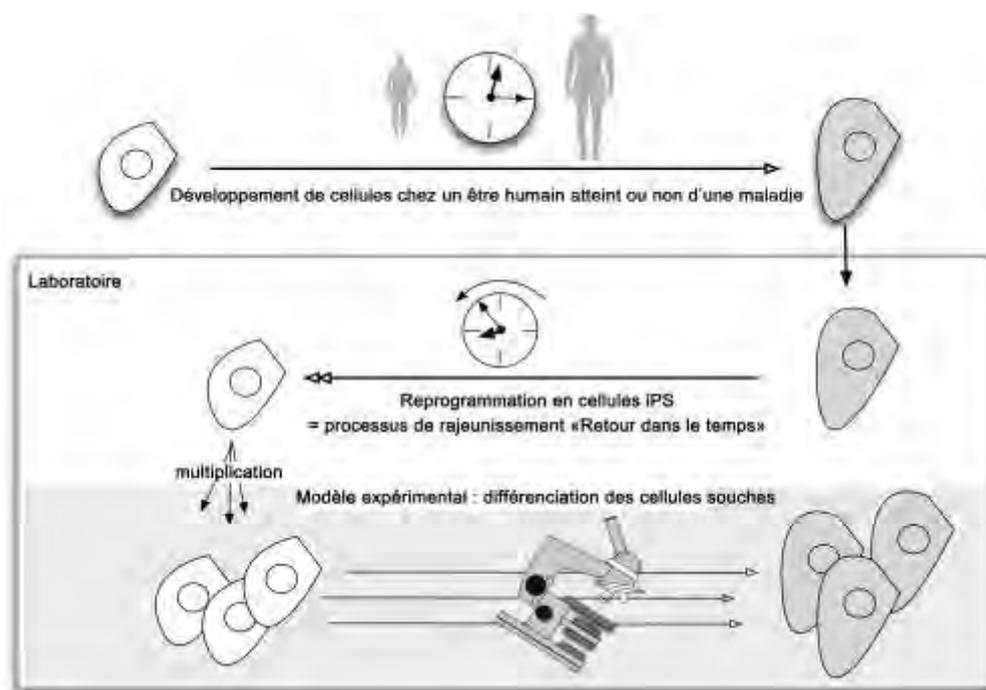


Figure 14 : Modélisation d'une maladie à l'aide de cellules IPS

(disponible sur : www.eurostemcell.org)

La découverte des cellules IPS est récente mais plusieurs études ont décrit la production de cellules IPS spécifiques de maladies. Certaines études sont parvenues à recréer certaines caractéristiques de la maladie concernée et ont tenté d'en créer un modèle cellulaire (63).

Un exemple récent de modélisation pathologique à l'aide de cellules IPS est celui de la maladie d'Alzheimer. En 2012, Israel et coll ont créé des cellules IPS à l'aide d'échantillons de peau obtenus chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Des prélèvements identiques ont été effectués chez des individus sains. Des cellules nerveuses ont ensuite été créées en laboratoire à partir de ces prélèvements. Après avoir isolé et purifié les cellules nerveuses, ils ont comparé celles des individus porteurs de la maladie et celles des individus sains. Alors que l'on sait que la maladie d'Alzheimer apparaît le plus souvent à partir d'un certain âge et que le processus menant à la pathologie prend de nombreuses années, des différences sont apparues entre les cellules nerveuses des deux classes de donneurs. Après 8 semaines de culture, les cellules nerveuses originaires des individus malades possédaient bien les caractéristiques de la maladie. Ainsi cette étude a démontré que certaines caractéristiques de la maladie d'Alzheimer pouvaient être modélisées en laboratoire à l'aide de cellules IPS (63). Ceci ouvre une nouvelle voie pour comprendre les causes de la maladie et pour élaborer un nouveau traitement efficace.

Un autre exemple de modélisation pathologique avec IPS concerne une maladie incurable : l'amyotrophie spinale. Cette maladie se caractérise par une faiblesse musculaire et une hypotonie dues à la dégénérescence et à la perte des motoneurones. Cette maladie débute chez le jeune enfant et l'empêche de s'asseoir seul, de se mettre debout et de marcher. La faiblesse musculaire touche en premier lieu les muscles des jambes et du tronc. Les cellules nerveuses lésées sont très difficiles à obtenir à partir de donneurs mais des chercheurs tentent de les générer à partir de cellules IPS (64). Ces travaux permettraient d'étudier l'apparition de la maladie dans les cellules nerveuses en cours de développement.

Malgré ces promesses, il faut garder à l'esprit que les IPS sont un type de cellules relativement jeunes et qui nécessitent de comprendre encore mieux leur processus de reprogrammation, leur effet sur les cellules et les risques potentiels associés. De plus, les cellules IPS permettent de recréer les caractéristiques de la maladie lorsque celle-ci est due à une anomalie au niveau de l'ADN de la cellule. Cependant d'autres processus biologiques sont également à l'origine de pathologies et il est difficile pour le moment de recréer ces caractéristiques indépendantes de l'ADN avec les cellules IPS. Enfin, le dernier défi qui attend les chercheurs est de parvenir à

créer des structures beaucoup plus complexes pour modéliser efficacement les caractéristiques d'une maladie qui porte atteinte à plusieurs tissus et organes et donc à différents types de cellules.

Ces défis n'empêchent pas d'affirmer que la modélisation pathologique revête un grand intérêt pour de nombreuses maladies. D'après l'Inserm, des lignées de cellules IPS sont déjà disponibles pour étudier des dizaines de maladies comme la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Parkinson, le diabète de type 1, la maladie de Huntington... (51).

B.VII.2 Criblage pharmacologique et tests toxicologiques

Le criblage pharmacologique vise à étudier l'effet de composés chimiques sur le développement de cellules normales ou pathologiques. Prenons l'exemple d'un médicament dont on voudrait tester l'efficacité sur une maladie génétique rare. Étant donné le petit nombre de patients atteints par cette maladie, peu d'études peuvent être entreprises. L'utilisation des cellules souches et encore plus celle des IPS sera la solution. On pourra en effet prendre une lignée de CSE porteuse de la mutation génétique identifiée lors d'un diagnostic préimplantatoire et faire se renouveler cette lignée pour disposer de nombreuses cellules sur lesquelles on pourra tester notre molécule. Autre possibilité, créer des cellules IPS à partir d'un individu porteur de la maladie, ce qui permettra aux chercheurs de détenir des cellules pathologiques pouvant être différenciées en toutes les cellules de l'organisme afin de tester l'efficacité et la toxicité du médicament sur un ensemble de cellules.

Les possibilités qu'offrent ces cellules souches permettraient également un usage limité des animaux pour ces tests.

B.VII.3 Thérapie cellulaire ou médecine régénérative basée sur les cellules souches

C'est la possibilité qui est sûrement la plus attrayante pour le monde scientifique et même la population en générale ; celle de pouvoir remplacer les cellules, les tissus ou même un organe défaillant par des semblables développés en laboratoire à partir de cellules souches.

Pour se rendre compte des avancées scientifiques, nous nous proposons de faire un tour

d'horizon non exhaustif des différentes thérapies à bases de cellules souches déjà existantes ou bien en cours d'essais cliniques. **Volontairement, les thérapies cellulaires portant sur l'arthrose ne seront pas abordées puisqu'elles seront développées en détail dans la dernière partie.**

B.VII.3.a) Thérapies cellulaires existantes

- Grefe de cellules souches hématopoïétiques

La thérapie à base de cellules souches hématopoïétiques est utilisée en routine depuis de nombreuses années. Cette greffe permet en quelque sorte de faire une remise à zéro du système sanguin et/ou immunitaire. Elle consiste à remplacer les cellules malades par des cellules saines.

La greffe de cellules souches hématopoïétiques n'est pas du tout un acte chirurgical comme une greffe d'organe, c'est une simple transfusion. On apporte au patient des cellules souches qui pourront se différencier en plaquettes, globules rouges et globules blancs.

On trouve deux types d'indication à cette thérapie cellulaire :

- Assurer la reconstitution hématopoïétique après un traitement intensif et potentiellement myéloablatif d'une maladie maligne.
- Corriger un déficit constitutionnel ou acquis du tissu hématopoïétique présent par exemple dans les aplasies médullaires, déficits immunitaires combinés sévères ou hémoglobinopathies.

Nous avons vu dans un chapitre précédent qu'il existait plusieurs sources de celles souches hématopoïétiques : les CSH de la moelle osseuse, les CSH périphériques (circulation sanguine) et le CSH issues du sang de cordon.

De même, le greffon de CSH peut avoir plusieurs origines :

- il peut provenir du patient lui-même, c'est une greffe autologue.
- il peut provenir d'un donneur issu de la même famille (greffe allogénique apparentée) ou non (greffe allogénique non apparentée).
- il peut provenir d'une banque de sang de cordon : greffe allogénique de sang de cordon.

Le choix du type de greffe sera fait en fonction de la compatibilité HLA et de la quantité de

CSH à administrer au patient.

Un donneur HLA compatible est en priorité recherché dans la famille, le pourcentage de réussite d'en trouver un est de 25% (65). Si tel n'est pas le cas, le patient est inscrit sur une liste d'attente pour comparer son groupage HLA avec celui des donneurs inscrits sur les registres. Il existe des registres nationaux, européens et un registre international. Si aucun donneur compatible n'est repéré on peut envisager une greffe de CSH de sang de cordon. Ce type de CSH est globalement plus tolérant que les autres sources de CSH, ainsi on pourra l'utiliser chez un patient même si le groupage HLA n'est pas totalement identique. Cependant, la quantité de CSH dans un greffon issu de sang de cordon est inférieure à celui des autres greffons (moelle osseuse ou périphérique). L'utilisation du greffon de sang de cordon a donc d'abord été exclusivement utilisée en pédiatrie. Des recherches récentes tentent d'utiliser deux greffons plutôt qu'un pour contourner ce problème.

Ainsi les cellules souches hématopoïétiques sont aujourd'hui incontournables dans le traitement de certaines maladies.

- Greffe de cellules de la peau

Au même titre que les greffes de CSH, ce type de greffe est réalisé depuis des décennies et la thérapie cellulaire a changé la vie des grands brûlés. La thérapie cellulaire intervient lorsque l'autogreffe de peau n'est plus possible, c'est à dire lorsque la surface brûlée dépasse 70% du corps. A ce stade là, il n'est plus possible de trouver suffisamment de peau saine à prélever sur le patient pour recouvrir les parties brûlées. Des cellules souches cutanées sont donc prélevées et mises en culture afin d'obtenir des feuillets épidermiques d'une surface totale nettement plus importante que la surface prélevée (jusqu'à 1000 fois plus importante). Ce traitement est très onéreux et n'est réservé que pour des brûlures étendues du 3ème degré. De plus, ce n'est pas encore un traitement parfait car seul l'épiderme peut être remplacé par cette thérapie. Nous ne savons pas encore aujourd'hui recréer avec les cellules souches un tissu cutané complet avec épiderme, derme, follicules pileux, glandes sébacées ou sudoripares. Les feuillets épidermiques greffés remplissent le rôle de barrière cutanée mais exposent à un manque de souplesse procurée en principe par le derme.

Un autre inconvénient est le temps nécessaire à la culture en laboratoire des cellules souches

pour créer des feuillets épidermique : trois semaines. Pendant cet intervalle, le patient est donc sans protection cutanée et le risque d'infection est très élevé. Une équipe de l'I-STEM tente depuis ces dernières années d'utiliser des cellules embryonnaires et de les différencier en kératinocytes capables de donner un épiderme (66). Le but est de pouvoir détenir un jour une ressource illimitée de ces cellules « toutes prêtes » pour créer rapidement les cellules de l'épiderme nécessaires aux grands brûlés. Cette possibilité a été démontrée *in vitro* et également *in vivo* chez la souris. Les essais doivent maintenant être effectués chez l'homme.

- Holoclar®, le premier médicament de thérapie cellulaire

Holoclar est un traitement à base de cellules souches utilisé dans l'œil pour remplacer les cellules endommagées à la surface de la cornée. Les patients concernés sont ceux souffrant d'une déficience en cellules souches limbiques suite à des brûlures, notamment des brûlures chimiques au niveau des yeux.

Le traitement consiste dans le prélèvement de cellules souches limbiques du patient, leur mise en culture en laboratoire puis leur injection en milieu hospitalier par un chirurgien ophtalmologiste qualifié. Ce médicament n'est administré qu'au seul patient dont les cellules souches limbiques ont servi à le fabriquer. En principe, un traitement unique est suffisant mais il peut être renouvelé si nécessaire. Le principe actif d'Holoclar est donc constitué des propres cellules limbiques du patient regroupant les cellules provenant de la surface de la cornée et les cellules souches limbiques cultivées en laboratoire. Lorsqu'elles sont implantées dans l'œil, les cellules cornéennes d'Holoclar permettent le remplacement de la surface cornéenne et les cellules souches limbiques constituent un réservoir de nouvelles cellules pouvant régénérer la cornée de manière continue.

Pour prouver l'innocuité et l'efficacité d'Holoclar, des études ont été effectuées. Elles ont montré un taux de réussite d'implantation à hauteur de 72% (67). Des diminutions des symptômes des patients, tels que la douleur et l'inflammation ainsi que des améliorations de la vue ont également été rapportées.

C'est dans ces conditions que l'agence européenne du médicament a délivré une autorisation conditionnelle pour Holoclar. Il peut donc être utilisé mais chaque année l'agence examinera toute nouvelle information disponible et procédera à la mise à jour de cette autorisation.

B.VII.3.b) Les essais cliniques en cours

- A partir de cellules souches embryonnaires

Diverses pathologies pourront bénéficier des capacités des cellules souches embryonnaires. Les études les plus avancées et les plus prometteuses concernent les domaines de l'ophtalmologie, la cardiologie et le diabète de type 1.

En cardiologie, une première implantation de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires humaines a été effectuée le 21 Octobre 2014 par le Professeur Menasché et son équipe du service de chirurgie cardiovasculaire de l'hôpital européen Georges Pompidou (68). Cette implantation fut réalisée selon un procédé développé par le Département de Biothérapies Cellulaires et Tissulaires de l'hôpital Saint-Louis dirigé par le Professeur Larghero. L'opération a été couplée à un pontage coronarien et, depuis, la patiente se porte bien et son état s'est nettement amélioré, sans aucune complication observée. La greffe a été effectuée dans le cadre d'un essai clinique.

Le Professeur Menasché n'en était pas à son premier coup d'essai puisque le 15 Juin 2000, il avait déjà greffé dans le cœur d'un patient insuffisant cardiaque des cellules souches de muscle squelettique. Ce type de cellules souches n'avait pas entraîné un bénéfice significatif sur la fonction contractile du cœur du patient. C'est alors que la piste des cellules souches fut explorée. Avec son équipe, ils ont d'abord démontré que des CSE humaines pouvaient se différencier en cellules cardiaques après leur implantation dans des cœurs défaillant de rats. Par la suite et après différents essais sur d'autres espèces animales, une banque de CSE pluripotente a été constituée. Les procédures de différenciation des CSE en jeunes cellules cardiaques se sont développées et la mise au point s'est faite grâce à la purification de ces jeunes cellules pour s'assurer qu'elles étaient toutes différenciées et qu'elles avaient perdu leur pluripotence et donc le risque de tumorigénicité.

Les cellules sont incorporées dans un patch déposé au niveau de la zone de l'infarctus. L'essai clinique se poursuit puisque quatre autres greffes similaires doivent être réalisées.

En ophtalmologie différents essais cliniques en phase I ou II sont en cours. Ces essais concernent l'utilisation de cellules souches embryonnaires destinées à remplacer les cellules

de la rétine. Des maladies telles que la dégénérescence maculaire liée à l'âge ou bien la dystrophie maculaire de Stargardt ont en commun une destruction des cellules de la rétine menant progressivement à une cécité et pourraient donc bénéficier de cette thérapie. Les premiers essais cliniques ont débuté aux États-Unis via la société Advanced Cell Technology qui a testé l'innocuité et l'efficacité chez des enfants atteints de la maladie de Stargardt puis chez des adultes atteints de la forme sèche de DMLA (forme la plus courante qui évolue lentement mais inéluctablement vers la cécité). La phase I a été réalisée sur 18 patients divisés en groupe de 3 ou 4 et qui ont reçu des doses différentes de cellules pigmentaires de la rétine dérivées de cellules souches embryonnaires. A chaque fois, ces injections ont été faites dans un seul œil. Les premiers résultats ont montré qu'il n'y avait eu aucun problème de rejets, de prolifération indésirable des cellules injectées ou de complication oculaire ou systémique grave. Les scientifiques ont pu noter une amélioration de la correction de l'acuité visuelle pour 10 patients, une stagnation ou légère amélioration pour 7 patients et une baisse pour un seul patient (69).

Ces premiers résultats fournissent la preuve de l'innocuité de ces traitements par cellules souches. Ces dernières pourraient constituer un traitement efficace pour la DMLA ou la maladie de Stargardt.

D'autres essais similaires débutent : un premier piloté par The London Project to Cure Blindness (70) et un second à l'hôpital universitaire Hadassah de Jérusalem (71).

Enfin, un essai très prometteur va débiter au Canada et concerne le diabète de type 1. Cet essai est intitulé « Safety, Tolerability and Efficacy of VC-01 Combination Product in Type One Diabetes » (72). Le produit candidat VC-01 contient des cellules progénitrices pancréatiques obtenues à partir de cellules souches embryonnaires et qui sont placées dans un dispositif d'administration de médicament nommé Encaptra. Ce dispositif d'administration sert à protéger les cellules transplantées vis à vis du système immunitaire du patient, tout en permettant notamment la sécrétion d'insuline par les cellules progénitrices pancréatiques qu'il contient. Il sera implanté sous la peau du patient par une intervention chirurgicale minime. Les chercheurs espèrent que les cellules du dispositif se développeront en cellules endocrines pancréatiques matures et sécréteront de l'insuline et d'autres facteurs, régulant ainsi les taux de glycémie.

Dans un premier temps de l'essai, une cohorte de patients recevra une faible dose sous-

thérapeutique de cellules afin d'évaluer l'innocuité du dispositif dans le corps humain et de vérifier s'il est une barrière efficace par rapport au système immunitaire. Si ces paramètres sont vérifiés, l'essai continuera en administrant au second groupe une plus grande dose de cellules afin de fournir une production d'insuline thérapeutique.

Cet essai et ce nouveau produit de thérapie cellulaire pourraient permettre aux diabétiques de type 1 de ne plus avoir à s'injecter eux mêmes l'insuline ni à surveiller leur taux de glycémie.

- A partir de cellules souches pluripotentes induites

Les IPS sont une découverte récente et il reste quelques inconnues notamment sur les étapes de reprogrammation dont la sécurité pose question. Les cellules souches embryonnaires sont davantage utilisées dans les essais cliniques mais si ces dernières s'avèrent plus immunogènes que prévu, l'utilisation des cellules IPS autologues connaîtra très probablement un essor.

Un essai clinique avait débuté au Japon, pays où sont « nées » les cellules IPS. Cet essai visait l'utilisation de cellules prélevées chez le patient (cellules autologues), reprogrammées puis redifférenciées en cellules de la rétine pour être finalement injectées au même patient dans l'espace sous-rétinien. Cet essai clinique avait pour but, à terme, de soigner la DMLA. Plus précisément, la transplantation des cellules rétinienne épithéliales obtenues après différenciation se faisait sous forme de feuilles de cellules monocouches façonnées en petits tronçons de 1,3x3 mm et placées dans le site affecté de l'œil après excision des cellule et tissus déjà endommagés (73).

La phase I de l'essai clinique devait porter sur 6 patients. Lancé en 2014, le premier patient transplanté se porte bien et un an après l'opération, une amélioration visuelle était même observée. Cependant, pour le second patient, des mutations sur les cellules IPS (obtenues à partir de la peau du patient) ont été identifiées. Face à ces mutations non présentes sur les cellules initiales, l'essai à été suspendu temporairement afin de déterminer leur origine. Il est éventuellement envisagé de reprendre l'essai en utilisant des cellules IPS provenant d'une banque plutôt que des cellules autologues (74).

Cet exemple démontre bien la prudence et la rigueur avec laquelle ces cellules IPS doivent être utilisées.

- A partir de cellules souches mésenchymateuses

C'est le type de cellules souches qui bénéficie le plus d'essais cliniques à l'heure actuelle. D'après l'Inserm, plus de 350 essais cliniques sont en cours dans le monde et pour un tiers d'entre eux, les cellules thérapeutiques utilisées sont des cellules autologues. Les propriétés des cellules mésenchymateuses telles que leur accessibilité, leur potentiel de différenciation (adipocytes, fibroblastes, chondroblastes et peut être myocytes, cellules neuronales ou endothéliales) ainsi que leur immunomodulation amènent les scientifiques à les tester dans différents domaines (rhumatologie, cardiologie, dégénérescence musculaire, maladie auto-immune, rejet de greffe...).

Nous pouvons citer quelques uns de ses essais cliniques en cours.

Au Canada, un essai clinique de phase II intitulé Mesenchymal Stem Cell Therapy for Canadian MS patients a débuté (75). Il concerne le traitement de la sclérose en plaques, maladie auto-immune touchant le système nerveux central en altérant la transmission des influx nerveux. Cet essai se base sur la faculté des cellules souches mésenchymateuses à atténuer l'inflammation et à réparer le tissu nerveux. 40 patients seront concernés par cette phase II. Ils seront divisés en 2 groupes de 20 personnes. A J0, le premier groupe recevra 1 à 2 millions de cellules mésenchymateuses par kilos de poids corporel. Ces cellules mésenchymateuses seront préalablement prélevées dans la moelle osseuse de chaque patient (cellules autologues). L'autre groupe recevra un placebo. Après 24 semaines d'observation, une seconde injection sera effectuée en inversant les traitements pour chaque groupe. Après vérification de la sécurité du traitement, son efficacité éventuelle sera mesurée en analysant les lésions rehaussées par le gadolinium à l'IRM (le gadolinium permet de mesurer les lésions de sclérose en plaques actives en les « colorant » et en les rendant visibles à l'IRM).

Cet essai a été lancé début 2015 et doit durer 2 ans.

D'autres travaux suggèrent que les cellules souches mésenchymateuses permettent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, même si elles ne se différencient pas elles-mêmes en cellules de vaisseaux sanguins. On attribuerait cette néoformation à la sécrétion de facteurs de croissance par les cellules mésenchymateuses. Cette propriété observée ouvre des perspectives dans le domaine cardiovasculaire notamment pour favoriser la croissance de tissus lésés après un infarctus du myocarde, un accident vasculaire cérébral (AVC) ou une artériopathie des membres inférieurs.

C'est dans ce contexte qu'un essai clinique de phase II est basé sur la greffe autologue de cellules souches mésenchymateuses dans la récupération de l'AVC. Cette étude est réalisée par l'Imperial College London (76). La phase I de cet essai a eu lieu sur 5 patients victimes d'un AVC ischémique et qui ont donc reçu des cellules souches autologues de moelle osseuse CD34+. Ces cellules ont été injectées par voie artérielle dans les jours suivant l'AVC. A noter que les 5 patients ont eu un AVC particulièrement grave, avec arrêt total de la circulation antérieure et dont le taux de survie et de récupération à 6 mois n'atteint que 4% habituellement. Après administration, les chercheurs ont suivi les effets indésirables et la récupération des patients durant 6 mois. Les résultats observés sont encourageants : la procédure est bien tolérée pour les 5 patients, aucune récurrence d'AVC n'a été constatée, ils ont tous montré une amélioration de leur « fonctionnement » au quotidien, la taille des lésions à l'IRM s'est réduite de 10 à 60% selon les patients et enfin aucun signe de croissance tumorale n'a été identifié.

La phase II de cette étude doit permettre de valider cette thérapie sur un plus grand nombre de patients et d'avoir un recul plus important sur son efficacité et son innocuité.

Nous pouvons décrire un dernier essai clinique de phase II en cours, et qui plus est, se déroule au CHU de TOULOUSE afin de montrer que nos chercheurs ne sont pas en reste.

Cet essai clinique a été nommé MESAMI et se base sur l'administration de cellules souches mésenchymateuses chez des patients avec une cardiomyopathie ischémique chronique (77). Il consiste en l'injection de cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse du patient. La première phase de cet essai avait montré l'innocuité du traitement. La phase II se déroulera sur 90 patients et sur une année entière. Il s'agira d'une étude randomisée, multicentrique et en double aveugle avec placebo. Le but de cette étude est de montrer une amélioration fonctionnelle de la fonction cardiaque après injection de cellules mésenchymateuses et de vérifier si cette thérapie cellulaire pourrait constituer un nouveau traitement des cardiomyopathies ischémiques.

Cette partie nous a donc permis d'appréhender les grands espoirs que suscitait l'utilisation des cellules souches, notamment en terme de potentiel régénératif. C'est justement ce potentiel de régénération et précisément la régénération du cartilage dont il sera question dans la troisième partie.

C. Arthrose et cellules souches

Le constat établi dans la première partie est très clair : aucun traitement pharmacologique ou chirurgical ne permet aujourd'hui d'obtenir une véritable régénération du cartilage et donc une guérison de l'arthrose sur du long terme. Cette vérité est remise en cause au travers de nombreux essais cliniques utilisant des cellules souches. Avant de décrire ces essais, nous nous intéresserons aux techniques plus conventionnelles qui tentent elles aussi d'obtenir une réparation du cartilage lorsque ce dernier présente des lésions.

C.I Procédures conventionnelles de réparation du cartilage

C.I.1 Technique des micro-fractures

Cette technique ne nécessite pas l'apport supplémentaire de cellules souches mais est basée sur la stimulation de cellules souches mésenchymateuses présentes dans la moelle osseuse. C'est une technique ancienne mais elle est encore pratiquée dans certains cas. Elle consiste en la perforation de l'os sous-chondral afin de permettre l'afflux de moelle osseuse qui comporte des cellules souches et des facteurs de croissance. Ainsi, le chirurgien effectue des forages tous les 2 à 3mm sur une profondeur de 3 à 4mm au niveau de la zone présentant une perte de substance cartilagineuse. S'en suivra alors un saignement osseux amenant les cellules souches permettant une réparation du cartilage. L'opération se fait sous arthroscopie et nécessite un débridement et avivement de la lésion cartilagineuse (c'est à dire avoir une zone régulière sur laquelle on a retiré les débris cartilagineux). Avant le forage, un garrot est placé en amont. Cette technique est résumée dans les figures ci-après.



Figure 15 : forages multiples au niveau d'un condyle fémoral

(disponible sur : www.cartilage.fr)

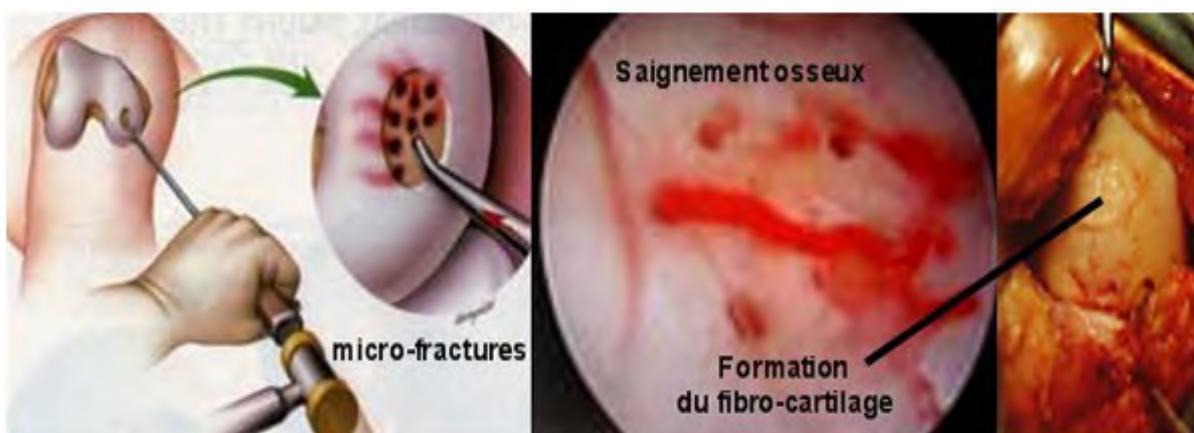


Figure 16 : différentes étapes de la technique des micro-fractures

(disponible sur : www.docteurrouxel.com)

Il s'agit d'une technique peu invasive, présentant une faible morbidité et un faible coût. Cependant, elle présente un inconvénient majeur : le tissu néoformé n'est pas un véritable cartilage hyalin, il s'agit en fait d'un fibro-cartilage qui possède des caractéristiques biomécaniques inférieures à celle d'un véritable cartilage (78). C'est un tissu qui résiste moins aux forces de compression.

De plus, les meilleurs résultats sont obtenus lorsque la lésion cartilagineuse ne dépasse pas une certaine taille (en général pas plus de 4cm²) et les améliorations au niveau de la douleur et de la fonctionnalité de l'articulation sont surtout identifiées sur des sujets jeunes (âge inférieur à 40 ans) (79). Enfin, il semblerait que l'efficacité du traitement s'estompe avec le temps et que les résultats sur du long terme sont assez modestes (80).

Ainsi nous pouvons dire que la technique des micro-fractures apporte un soulagement et une amélioration fonctionnelle immédiate mais ces effets bénéfiques s'estompent avec le temps

car les différentes contraintes mécaniques useront plus rapidement le tissu fibro-cartilagineux qu'un véritable cartilage hyalin. Elle sera plutôt destinée à des personnes sportives, jeunes, présentant une lésion cartilagineuse consécutive à un traumatisme, et permettra dans ces cas là de prévenir éventuellement l'installation d'une arthrose. En revanche, l'efficacité et l'indication pour un stade avancé de l'arthrose ne sont pas prouvées.

Dernièrement une nouvelle technique de forages multiples a été développée afin d'améliorer celle déjà existante et décrite ci-dessus. La première étape est identique, à savoir la réalisation de plusieurs forages minimes au niveau de la lésion. La nouveauté réside dans l'injection d'une matrice faite de collagène de type I et III au niveau des forages. La matrice est ensuite fixée grâce à une colle de fibrine. Dans des études *in vitro*, Dickhut et coll avaient montré que ce type de matrice favorisait la chondrogénèse des cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse et que le tissu fibro-cartilagineux obtenu était plus stable et résistant (81). Cette matrice est nommée AMIC pour Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis et s'applique sur des lésions d'une taille d'1,5 cm² (82).

Les figures ci-dessous résument les différentes étapes :



Figure 17 :micro-forages

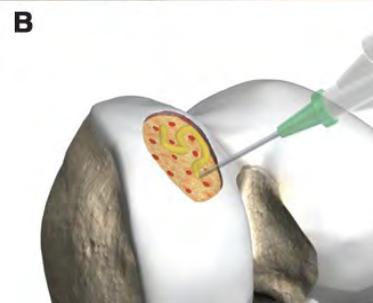


Figure 18 : injection à la seringue de la matrice de collagène I et III

(d'après : Benthien et al. Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis)

De la même manière que la technique de micro-forage, de bons résultats sont obtenus après

l'opération. Il faudra davantage de recul et des études plus nombreuses pour affirmer que les bénéfices observés persistent plus longtemps mais les résultats actuels tendent à confirmer ce résultat. Cependant, les limites concernant l'étendue des lésions ou bien l'âge du patient sont encore présentes.

C.I.2 Greffe autologue ostéochondrale et mosaïcplasty

Cette technique est apparue après celle des micro-fractures. Elle a été mise au point et développée par L.HANGODY et a commencé à être utilisée en Europe à partir de 1995 (83). Cette technique consiste à prélever au niveau de site donneur des petites carottes ostéochondrales. Le prélèvement se fait au niveau d'une zone saine de cartilage et non portante. Les sites donneurs préférentiels sont la zone fémoro-patellaire non portante ou le bord interne de la trochlée fémorale. Ces carottes ostéochondrales sont ensuite placées au niveau de zones de lésions du cartilage après avivement de celle-ci. Le nombre de carottes à prélever sera dépendant de la grandeur de la lésion cartilagineuse.

En général, les carottes prélevées sont d'un diamètre de 4 à 12 mm et d'une profondeur de 20 mm.

La technique est expliquée à travers les figures ci dessous.

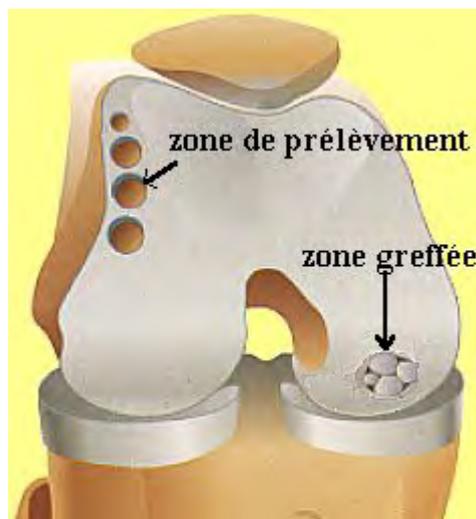


Figure 19 : explication schématique de la mosaïcplasty avec site de prélèvement des carottes ostéochondrales et mise en place au niveau de la zone de lésion

(disponible sur : www.genou.com)



Figure 20 : carottes ostéochondrales prélevées sur zone saine de cartilage
(disponible sur : www.porcspotlas.hu)



Figure 21 : zone greffée avec carottes ostéochondrales
(disponible sur : ajs.sagepub.com)

Un des intérêts de la mosaïcplasty est l'intégration de la partie spongieuse de la carotte ostéochondrale qui fusionnera avec le lit spongieux de la zone receveuse. De plus la zone cartilagineuse de la greffe fusionnera elle aussi avec le cartilage hyalin adjacent par l'intermédiaire d'un fibro-cartilage qui se formera entre les différentes carottes à partir du sous sol sous-chondral avivé.

L'opération peut se faire par arthroscopie (si la lésion fait moins de 2cm de diamètre) ou par arthrotomie et peut permettre de traiter des lésions cartilagineuses sur diverses articulations telles que celle de la cheville, genou ou hanche.

Une étude menée par Mercedes et coll a analysé les effets de la mosaïcplasty sur 17 patients et sur une période de 10 ans, permettant d'avoir une vision de cette technique sur du long terme (84).

Cette étude porte sur un nombre réduit de patients mais amène malgré tout des informations :

- 2 patients sur les 17 ont développé une nécrose au niveau de la greffe.
- Sur l'ensemble des autres patients, les carottes ostéochondrales se sont bien greffées à la zone receveuse et le cartilage hyalin des carottes est viable.
- Du tissu fibro-cartilagineux fait la jonction entre les différents greffons.
- Au bout de 7 ans, des micro-fissures au niveau du cartilage greffé sont apparues chez 3 patients.

Les auteurs concluent pour cette étude que « les résultats de la mosaïcplasty observés à moyen terme pour des lésions cartilagineuses symptomatiques sont bons si l'on se fie aux IRM et aux différents scores d'évaluation ». D'autres études avec un plus grand nombre de patients et sur du long terme (15 ans de recul) confirment ces résultats (85).

Nous pouvons trouver des avantages et des limites à cette technique. Du côté des avantages, la mosaïcplasty est une technique en un seul temps, peu onéreuse, sans risques infectieux spécifiques, avec peu de morbidité au niveau du site donneur et donne des résultats satisfaisants sur du moyen et long terme.

Du côté des inconvénients et d'après les études cliniques actuelles, cette technique semble être réservée aux patients jeunes (les très bons résultats interviennent chez des personnes de 30 ans environ) et pour des lésions cartilagineuse peu étendues (inférieures à 2 cm²).

Néanmoins cette technique supplante celle des micro-forages car elle permet un apport plus important de cartilage hyalin au niveau de la lésion alors que le tissu fibro-cartilagineux qui se forme est très minoritaire. C'est ce qui a été prouvé dans une étude comparant les effets des deux techniques dans un panel de jeunes patients sportifs (86).

La mosaïcplasty revête donc un grand intérêt pour réparer des dommages cartilagineux suite à des traumatismes sur diverses articulations afin de prévenir l'arthrose. Elle ne peut être en revanche utilisée avec des résultats satisfaisants à un stade avancé de l'arthrose et la majorité des patients arthrosiques n'est donc pas concernée.

C.I.3 Transplantation de chondrocytes autologues

Il s'agit d'une technique de thérapie cellulaire mais dans ce cas précis, les cellules utilisées ne sont pas des cellules souches car il s'agit de chondrocytes déjà différenciés qui sont prélevés chez le patient.

Le principe est donc la mise en culture de chondrocytes matures prélevés chez le receveur pour être réinjectés au niveau de la perte de substance cartilagineuse. On place ensuite un lambeau de périoste afin d'assurer l'étanchéité et éviter que les cellules injectées migrent hors de la lésion. De nos jours, l'utilisation du lambeau périosté est abandonné et on se sert

préférentiellement d'une matrice ou membrane dans laquelle les cellules que l'on veut injecter sont intégrées.

Cette opération nécessite plusieurs étapes :

- Prélèvement de cartilage sain dans une zone non portante à l'aide d'une curette et sous arthroscopie.
- Envoi du prélèvement à un laboratoire de culture cellulaire agréé afin d'effectuer une mise en culture.
- Après trois semaines de cultures, les cellules sont implantées (environ douze millions) dans une matrice et placées dans la lésion cartilagineuse.

Ces étapes sont résumées dans les figures qui suivent.

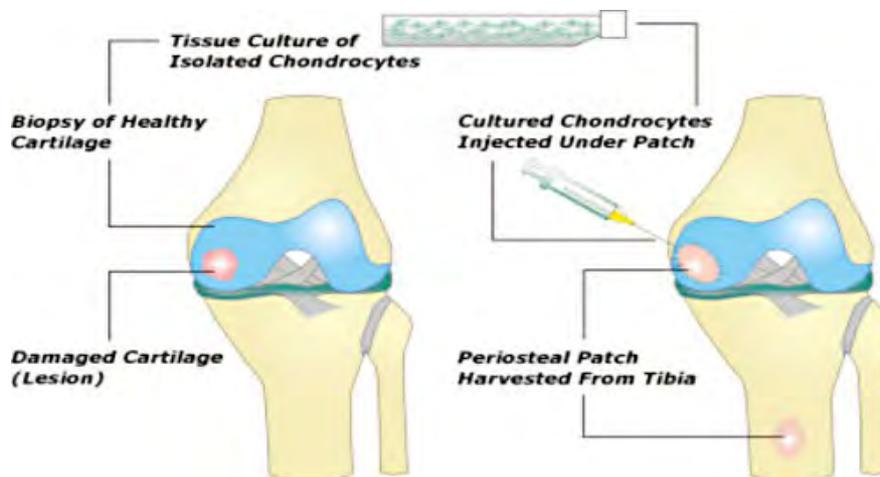


Figure 22 : les étapes de la transplantation autologue de chondrocyte
(disponible sur www.p-ortho.com)



Figure 23 : utilisation d'une matrice à la place du lambeau de périoste
(disponible sur : www.docteurrouxel.com)

Cette technique est donc basée sur la capacité des chondrocytes à créer les éléments de la

matrice extracellulaire du cartilage. En effet, comme nous l'avons expliqué dans la première partie, le chondrocyte possède l'ensemble du répertoire génétique pour synthétiser les constituants de la matrice. On espère donc que la greffe de cellules chondrocytaires matures autologues puisse recréer un cartilage hyalin.

L'implantation de chondrocytes autologues recouvertes d'un lambeau de périoste offrait des résultats plutôt satisfaisants mais des complications telles que la morbidité au niveau du site de prélèvement du lambeau, la calcification de ce dernier, les ruptures des sutures qui le maintenaient en place et l'hypertrophie de la greffe ont poussé les chercheurs à développer un autre moyen pour intégrer et faire persister les cellules au site lésionnel.

Divers composants sont utilisés pour créer les matrices et on ne peut juger avec certitude quelle matrice offre les meilleurs résultats. Actuellement, les matrices les plus utilisées sont celles à base d'acide hyaluronique telles que Hyalograt-C, Genzyme et IsoTis (78) mais il est également possible d'utiliser des matrices à base de collagène comme la matrice AMIC décrite précédemment.

Diverses études sont disponibles pour évaluer l'efficacité de cette technique. Nous allons prendre comme exemple celle de Zhang et coll (87) qui a étudié l'implantation de chondrocytes autologues au niveau de lésions cartilagineuses du genou. Dans cette étude, la matrice utilisée est l'AMIC et 15 patients âgés de 14 à 60 ans ont bénéficié de cette procédure. Au total, 20 genoux ont été opérés et ces derniers présentaient des lésions cartilagineuses de stade III ou IV (stade final de l'arthrose) et d'une taille de 0,5 à 12 cm².

L'opération a échoué sur un seul des 15 patients. Il s'agissait d'un homme de 57 ans avec un indice de masse corporelle supérieur à 30 et qui présentait des lésions d'arthrose sur les 2 genoux.

Cependant, la réussite de la procédure pour les autres patients a permis aux auteurs de conclure que cette technique permettait de réduire les douleurs et améliorait l'usage fonctionnel de l'articulation. De plus, les clichés radiologiques et l'histologie du tissu formé ont montré qu'il recouvrait bien l'os sous-chondral et qu'il s'agissait de cartilage hyalin.

Les résultats présentés ici sont décrits après une période de 2 ans suivant l'opération. Un recul plus important ainsi que d'autres études incorporant davantage de patients sont nécessaires pour valider ces résultats.

A noter qu'un médicament basé sur cette technique d'implantation de chondrocytes autologues a été approuvé par l'Agence européenne des médicaments et a obtenu une autorisation centralisée de mise sur le marché en octobre 2009. Ce produit de thérapie innovante a été nommé CHONDROCELECT® et est indiqué dans la réparation des lésions cartilagineuses localisées et symptomatiques de grade III ou IV.

En France, la Commission de la transparence avait été sollicitée afin d'étudier le service médical rendu et la possibilité d'inscrire ce produit sur la liste des produits et prestations remboursables. L'avis rendu est défavorable à sa prise en charge par la sécurité sociale. La Commission n'a pu mesurer l'intérêt thérapeutique en particulier pour prévenir la survenue d'une arthrose à long terme (88).

Malgré cet avis défavorable émis en 2010, l'implantation de chondrocytes autologues présente des avantages par rapport à la mosaïcplasty et à la technique des micro-fractures. Elle permet de traiter des lésions d'une taille plus importante que les techniques précédentes et le tissu formé est un véritable cartilage hyalin.

En contrepartie, il s'agit d'une procédure qui nécessite plusieurs opérations et impose un délai pour la culture des chondrocytes. La technique est donc plus onéreuse et il ne s'agit pas d'un traitement adapté pour l'arthrose sévère.

Suite à l'analyse de ces diverses techniques nous pouvons tirer des conclusions. Tout d'abord, la prise en charge d'une lésion cartilagineuse se décide actuellement selon divers critères :

- l'inefficacité d'un traitement pharmacologique
- l'âge du patient
- la localisation et l'étendue de la zone de lésion
- le grade de la lésion

Il faut ensuite tenir compte du coût de l'opération ainsi que de la nécessité ou non d'une opération en plusieurs étapes et des morbidités liées aux gestes chirurgicaux. La reconstruction d'un fibro-cartilage ou d'un cartilage hyalin est un facteur très important également.

Un plus grand recul est nécessaire pour affirmer que ces techniques permettent une

prévention de l'arthrose mais les résultats actuels vont dans ce sens (notamment pour la greffe de chondrocytes autologues).

Il apparaît en revanche que les procédures actuelles de réparation du cartilage ne permettent pas la prise en charge d'un patient souffrant d'arthrose à un stade avancé. Elles sont davantage destinées à des patients jeunes, assez sportifs, qui présentent des lésions cartilagineuses localisées consécutives le plus souvent à un traumatisme.

C'est pour cette raison que les scientifiques s'intéressent aux cellules souches avec l'ambition d'obtenir une régénération complète et stable dans le temps de cartilage hyalin.

C.II Cellules souches et arthrose

C.II.1 Quelles cellules souches ?

Différents types de cellules souches peuvent conduire à la formation de chondrocytes et donc avoir, par conséquent, un potentiel de régénération du cartilage. Ainsi, les cellules souches embryonnaires, les cellules souches pluripotentes induites et les cellules souches mésenchymateuses sont toutes potentiellement utilisables pour traiter l'arthrose.

La théorie et la mise en application peuvent être très différentes et force est de constater qu'aujourd'hui, seules les cellules souches mésenchymateuses font l'objet d'études et d'essais cliniques chez l'homme pour la régénération du cartilage dans l'arthrose. Même si cette constatation peut surprendre au premier abord, ce choix n'est en réalité pas si étonnant car les CSM ont naturellement la capacité de différenciation vers les cellules d'origine mésodermique et notamment le chondrocyte, cellule fabriquant le cartilage. Nous détaillerons dans le chapitre suivant les sources disponibles de ces CSM et les différentes propriétés utiles pour traiter l'arthrose.

Ainsi, les IPS et les CSE sont actuellement mises de côté pour la recherche dans l'arthrose mais il ne faut pas totalement les exclure et quelques études les emploient *in vitro* ou chez l'animal.

Pour les cellules souches embryonnaires, prenons pour exemple l'étude de Cheng et coll (89). Ces chercheurs ont utilisé une lignée de cellules souches embryonnaires humaines et les ont forcées à entamer une différenciation en chondrocytes à l'aide de facteurs de différenciation.

Dans ce protocole, une très faible minorité de cellules est restée à l'état de pluripotente. Les cellules progénitrices de chondrocytes ainsi obtenues ont été injectées dans des zones lésionnelles cartilagineuses chez des rats immunodéficients. Les scientifiques ont comparé l'injection de ces cellules avec l'injection de fibrine qui servait alors de contrôle. Les résultats ont été observés sur 12 semaines et montrent que le tissu obtenu au niveau des lésions est composé principalement de collagène de type II et de GAG. Il s'agit donc de cartilage hyalin obtenu à partir des pré-chondrocytes injectés.

Cette étude a montré que chez l'animal, il était possible de régénérer du cartilage hyalin à partir de chondrocytes obtenus par différenciation de cellules souches embryonnaires humaines.

Pour les auteurs de cette étude, les CSE sont une source plus intéressante que les CSM car ces dernières ont des capacités moindres de prolifération et de différenciation.

L'analyse de la littérature scientifique démontre que les CSE sont peu utilisées dans la recherche sur l'arthrose. Plusieurs explications peuvent être avancées : les contraintes éthiques qui entourent leur utilisation, la difficulté de les étudier dans certains pays et le risque de tumorigénicité lorsqu'elles ne sont pas bien différenciées. Une explication encore plus simple à trouver est que les cellules mésenchymateuses adultes sont disponibles plus aisément et qu'elles offrent des résultats encourageants dans les études actuelles. Cela ne pousse donc pas les chercheurs à se tourner vers une autre source de cellules souches.

Pour les cellules IPS, les contraintes liées à l'éthique sont moins existantes. Uto et coll. les ont étudiées dans la régénération de cartilage chez des souris (90). Ils ont réussi à reconstituer un cartilage hyalin grâce aux cellules IPS injectées mais un grand nombre de ces IPS ont été à l'origine de tumeurs. Des résultats similaires ont été observés dans une autre étude (91).

Ceci montre donc le potentiel des cellules IPS mais aussi la nécessité de mieux maîtriser leur différenciation pour être sûr de leur innocuité à 100%. Des travaux doivent être entrepris dans cette direction.

En résumé, nous pouvons affirmer que ce sont les cellules souches mésenchymateuses qui sont à l'essai actuellement pour trouver une thérapie cellulaire permettant de soigner l'arthrose. Partant de ce principe, plusieurs questions se posent : quelle source de CSM utiliser et de quelle manière peuvent-elles traiter l'arthrose ?

C.II.2 Les sources de CSM utilisables

Les chercheurs utilisent aujourd'hui principalement trois sources de cellules souches mésenchymateuses :

- les CSM de la moelle osseuse
- les CSM du tissu adipeux
- les CSM des tissus fœtaux (gelée de Wharton)

Les CSM issues de la moelle osseuse sont les plus utilisées dans les essais cliniques sur les défauts cartilagineux liés à l'arthrose. Historiquement, c'est à partir de la moelle osseuse que les premières cellules souches mésenchymateuses ont été prélevées. Le prélèvement se fait principalement au niveau de la crête iliaque. La moelle osseuse contient de nombreuses autres cellules dont les cellules souches hématopoïétiques et on estime que les CSM ne représentent environ que 0,001 à 0,01% des cellules. Leur durée de vie *in vitro* est assez limitée mais leur adhérence au support plastique de la culture leur permet de se multiplier pour donner un nombre suffisant de cellules. Colter et coll avaient également observé que le potentiel d'expansion de ces cellules pouvait varier en fonction de l'âge du donneur et de sa condition physique (92).

D'utilisation plus récente, des CSM ont été retrouvées dans le tissu adipeux. Les avis des chercheurs divergent pour dire si ces cellules sont les semblables des CSM de la moelle osseuse. Certains préfèrent ainsi les nommer cellules stromales dérivées du tissu adipeux ou ASC pour Adipose Stromal Cells. Quel que soit l'avis des chercheurs, l'ISCT dont nous avons parlé en seconde partie a tranché et les cellules souches du tissu adipeux ont toutes les caractéristiques des CSM. En ce qui concerne le traitement de l'arthrose, elles possèdent bien la capacité de différenciation en chondrocytes.

Cette source de cellules multipotentes peut s'avérer très intéressante car le tissu adipeux a la particularité unique d'être à la fois abondant (10% du poids d'un individu sain et jusqu'à 50% chez un obèse) et d'être facile à prélever. En effet, une simple liposuccion sous anesthésie locale permet de récolter un échantillon suffisant de tissu graisseux pour isoler les CSM. Une étude a même prouvé qu'il était possible, du moins chez la souris, de faire migrer les cellules souches du tissu adipeux vers la circulation lymphatique grâce à des agents pharmacologiques (93). Si ces résultats sont confirmés chez l'homme, il sera possible d'envisager des stratégies non invasives pour prélever les cellules souches adipeuses.

De plus, il semblerait que ces cellules prolifèrent plus rapidement que celles issues de la moelle osseuse (94).

Enfin la troisième source utilisable de CSM est celle du cordon ombilical et notamment de la gelée de Wharton. Nous avons déjà décrit cette source dans la seconde partie de ce manuscrit. Cette source de cellule offre une méthode de prélèvement non douloureuse pour la mère et pour l'enfant. Le nombre de cellules souches obtenues est plus important comparativement à un prélèvement de moelle osseuse et là aussi le potentiel de prolifération est supérieur. D'un point de vue pratique, la récolte est plus aisée et moins onéreuse. Enfin, contrairement aux autres sources de CSM, la variabilité du potentiel de renouvellement et de différenciation ne dépend pas de l'âge du donneur puisqu'elles sont prélevées au même stade du développement.

L'analyse des différents essais cliniques en cours sur l'utilisation des CSM dans l'arthrose démontre clairement que ce sont les cellules issues de la moelle osseuse qui sont largement majoritaires. Cette constatation a été faite personnellement en faisant le listing des essais cliniques disponibles sur le site *ClinicalTrials.gov* qui référence les études en cours à travers le monde.

Cette constatation peut paraître surprenante étant donné les avantages d'autres sources comme le tissu adipeux ou la gelée de Wharton décrites précédemment.

De manière subjective nous pouvons tenter d'apporter quelques explications. Tout d'abord c'est au niveau de la moelle osseuse que ce type de cellules a été isolé en premier. Les cellules qui ont été découvertes par la suite dans les autres tissus ont montré des caractéristiques similaires et ont donc été rattachées aux CSM de la moelle osseuse. Les chercheurs préfèrent visiblement la source originelle de CSM et, de plus, ce sont ces cellules qui physiologiquement migrent vers les lésions pour tenter de les réparer. Deuxièmement, et c'est peut être l'explication la plus crédible, ces cellules offrent de bons résultats en terme de régénération du cartilage. Les chercheurs en sont satisfaits et ne se tournent pas pour le moment vers l'utilisation des autres sources.

C.II.3 Propriétés des CSM pour traiter l'arthrose

Les cellules souches mésenchymateuses possèdent diverses propriétés et certaines d'entre elles sont mises à contribution pour établir un traitement efficace de l'arthrose.

La première caractéristique, celle qui paraît la plus évidente, est la capacité de différenciation en chondrocytes, c'est la chondrogénèse. La chondrogénèse comporte deux grandes phases : une phase de condensation des CSM et une phase de différenciation chondrocytaire. Dans la première phase, *in vivo*, des interactions cellule-cellule et cellule-matrice sont à l'origine du processus et conduisent à une augmentation de l'adhésion cellulaire et à des modifications du cytosquelette (95). Une matrice extracellulaire faite de collagène et d'acide hyaluronique est également produite à partir des CSM pré-chondrocytes. Pour l'étape de différenciation, un facteur de transcription joue un rôle important. Il s'agit de Sox9 qui permet l'expression du collagène de type II (type de collagène prédominant dans le cartilage) et d'autres protéines matricielles du cartilage. D'autres facteurs comme Sox5 et Sox6 jouent un rôle capital pour la différenciation finale en chondrocyte. Le TGF- β est un facteur de croissance qui participe également à cette différenciation en activant les cascades de signalisation intracellulaire favorisant l'expression des gènes spécifiques du cartilage.

Même si des éléments clés ont été identifiés, les mécanismes complets de la chondrogénèse n'ont pas encore été totalement élucidés.

In vitro, des protocoles doivent être définis à l'avance pour reproduire les conditions similaires de la différenciation des CSM en chondrocyte. Il faut s'assurer que les cellules obtenues après différenciation sont effectivement des chondrocytes matures et non pas des cellules indifférenciées ou des cellules trop différenciées (chondrocytes hypertrophiques qui ne synthétisent pas une matrice cartilagineuse de qualité). Il n'existe pas de consensus actuel sur les milieux de cultures et les composants à utiliser pour obtenir des chondrocytes à partir de CSM. Diverses stratégies peuvent être employées :

- facteurs de croissance (TGF- β par exemple)
- utilisation de composés chimiques (exemple de la dexaméthasone, hormone thyroïdienne)
- co-culture avec d'autres cellules (permet le contact cellule-cellule favorable à la condensation mais apporte un risque de transmission de virus et une difficulté à séparer et à isoler les cellules une fois différenciées)

- modification génétique (transfection de constructions d'ADN recombinant permettant l'expression de protéines ou facteurs de croissance favorisant la chondrogénèse)
- application d'une contrainte mécanique (pour recréer la même situation de « stress » qui permet *in vivo* de démarrer la chondrogénèse lorsque des lésions cartilagineuses sont présentes)

Ainsi la maîtrise de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en chondrocyte est un paramètre indispensable pour espérer obtenir une régénération du cartilage.

La seconde propriété intéressante des CSM dans le traitement de l'arthrose est l'effet paracrine de ces cellules et notamment la production de facteurs solubles anti-inflammatoires. Pour détailler cette propriété nous nous appuyerons sur la récente étude de Kuroda et coll (96).

Ces chercheurs ont étudié l'effet paracrine de CSM sur la progression de l'arthrose chez des lapins.

Une arthrose a été induite dans chaque genou de lapin par section du ligament croisé antérieur. 4 semaines après, des CSM issues du tissu adipeux (ADSC) ont été injectées dans le genou gauche, alors que le genou droit a reçu uniquement du sérum et de l'acide hyaluronique. Les genoux droits servent donc de contrôle dans cette étude. Un mois après les injections, 75% des genoux contrôles présentaient une érosion au niveau des condyles fémoraux, c'est à dire une zone pauvre en cartilage. Du côté des genoux ayant reçus les ASCS, seuls 25% présentaient une érosion et les autres présentaient la repousse d'un cartilage. Une différence significative pour le score macroscopique d'arthrose est présente entre les genoux contrôles et les genoux ADSC. Ceci est visible sur la figure ci après.

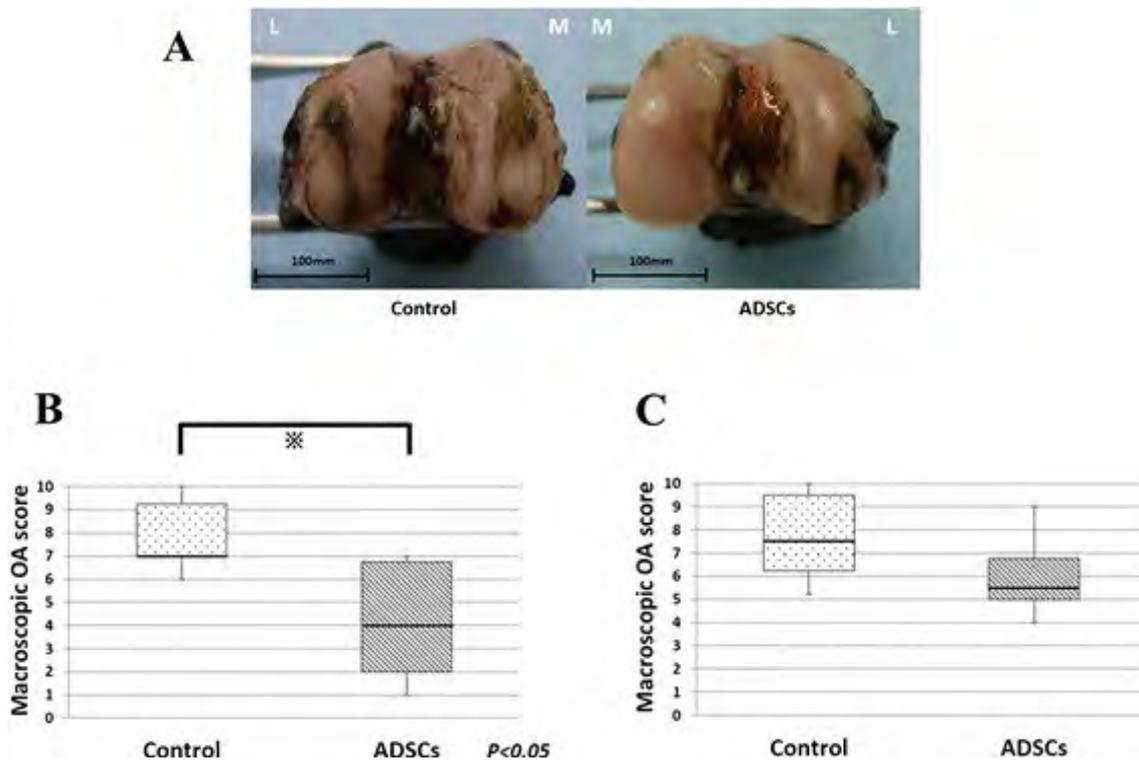


Figure 24 : Analyses macroscopiques des condyles fémoraux
 (d'après Kuroda et al. The paracrine effect of adipose-derived stem cells (...))

Un mois plus tard, ces résultats n'ont pas été confirmés car l'ensemble des genoux présentaient des érosions et il n'y avait plus de différence significative entre les genoux (image C figure 24).

Au niveau histologique les résultats sont similaires. 4 semaines après l'injection, les genoux contrôles présentaient une perte de tissu cartilagineux alors que les condyles fémoraux des genoux ADSC possédaient du cartilage hyalin (cf image A figure 25). Au bout de 8 semaines, tous les genoux montraient des lésions cartilagineuses (cf image B figure 25).

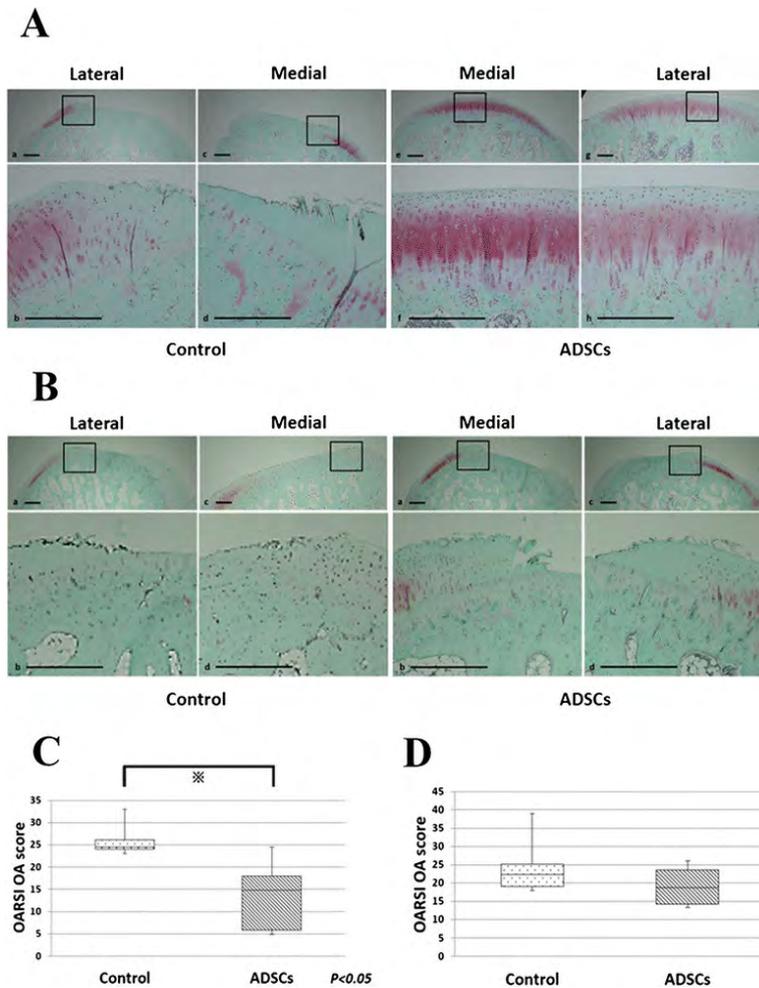


Figure 25 : Analyses histologiques des condyles fémoraux
(d'après Kuroda et al. The paracrine effect of adipose-derived stem cells (...))

Ils ont ensuite effectué des analyses immuno-histochimiques et se sont rendu compte que la métalloprotéinase matricielle (MMP 13), responsable de la dégradation du cartilage, était beaucoup moins présente et active chez les lapins ADSC.

Enfin, ils avaient marqué les cellules ADSC injectées avec un marqueur fluorescent pour avoir une traçabilité. Les ADSC étaient présents au niveau de la zone sub-intimale de la synoviale 4 semaines après les injections mais avaient complètement disparus 8 semaines après.

Nous pouvons tirer quelques enseignements de cette étude :

- les cellules mésenchymateuses utilisées étaient des cellules issues du tissu adipeux mais d'autres études ont montré que les CSM de la moelle osseuse avaient également la capacité de produire des facteurs anti-inflammatoires protégeant ainsi les tissus environnants (Caplan en 2006 et Nöth en 2008).

- l'injection de CSM peut donc inhiber la dégénération du cartilage (prouvé chez le lapin dans cette étude) grâce à un effet paracrine.
- ces cellules diminuent l'activité de la MMP13.
- l'effet d'inhibition n'est plus présent au bout de 2 mois après injection des cellules. Dans ce cas présent, l'injection intra-articulaire ne permet la survie et le maintien des CSM que sur une période courte.

Le dernier point soulève la question de la nécessité d'injections répétées ou l'utilisation de matrice pour permettre aux cellules souches d'être viables plus longtemps et d'inhiber la dégradation du cartilage sur du plus long terme.

Il apparaît donc qu'en plus de la chondrogénèse des CSM, les propriétés paracrines de ces dernières sont un moyen supplémentaire de freiner la dégradation du cartilage.

Ce chapitre nous a permis d'identifier les propriétés et les raisons pour lesquelles les chercheurs utilisaient actuellement davantage les cellules souches mésenchymateuses en vue de trouver une stratégie thérapeutique efficace pour traiter l'arthrose.

C.III L'ingénierie tissulaire : outil indispensable pour traiter l'arthrose ?

L'ingénierie tissulaire peut se définir comme l'ensemble des techniques et des méthodes s'inspirant des principes de l'ingénierie et des sciences de la vie pour développer des substituts biologiques pouvant restaurer, maintenir ou améliorer les fonctions des tissus.

Nous avons vu précédemment les conditions de milieu de culture nécessaires pour cultiver des CSM et les faire se différencier en chondrocytes. Une des approches actuelles est de préférer utiliser des structures issues de l'ingénierie tissulaire pour effectuer ces étapes et les injecter au niveau d'un site lésionnel pour aboutir à une régénération du cartilage. Il ne s'agit donc plus simplement d'un milieu de culture où se différencie la cellule souche à l'aide de facteurs de croissance mais d'un véritable ensemble contenant la structure en trois dimensions, les cellules, les facteurs de croissance et le milieu de culture. Ceci est résumé de manière simplifiée dans la figure suivante.

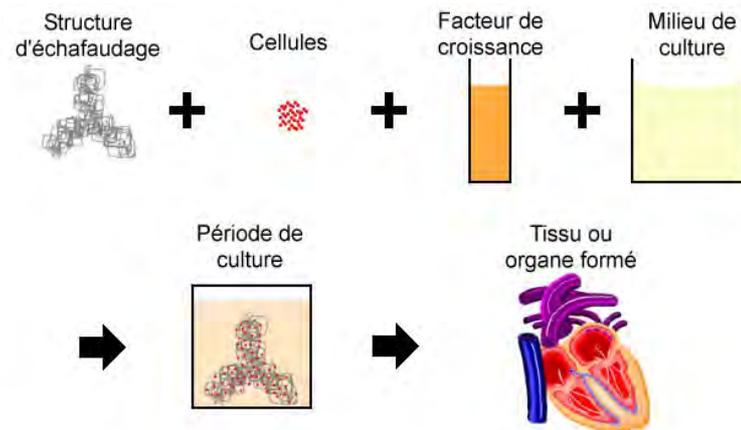


Figure 26 : principe de l'ingénierie tissulaire
(disponible sur : www.these.ulaval.ca)

Nous avons déjà abordé ce concept lorsque nous avons présenté la technique améliorée des micro-forages où l'on utilisait une matrice faite de collagène.

Nous verrons avec la présentation des essais cliniques en cours que les scientifiques font de plus en plus appel à l'ingénierie tissulaire pour créer des échafaudages sur lesquelles les cellules souches pourront se développer, se différencier et rester ancrer dans la structure pour perdurer une fois que l'ensemble sera placé chez le patient. Deux schémas sont envisageables pour les cas de défauts cartilagineux présents dans l'arthrose : générer entièrement *in vitro* un tissu cartilagineux fonctionnel à partir de cette structure et l'implanter sur la lésion ou bien greffer la structure à un stade immature qui poursuivra alors sa croissance au sein de l'environnement où on l'a implanté.

Plusieurs biomatériaux peuvent être utilisés pour construire l'échafaudage au sein duquel les CSM vont croître et se différencier. On peut citer les protéines (collagène, fibrine, gélatine..), les polymères polysaccharidiques (agarose, alginate, acide hyaluronique...) ou des polymères artificiels comme le dacron ou téflon (97).

Quelque soit le biomatériau utilisé, il faut qu'il soit dans l'idéal biocompatible, qu'il présente une structure tridimensionnelle facilitant son implantation, et bien entendu qu'il soit favorable à la multiplication et à la différenciation des cellules. Il doit également préserver son intégrité suffisamment longtemps une fois placé et bien adhérer au tissu.

L'échafaudage ainsi créé peut prendre différentes formes : masse poreuse, mousse, hydrogel...

Dans une étude récente, Sheykhasan et coll ont comparé différents échafaudages pour trouver lequel d'entre eux était le plus efficace sur la régénération du cartilage (98).

Trois échafaudages avec des biomatériaux différents ont été comparés : un à base d'alginate, un autre comprenant de la fibrine, et le dernier à base d'acide glycolique L-lactique. Des cellules souches mésenchymateuses ont étéensemencées dans ces échafaudages et le TGF a été utilisé comme facteur de croissance et de différenciation. Au bout de 14 jours, la technique de la RT-PCR a été utilisée pour évaluer l'expression des ARN messagers des collagènes de type I et II, de Sox9 et de l'aggrécane. Pour rappel, des chondrocytes différenciés et matures produisent tous ces composés.

A travers les résultats obtenus, il s'avère que c'est dans l'échafaudage à base de fibrine que les CSM ont proliféré et se sont différenciés le plus en chondrocytes.

Cette étude avait pour but de démontrer que les facteurs de croissance utilisés n'étaient pas le seul paramètre à prendre en compte pour obtenir des bons résultats de différenciation. Le choix d'une structure adaptée est donc également un paramètre essentiel.

L'ingénierie tissulaire est de plus en plus présente et rares sont les essais cliniques, notamment ceux pour le traitement de l'arthrose, qui n'utilisent pas ce nouveau concept de médecine régénératrice.

C.IV Thérapies cellulaires et/ou ingénierie tissulaire à l'essai dans l'arthrose

Le but de ce paragraphe est de faire une synthèse des différentes études ou essais cliniques en cours afin de pouvoir conclure à l'utilité ou non des cellules souches dans la prise en charge thérapeutique de l'arthrose.

A noter que la très large majorité des études teste les cellules souches sur les articulations du genou et quelques unes au niveau de la hanche ou de la cheville. Les chercheurs s'intéressent en priorité à ces localisations d'arthrose car il s'agit des articulations portantes et elles occasionnent le plus de douleurs et d'impotence fonctionnelle.

C.IV.1 Études expérimentales chez l'animal

Comme nous l'avons expliqué lors de la description des différentes étapes d'un essai clinique, le travail sur l'animal est la première étape incontournable avant d'envisager des essais sur l'homme. Plusieurs de ces études ont démarré au début des années 2000 et ont permis d'obtenir des données fiables pour passer au modèle humain.

En 2003 Murphy et coll ont étudié les effets d'injection de CSM dans les genoux de chèvre (99). Les chèvres avaient subi une excision complète du ménisque interne et une rupture du ligament croisé antérieur afin de créer une arthrose. 6 semaines plus tard, un groupe a reçu une injection intra-articulaire unique de 10 millions de CSM autologues obtenues à partir de la moelle osseuse. Pour avoir un moyen de comparaison, le second groupe a reçu une solution diluée d'acide hyaluronique et a servi de groupe contrôle. Les résultats ont été sans équivoques, les genoux traités par CSM ont montré une régénération au niveau du ménisque interne et un cartilage globalement conservé. Dans le groupe contrôle, les défauts cartilagineux, ostéophytes et atteintes de l'os sous-chondral étaient beaucoup plus nombreux et importants. Aucune réparation du ligament n'a par contre été observée.

Autre information intéressante, les CSM injectées avaient été préalablement marquées pour pouvoir suivre leur localisation dans l'articulation. Elles ont été retrouvées au niveau de la synoviale et dans le tissu néoformé du ménisque. Dans cette étude les auteurs ont donc prouvé que les CSM pouvaient être à l'origine de la régénération d'un tissu et qu'elles retardaient la destruction progressive de l'articulation telle qu'elle est décrite dans l'arthrose.

Une approche un peu différente a été faite en 2012 par Al Faqeh et coll (100). Le modèle animal choisi était dans ce cas le mouton. La procédure était la même pour induire un début d'arthrose (on retire le ménisque et on sectionne le ligament). Ce qui change dans cette étude est que les CSM récoltées à partir de la moelle osseuse n'ont pas été injectées directement puisqu'elles ont été placées en culture dans différents milieux. Une première lignée de cellules a été cultivée dans un milieu contenant des facteurs de croissance et de différenciation en chondrocytes alors qu'une seconde lignée a été cultivée dans un milieu neutre. Le temps de culture était de 3 semaines. Un premier groupe de mouton a reçu une injection de CSM pré-différenciées en chondrocytes issues du premier milieu de culture, un second groupe a reçu les CSM non différenciées du milieu neutre et un troisième groupe n'a

reçu que du sérum. Les résultats observés sont visibles ci-après.

La colonne de gauche représente les condyles fémoraux et celle de droite le plateau tibial avec vision sur le ménisque. Les images G et H représentent les articulations normales (sans excision du ménisque et du ligament). En A et B les genoux n'ayant reçu que du sérum. Les genoux C et D sont ceux à qui on a injecté les CSM cultivées en milieu neutre et enfin en E et F les genoux ayant reçus les CSM pré-différenciés.

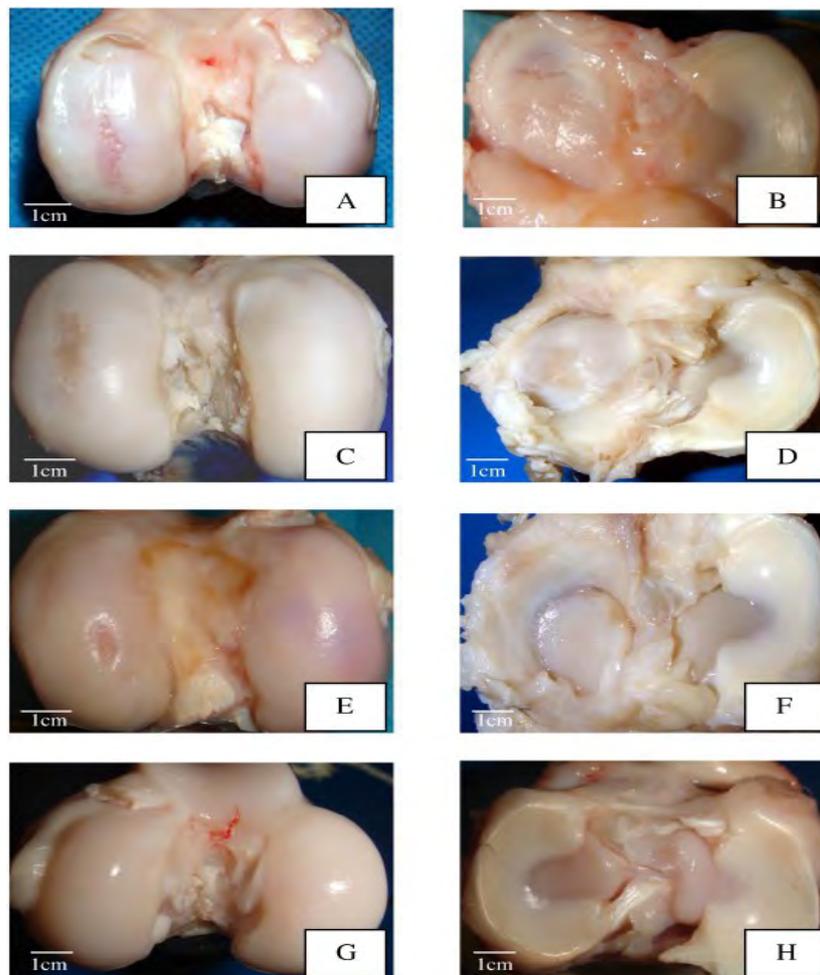


Figure 27: analyse macroscopique des différents groupes de genoux
(d'après AlFaqeh et al. The potential of intra-articular injection of (...))

Les genoux traités par les CSM pré-différenciés semblent montrer de meilleurs résultats mais en réalité les auteurs n'ont trouvé aucune différence significative pour les lésions focales du cartilage des genoux traités par CSM pré-différenciés ou non.

Il existe par contre une différence significative avec les genoux n'ayant reçu aucune CSM.

Au niveau des lésions méniscales, seules les CSM pré-différenciés ont permis la régénération

d'un tissu.

L'histologie des différents tissus a montré que d'une part le tissu au niveau des condyles fémoraux était effectivement du cartilage hyalin et que le tissu au niveau du ménisque régénéré grâce aux CSM pré-différenciées était un tissu fibro-cartilagineux semblable à celui d'un ménisque sain.

Cette étude avait pour but d'identifier le potentiel régénératif des CSM pré-différenciées en chondrocytes ou non sur des lésions présentes dans l'arthrose. Les conclusions sont les suivantes : des CSM mises en milieu de culture avec des facteurs de croissance et de différenciation permettent une meilleure régénération du tissu fibro-cartilagineux du ménisque mais n'apportent pas une amélioration significative sur la réparation du cartilage hyalin par rapport à des CSM cultivées en milieu neutre. Elles permettent quand même de freiner la progression de l'arthrose.

Des résultats similaires ont été retrouvés dans d'autres modèles animaux : cheval, souris, rat, lapin ou porc.

La pré-culture des CSM apporte donc un avantage limité. De plus cette méthode implique plusieurs opérations et plusieurs temps (prélèvement, mise en culture, implantation). Elle s'avère donc plus contraignante et plus coûteuse. Nous verrons via les études chez l'homme si cette technique est employée ou non.

Toutes ces études chez les animaux ont conclu à une utilisation sûre des cellules souches dans l'arthrose et à une certaine efficacité. Ceci était l'obligation première pour pouvoir passer à des tests chez l'homme.

C.IV.2 Études chez l'homme

Il est possible de faire une distinction entre les différentes techniques d'administration des cellules souches qui sont actuellement à l'essai. Elles sont séparables en deux groupes : d'une part la technique qui privilégie le prélèvement des cellules souches, leur mise en culture, puis leur injection et d'autre part la technique qui consiste à prélever les cellules souches et à les injecter au cours de la même opération (procédure en une étape).

C.IV.2.a) Technique avec mise en culture

Les cellules obtenues après prélèvement de la moelle osseuse sont mises en culture afin qu'elles prolifèrent pour obtenir un grand nombre de CSM. Une fois ces cellules multipliées elles sont soit injectées en intra-articulaire soit ensemencées sur une structure en trois dimensions et le tout sera implanté dans la lésion de l'articulation touchée.

Diverses études décrivent cette procédure en plusieurs temps. La première que nous allons décrire a permis de suivre sur du moyen terme (3 ans) des patients ayant reçu des injections de CSM autologues dans diverses articulations : genou, hanche et cheville (101). 18 patients au total ont été concernés par l'étude et souffraient tous de lésions arthrosiques de stade III ou IV. Après prélèvement de 150 mL de moelle osseuse, les CSM furent isolées et mise en culture afin qu'elles se multiplient. Le temps de culture a varié d'1 mois à 1 mois et demi. L'injection dans les articulations a ensuite été réalisée sans les ensemencer sur un échafaudage et le nombre de cellules injectées était d'environ 4×10^7 cellules. Des critères comme le périmètre de marche, différents scores d'évaluation clinique et des imageries d'IRM ont été utilisés pour quantifier les résultats.

Tout d'abord, et de la même manière que chez l'animal, l'injection de CSM n'a entraîné aucun effet indésirable grave et seuls quelques effets locaux ont été répertoriés tels qu'un rash cutané ou un érythème. Les résultats étaient bons dans l'ensemble puisque le périmètre de marche a augmenté pour tous les sujets. Les différents scores d'évaluation de l'arthrose ont permis de noter une amélioration sur les 12 premiers mois qui ont suivi l'injection mais cette progression ne s'est pas poursuivie ensuite. L'IRM a dévoilé une repousse du cartilage et une diminution des œdèmes et lésions sous-chondrales dans la majorité des cas. En revanche aucune histologie n'a été réalisée pour confirmer que le tissu néo-formé était du cartilage hyalin.

Cette étude a donc confirmé l'innocuité d'injections de CSM. De plus ces injections ont permis une réduction des douleurs, des améliorations fonctionnelles, ainsi qu'une régénération d'un tissu cartilagineux visible sur l'IRM. Néanmoins, ces améliorations ne sont pas durables puisqu'on observe une régression après une période de 12 mois.

Les auteurs pensent que plusieurs injections pourraient s'avérer nécessaires pour faire perdurer les améliorations.

L'autre option déjà évoquée est d'utiliser les biomatériaux issus de l'ingénierie tissulaire et

plusieurs études sont concernées. Kuroda et coll mais aussi Wakitani ont ainsi placé les CSM cultivées dans une structure de collagène (102) (103). Haleem et son équipe ont eux utilisé une structure à base de fibrine renfermant des plaquettes (« platelet-rich fibrin) (104).

La réalisation de ces études s'est faite sur un nombre restreint de patients (< 10) mais a donné dans l'ensemble des résultats satisfaisants et durables.

Des études plus importantes doivent être réalisées mais il semble que l'utilisation de structures tridimensionnelles permettant l'adhésion et la multiplication des cellules fasse partie intégrante des nouvelles techniques car elles permettent d'obtenir des progrès sur une plus longue durée.

Nous venons de faire le point sur les différentes procédures incluant la culture des CSM avant leur implantation dans l'articulation. Il est alors possible d'en ressortir des avantages mais aussi des inconvénients.

La culture préalable des cellules souches permet d'obtenir un grand nombre de CSM qui sont alors disponibles pour l'injection. De plus avant injection, les CSM sont identifiées pour être certain de délivrer le bon type de cellules. En contre partie cette technique requiert une étape et un délai supplémentaire qui correspond au temps de culture des cellules. De surcroît certains scientifiques mettent en avant le risque potentiel de contamination lors de la multiplication des cellules *in vitro*. Enfin cette technique est plus onéreuse et demande plus de moyens que la technique en une seule étape.

La tendance actuelle tend à privilégier les essais sans passer par cette étape de culture.

Il est important d'insister sur le fait que dans les cas précédemment décrits, les CSM sont simplement mises en culture pour qu'elles se renouvellent. Il est techniquement possible d'ensemencer ces cellules sur une matrice et de remettre le tout en culture en rajoutant des facteurs solubles favorisant la chondrogénèse. La structure qui serait alors implantée contiendrait des pré-chondrocytes qui auraient commencé à élaborer un tissu cartilagineux sur l'échafaudage. A ce jour et à ma connaissance, cette option n'a été utilisée que chez l'animal (étude Al Faqeh décrite plus haut par exemple) et non chez l'homme mais n'est pas dénuée d'intérêt.

C.IV.2.b) Technique en une seule étape

Cette technique consiste donc à prélever un concentré de moelle osseuse, lui faire subir une étape de centrifugation afin d'isoler les cellules nucléées, d'ensemencer ces cellules sur un échafaudage et d'implanter le tout au niveau de la lésion cartilagineuse. Parmi les cellules nucléées isolées après centrifugation se trouvent les CSM. Plusieurs chercheurs ont adopté cette technique et elle est donc assez répandue dans les essais.

Il n'y actuellement aucun consensus sur le type de matrice à utiliser pour ensemencer les CSM. Ainsi des structures telles que du gel de fibrine riche en plaquettes ont été utilisées par Gianini et coll (105) pour des lésions d'arthrose au niveau de la cheville. Cette étude a été réalisée en 2009 et a permis de suivre 49 patients opérés durant 4 années (106). Avant de passer aux essais sur l'homme, l'équipe de chercheurs avait vérifié que leur matrice permettait *in vitro* la multiplication et la chondrogénèse des CSM. Les critères de cette étude étaient cependant très stricts et aucun patient de plus de 50 ans ou présentant une arthrose avancée n'a pu être inclus (la taille de lésion moyenne était de 2 cm²). Les résultats sont quand même très encourageants car tous les scores d'évaluation utilisés ont montré une amélioration durable dans le temps. De plus le cartilage régénéré était similaire au cartilage hyalin. Il serait intéressant de savoir si ces progrès peuvent être obtenus chez des patients plus âgés ou présentant des lésions plus étendues.

Une autre technique un peu différente est à l'essai actuellement. Il s'agit d'une procédure qui combine les micro-forages et l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses. Enea et coll ont appliqué cette procédure chez 9 patients souffrant d'arthrose du genou (107) et ont obtenu une régénération de cartilage hyalin. En France, le Dr Michel Assor emploie cette technique au cours de son essai clinique sur la régénération du cartilage du genou (108) et décrit d'excellents résultats. Cet essai me paraît très intéressant car contrairement à la majorité des études il ne concerne pas que des personnes jeunes. Ainsi l'âge des patients participant à l'essai varie de 30 ans à 75 ans. De plus les lésions sont de stade III ou IV et peuvent s'étendre jusqu'à 6 cm² (lésions plus étendues que dans les autres essais). Cet essai clinique a débuté en 2010 et il en est à sa phase II dans laquelle 350 patients seront concernés afin de confirmer l'efficacité de cette procédure. Celle ci consiste en plusieurs actions :

- Prélèvement de moelle osseuse (60cc), centrifugation, isolement des cellules mononuclées contenant les cellules souches mésenchymateuses (environ 19x10⁶)

de cellules mononuclées en sachant que 0,01 à 0,001% de ces cellules sont des CSM) et ensemencement sur une matrice résorbable faite de gélatine et où l'on ajoute des facteurs de croissance.

- Sous arthroscopie, micro-forages effectués au niveau des lésions (condyles et/ou plateau tibial), 1,5 à 2 mm de diamètre, 5 à 8 mm de profondeur, forages effectués tous les 2 à 3 mm .
- Implantation de la matrice au niveau des micro-forages.

A noter qu'il peut s'avérer nécessaire de corriger au préalable certains défauts au niveau de l'articulation (déformations varus ou valgus, rupture du ligament croisé, fissuration ménisque...) afin que la greffe puisse prendre. Les figures ci dessous montrent les étapes de forage et d'injection de la matrice.



Figure 28 : micro-forages du condyle fémoral

Figure 29 : injection de la matrice contenant les CSM

(disponibles sur : www.cellulesouches.org)

Le Dr Assor a présenté ses premiers résultats au congrès de la société française de chirurgie orthopédique et traumatologique du 11 novembre 2014. Entre Juillet 2010 et Octobre 2014, 45 patients ont pu profiter de cette opération. L'âge moyen était de 52,3 ans, le plus âgé ayant 72 ans. En termes de résultats, on a pu noter une nette amélioration des différents scores utilisés pour évaluer l'arthrose du genou. La douleur a diminué de manière significative. 41 patients sur 45 ont pu reprendre leur activité sportive (professionnelle ou occasionnelle) après un délai de 5 à 9 mois suivant l'opération. La couverture des lésions cartilagineuses par le tissu formé a été complète pour 40 patients. Les 5 couvertures partielles sont celles correspondantes aux patients opérés précocement dans l'étude et où le nombre

de micro-forage n'était pas suffisant. Ceci a été corrigé par la suite et seules des couvertures complètes ont été depuis obtenues. Le cartilage néoformé couvrait les lésions en couche mince 4 mois après l'opération et s'épaississait progressivement en 1 à 2 ans. L'examen histologique a mis en évidence « une présence prédominante de cartilage hyalin, avec collagène de type II et protéoglycanes, et présence de cartilage fibreux associé » (109).

Ces résultats ont été observés avec un recul moyen de 26 mois, et un recul maximal de 4 ans et demi pour le premier patient opéré. Seuls 3 incidents sont survenus sur les 45 patients opérés : 2 hématomes et 1 retard de consolidation de la greffe. Ces complications minimales ont pu être traitées sans aucun souci. Aucun effet indésirable ou complication ne sont apparus en lien avec l'utilisation des CSM. Encore une fois, l'administration de CSM est très bien tolérée.

Voici ci après les images montrant la repousse du cartilage :

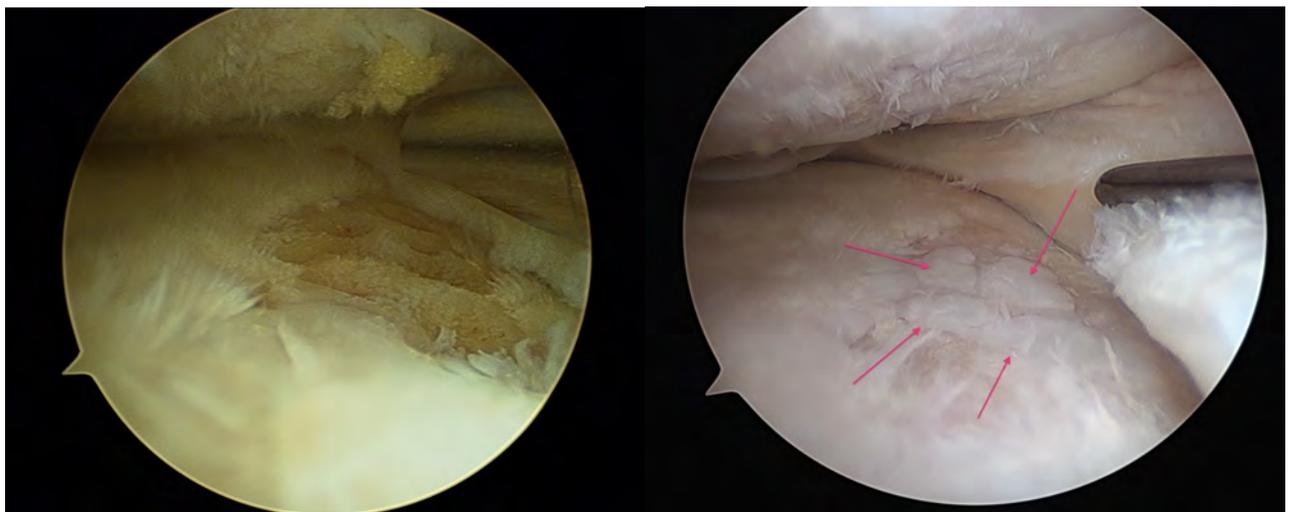


Figure 30 : visualisation par arthroscopie de la régénération du cartilage par technique des micro-forages et greffe de CSM chez un patient de 48 ans présentant une arthrose de stade IV.

A gauche : lésions cartilagineuses du plateau tibial, micro-forages effectués.

A droite : repousse du cartilage désignée par les flèches.

(disponible sur : www.cellulesouches.org)

Les imageries ci-après confirment ces résultats.



Figure 31 : Arthroscanner du genou avant et après opération par micro-forages et greffe de cellules souches

(disponible sur : www.cellulesouches.org)

Devant ces très bons résultats l'essai continue en phase II de confirmation d'efficacité et inclura 350 patients. Celle ci a pris un peu de retard étant donné qu'un nouveau protocole a dû être déposé à la suite des nouveaux statuts apparus pour les produits à base de cellules souches (statuts décrits dans la seconde partie). Ainsi la thérapie cellulaire et l'ingénierie tissulaire utilisées par le Dr Assor sont classées comme médicament de thérapie innovante à préparation ponctuelle. Cela oblige la collaboration avec un laboratoire de thérapie cellulaire afin de mettre en œuvre un kit de préparation et d'implantation cellulaire dont la technique opératoire serait reproductible entre les chirurgiens orthopédistes. Ceci permet de mettre en lumière tout l'aspect réglementaire entourant les essais cliniques.

La technique décrite ci dessus est donc une des rares à inclure des patients d'un âge supérieur à 50 ans. C'est l'un des essais les plus avancés en matière de traitement des lésions arthrosiques à base de cellules souches. Le Dr Assor précise cependant que les patients doivent être dans une bonne forme physique afin de pouvoir supporter à la fois l'opération mais aussi la rééducation de plusieurs mois qui suit. Après 4 années d'utilisation de cette procédure, le Dr Assor tire un premier bilan en concluant que le nombre de prothèses mise en place dans son service a diminué de moitié au profit de la thérapie par cellules souches. Cependant il affirme que les atteintes arthrosiques généralisées et étendues sur une

articulation entière ne sont pas une indication aux cellules souches. La mise en place d'une prothèse totale est donc encore indispensable dans ces cas là. Cette affirmation semble être valable pour l'ensemble des essais en cours.

Nous venons donc de présenter la technique en une seule étape. Celle-ci présente l'avantage de nécessiter qu'une seule opération et engendre moins de contraintes pour le patient avec un temps passé à l'hôpital plus restreint. Un autre aspect à prendre en considération est le fait que les cellules injectées ne sont pas uniquement des CSM puisque c'est un concentré de cellules mononuclées. Certains auteurs avancent que les autres cellules présentes dans ce concentré permettent de garder la niche cellulaire des CSM et créent ainsi un environnement favorable à leur renouvellement et différenciation. D'autres scientifiques craignent eux que l'administration de ces cellules puisse augmenter le risque de rejet auto-immun, et que le nombre final de CSM injectés soit trop faible. Ces craintes n'ont pas été vérifiées dans les études décrites précédemment mais des études plus nombreuses doivent être réalisées pour écarter complètement ce risque.

C.V Discussion

Les techniques conventionnelles, sans apport extérieur de cellules souches, représentées par les micro-fractures, la mosaïcplasty et la greffe de chondrocytes autologues ont été les pionnières en terme de régénération du cartilage des articulations des membres inférieurs (hanche, genou, cheville). Elles ont pour la première fois permis de soigner des lésions cartilagineuses, prouesse qui n'avait pu être envisagée auparavant. Malgré ces avancées, ces techniques présentent certaines limites. Elles ne sont pratiquées que sur des patients jeunes pour lesquels un traumatisme a provoqué une perte limitée et localisée de cartilage. Ces techniques ne sont pas indiquées dans le cas d'une arthrose avancée présentant des lésions cartilagineuses plus étendues touchant des personnes plus âgées. Elles permettent au mieux de prévenir l'arthrose sur l'articulation traumatisée mais les effets sur du long terme ne sont pas certains. Enfin le tissu régénéré via ces techniques n'est pas toujours du cartilage hyalin et prend la forme d'un tissu fibro-cartilagineux avec des propriétés mécaniques inférieures.

Les essais incluant les cellules souches dans le traitement des lésions cartilagineuses se multiplient. Le but ultime est de trouver une thérapie cellulaire permettant une régénération

complète du cartilage sur diverses articulations. Les études actuelles se concentrent essentiellement sur les articulations des membres inférieures et utilisent prioritairement les cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse. Il ne faut cependant pas mettre de côté le potentiel régénératif des autres types de cellules souches. Un accès plus simplifié aux cellules souches embryonnaires et une meilleure maîtrise des cellules souches pluripotentes induites pourraient éventuellement changer les approches dans le futur.

Les CSM prélevées peuvent soit être mises en culture, soit être réinjectées dans l'articulation sans passage prolongé *in vitro*. Ces deux types de procédures ont obtenus des résultats satisfaisants avec régénération de cartilage hyalin.

La procédure en une seule étape semble être la plus avancée et la plus avantageuse de par son moindre coût et la nécessité d'une seule opération. Conjointement à ces techniques, l'utilisation de structures de soutien des cellules souches issues de l'ingénierie tissulaire paraît être incontournable pour obtenir une régénération sur du long terme.

L'association de plusieurs techniques comme celle pratiquée dans l'essai du Dr Assor donne pour le moment les meilleurs résultats en terme de qualité du cartilage régénéré, de la taille et des stades des lésions opérables. De plus des patients de tout âge peuvent en profiter du moment que leur condition physique soit suffisamment bonne.

Ainsi la régénération du cartilage est effectivement possible. Des lésions cartilagineuses plus ou moins étendues (1 à 6 cm²) au niveau d'articulations comme la hanche, genou ou cheville peuvent être réparées avec les cellules souches selon ces techniques. Les essais cliniques les plus avancés en sont à la phase II et plusieurs années séparent encore l'arrivée de ces techniques d'une pratique sur la population arthrosique à grande échelle. L'établissement de consensus sur le type de matrice à utiliser, le choix des facteurs de croissance, la culture préalable ou non des cellules souches et le mode d'implantation dans les défauts cartilagineux paraissent incontournables pour optimiser les thérapies cellulaires.

L'accent est mis aujourd'hui sur le potentiel régénératif des CSM grâce à leur capacité de différenciation en chondrocytes. Ces cellules exercent également un effet paracrine et des études prouvent qu'elles peuvent inhiber la dégradation du cartilage. Cette autre caractéristique pourrait ainsi revêtir un rôle primordial dans la prévention de l'arthrose et mériterait des études plus approfondies.

D'autres sources de CSM sont disponibles et c'est dans ce contexte qu'un essai clinique d'envergure a débuté dans plusieurs hôpitaux européens dont le CHU de Montpellier, ayant

pour objectif de valider un traitement préventif de l'arthrose à travers l'injection de cellules souches dérivées du tissu adipeux. Il s'agit du projet ADIPOA (110).

Ceci démontre, que pour le moment, rien n'est arrêté et que plusieurs pistes sont étudiées afin de parvenir à un traitement efficace de l'arthrose.

Les premières thérapies cellulaires régénératives seront très probablement destinées aux patients présentant une arthrose localisée au niveau des membres inférieurs. Un nombre important de patients pourrait bénéficier de ces thérapies et pourrait ainsi éviter la mise en place de prothèse.

Pour les patients souffrant d'arthrose généralisée avec des lésions ostéo-cartilagineuses qui s'étendent sur toute l'articulation, la prothèse sera très certainement encore la meilleure solution pour la prochaine décennie. En effet, aucune étude basée sur les cellules souches n'offre pour le moment la possibilité de régénérer le cartilage sur une articulation entière.

Enfin, des recherches doivent être entreprises pour vérifier l'efficacité des cellules souches dans d'autres localisations d'arthrose comme par exemple l'arthrose des poignets ou des doigts.

Conclusion générale

L'arthrose est une maladie de plus en plus présente dans la société. La réduction de la qualité de vie et les douleurs associées à cette pathologie sont des facteurs qui nécessitent une prise en charge adaptée. La population âgée est la plus concernée et l'augmentation de l'espérance de vie va accentuer le problème. Les traitements disponibles permettent une réduction de la douleur et dans le meilleur des cas, freinent la destruction du cartilage. L'ultime solution proposée aux patients est le remplacement de l'articulation arthrosique par une prothèse. Ces chirurgies sont aujourd'hui fréquemment pratiquées, permettant à la personne de retrouver une certaine qualité de vie. Ces prothèses ont cependant des durées de vie limitées et n'offrent pas une qualité fonctionnelle identique à une articulation normale. Tous les patients ne peuvent donc pas en profiter.

Les cellules souches sont l'espoir d'une médecine régénératrice dans différents domaines. L'arthrose en fait partie et de nombreux essais cliniques démontrent que la reconstruction d'un cartilage hyalin est désormais envisageable à travers des thérapies cellulaires associées à l'ingénierie tissulaire. Ces thérapies innovantes s'intéressent actuellement aux articulations des membres inférieurs et ont démontré leur faisabilité et leur innocuité. Elles doivent maintenant prouver une efficacité supérieure aux thérapies conventionnelles comme la mosaïcplasty ou la greffe de chondrocytes autologues. D'ici quelques années, des patients présentant des lésions cartilagineuses localisées pourront très probablement bénéficier de ces nouveaux traitements.

Lors d'une arthrose sévère, avec des lésions cartilagineuses qui s'étendent sur l'articulation entière, ces thérapies montrent néanmoins leurs limites.

Ainsi, en complément de ces thérapies régénératrices, il serait bénéfique de pouvoir diagnostiquer l'arthrose de manière plus précoce. L'utilisation de cellules souches au stade des premières lésions pourrait alors permettre, via leur effet paracrine, d'empêcher la destruction progressive du cartilage.

Bibliographie

1. Collège international de médecine ostéopathe. Cours de rhumatologie. Disponible sur: <http://www.cimo.fr/ressources/rhumatologie1.pdf>
2. AFLAR. Résultats de la première grande enquête nationale sur l'arthrose. Disponible sur: <http://www.stop-arthrose.org/resultats-de-la-premiere-grande-enquete>
3. Inserm. Arthrose. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose>
4. CHU de Nancy. Enquête nationale sur l'arthrose. Lettre d'information n°3. Disponible sur: <https://drive.google.com/file/d/0BwjMPeyhR7CcUzFuRS1ZenVKMvk/view?usp=sharing&pli=1>
5. Arthrolink. Qu'est ce qu'une articulations saine non touchée par l'arthrose? Disponible sur: <http://www.arthrolink.com/maladie/comprendre/les-articulations>
6. Grange L. Physiopathologie de l'arthrose : rôle de la NADPH oxydase dans l'expression de la collagénase, MMP-1. Thèse de doctorat d'université. Grenoble : Université Joseph Fourier, 2007. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00148919/document>
7. COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie. Item 57 : Arthrose. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato5/site/html/cours.pdf>
8. Loeuille D. Arthrose et Os sous chondral : mythe ou réalité? Disponible sur: <http://www.grio.org/documents/journee-scientifique-17-370-1276692075.pdf>
9. Barr AJ, Campbell TM, Hopkinson D, Kingsbury SR, Bowes MA, Conaghan PG. A systematic review of the relationship between subchondral bone features, pain and structural pathology in peripheral joint osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2015, 17(1). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4548899/>
10. L'observatoire du mouvement. Le LiquideSynovial. Disponible sur:

<http://www.observatoire-du-mouvement.com/upload/contenu/odm26-liqsynov.pdf>

11. Khaldoun N, Abdessamad A, Dalila A et al. Physiopathologie de l'arthrose. Revue Marocaine de Rhumatologie. 2012, 22, 4-9.
12. Owonayo O, Eyram F, Agoda-Koussena L et al. Facteurs de risque de la gonarthrose en consultation rhumatologique à Lome Togo. 2014, 29, 28-31.
13. Rhumato.Info. Indice WOMAC. Disponible sur: <http://www.rhumato.info/fiches-pratiques2/148-arthrose/1572-indice-womac>
14. L'observatoire du mouvement. Évaluons l'arthrose. Disponible sur: [http://www.observatoire-du-mouvement.com/upload/contenu/odm19-eart\(1\).pdf](http://www.observatoire-du-mouvement.com/upload/contenu/odm19-eart(1).pdf)
15. Zufferey P, Theumann N. Imagerie et arthrose. Disponible sur: <http://www.revmed.ch/rms/2012/RMS-332/Imagerie-et-arthrose>
16. Lavoie JF, Picard C, Moreau A. La prohibitine : un nouveau bio-marqueur sanguin pour le diagnostic de l'arthrose. 2012. Revue MSA. Disponible sur: <http://www.msamerique.ca/articles/la-prohibitine-un-nouveau-bio-marqueur-sanguin-pour-le-diagnostic-de-l-arthrose>
17. Société Française de Médecine et chirurgie du pied. La fibuline 3 : un nouveau biomarqueur de l'arthrose. Disponible sur: <http://www.sfmcp.com/la-fibuline-3-un-nouveau-biomarqueur-de-larthrose/>
18. Medscape. Biomarqueurs de la sévérité de l'arthrose : trois microARNs candidats. Disponible sur: <http://www.medscape.com/viewarticle/3600755>
19. Haid S, Slimani S, Rahal F et al. Traitements médicamenteux de l'arthrose. Revue Marocaine de Rhumatologie. 2012, 22, 30-5.
20. Chevalier X, Richette P. Les antiarthrosiques symptomatiques d'action lente (AASAL). La lettre du rhumatologue. 2008, N°346, 9 p.
21. Haute Autorité de Santé. Questions et réponses. 2013, 2 p.

22. Ains topiques et arthrose. Disponible sur: <http://www.jle.com/download/--med-279211-ains-topiques-et-arthrose-pdf>
23. L'observatoire du mouvement. Traitement local de l'arthrose. Disponible sur: [http://www.observatoire-du-mouvement.com/upload/contenu/odm18-tlarthrose-nv\(1\).pdf](http://www.observatoire-du-mouvement.com/upload/contenu/odm18-tlarthrose-nv(1).pdf)
24. Institut parisien du dos. Les Infiltrations. Disponible sur: <http://www.institut-parisien-du-dos.fr/les-traitements/medicaux/les-infiltrations.html>
25. Chevalier X. Viscosupplémentation. E-mémoire de l'Académie Nationale de Chirurgie. 2012, 11 (4), 040-043
26. Avouac J, Vicaut E, Bardin T et al.. Efficacy of joint lavage in knee osteoarthritis: meta-analysis of randomized controlled studies. *Rheumatology*. 2 janv 2010;49(2):334-40.
27. Belabbassi H, Haddouche A, Ziane S et al. La prise en charge non pharmacologique dans l'arthrose. *Revue Marocaine de Rhumatologie*. 2012, 22, 37-44.
28. Dumitrache A, Sanchez-Barrueto K, Rannou F et al. Rthèses et arthrose, éléments de preuve. *La lettre du rhumatologue*. 2010, N°367, 2 p.
29. ANSM. Surveillance des prothèses de hanche. Disponible sur: [http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-des-dispositifs-medicaux-implantables/Surveillance-des-protheses-de-hanche/\(offset\)/1](http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-des-dispositifs-medicaux-implantables/Surveillance-des-protheses-de-hanche/(offset)/1)
30. Cattan D. Clinique de l'arthrose. Prothèse de genou. Disponible sur: <http://www.clinique-arthrose.fr/genou-protheses-de-genou.html>
31. Lhotellier L. Goupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon. Prothèse totale du genou et prothèse unicompartmentaire. Disponible sur: <http://www.hopital-dcss.org/soins-services-hopital/informations-medicales/item/159-prothese-totale-genou-prothese-unicompartmentaire.html>
32. Le traitement de l'arthrose par l'homéopathie. Disponible sur: <http://www.homéopathie.com/pathologies/arthrose.html>

33. La phytothérapie au profit de l'arthrose. Disponible sur: <http://www.guide-phytosante.org/veinotoniques-articulations/soigner-l-arthrose-phytotherapie/phytotherapie-profit-l-arthrose.html>
34. Nobelprize.org. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007. Disponible sur: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2007/
35. Inserm. Produire des cellules iPS : la découverte du 5ème élément. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/espace-journalistes/produire-des-cellules-ips-la-decouverte-du-5eme-element>
36. Martinat C. Inserm. Cellules souches embryonnaires humaines. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-inflammation-infectiologie-et-microbiologie/dossiers-d-information/cellules-souches-embryonnaires-humaines>
37. Blair K. EuroStemCell. Les cellules souches embryonnaires: d'où viennent-elles et que peuvent-elles faire? Disponible sur: <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/les-cellules-souches-embryonnaires-do%C3%B9-viennent-elles-et-que-peuvent-elles-faire>
38. Explorecuriocyte.org. Différenciation de cellules souches. Disponible sur: <http://explorecuriocity.org/portals/2/themes/biotechnology/differentiation-de-cellules-souches.pdf>
39. Morello D. Muséum de Toulouse. Cellules souches et thérapie : mythe ou futur proche ? Disponible sur: <http://www.museum.toulouse.fr/-/cellules-souches-et-therapie-mythe-ou-futur-proche->
40. Passweg J, Chalandon Y, Lehmann T et al. Paediatrica. 2010, 21, p.52-55.
41. Agence de la biomédecine. Rapport médical et scientifique. Disponible sur: <http://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2012/donnees/cellules/04-national/synthese.htm>
42. Reppel L. Potentialité des cellules stromales de la gelée de Wharton en ingénierie du cartilage. Thèse de doctorat d'université. Université de Lorraine, 2014. Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2014_0164_REPPEL.pdf

43. Maumus M. Caractérisation des cellules souches/progénitrices CD34⁺/CD31⁻ du tissu adipeux humain et influence du microenvironnement sur leur prolifération, migration et différenciation. Thèse de doctorat d'université. TOULOUSE. Université Paul Sabatier, 2009. Disponible sur: http://thesesups.ups-tlse.fr/1214/1/Maumus_Marie.pdf
44. Cavazzana-Calvo M, Lagresle C, André-Schmutz I et al. Moelle osseuse : réservoir de cellules souches réparatrices de différents tissus ? Ann Biol Clin (Paris). 1 mars 2004;62(2):131-8.
45. Agence de la Biomédecine. Don de moelle osseuse. Disponible sur: http://www.agencebiomedecine.fr/IMG/pdf/dossier_de_presse_4eme_semaine_vdef.pdf
46. Roubeix C. Intérêt des cellules souches mésenchymateuses dans la thérapie du glaucome. Thèse de doctorat d'université. Université Pierre Marie Curie, 2014. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01134389/document>
47. Noguès C, Creane M. EuroStemCell. Les cellules souches mésenchymateuses : les « autres » cellules souches de moelle osseuse. Disponible sur: <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/les-cellules-souches-m%C3%A9senchymateuses-les-%E2%80%9Cautres%E2%80%9D-cellules-souches-de-moelle-osseuse>
48. Joyeux H. Cellules souches : espoirs thérapeutiques. Disponible sur: <http://www.professeur-joyeux.com/espoirs-therapeutiques-cellules-souches/>
49. Maggioni M. EuroStemCell. Cellules souches de la peau: où se trouvent-elles et que peuvent-elles faire? Disponible sur: <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/cellules-souches-de-la-peau-o%C3%B9-se-trouvent-elles-et-que-peuvent-elles-faire>
50. Bismuth C. Les cellules souches chez l'adulte, applications possibles en médecine vétérinaire. Thèse doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil, 2008. Disponible sur: <http://theses.vet-alfort.fr/telecharger.php?id=1134>
51. Goblot P. Cité des sciences et de l'industrie. IPS, la nouvelle révolution cellulaire.

- Disponible sur: <http://www.universcience.tv/video-ips-la-nouvelle-revolution-cellulaire-450.html>?
52. Le Bousse-Kerdilès MC. Inserm. Niche des cellules souches hématopoïétiques. Disponible sur: <http://institut-lwoff.fr/niche-des-cellules-souches-hematopoiétiques>
 53. Pharmacorama. Régulation de la division cellulaire. Disponible sur: http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Therapie_geniquea3.php
 54. Les états généraux de la bioéthique. La bioéthique en quelques mots. Disponible sur: <http://www.etatsgenerauxdelabioethique.fr/presentation-generale/la-bioethique-en-quelques-mots.html>
 55. LOI n° 2013-715 du 6 août 2013 tendant à modifier la loi n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique en autorisant sous certaines conditions la recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires. 2013-715 août 6, 2013.
 56. LOI n° 2011-814 du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique. 2011-814 juill 7, 2011.
 57. Padilla-Torres ME. Inserm. De la pluripotence à la totipotence. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/espace-journalistes/de-la-pluripotence-a-la-totipotence>
 58. Couderc B. Bioéthique.com. Cellules iPS : la panacée des cellules souches? Disponible sur: <http://www.bioethique.com/index.php/recherche-clinique/cellulesips/77-cellules-ips-la-panacee-des-cellules-souches>
 59. ANSM. Le contexte réglementaire des médicaments de thérapie innovante. Disponible sur: [http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Le-contexte-reglementaire-des-medicaments-de-therapie-innovante/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/L-ANSM2/Medicaments-de-therapie-innovante-et-preparations-cellulaires-a-finalite-therapeutique/Le-contexte-reglementaire-des-medicaments-de-therapie-innovante/(offset)/0)
 60. Génétique.org. Recherche sur les Cellules Souches Embryonnaires Humaines : un domaine hors brevet pour l'Europe. Disponible sur: <http://www.genethique.org/fr/recherche-sur-les-cellules-souches-embryonnaires-humaines-un-domaine-hors-brevet-pour-leurope-63277#.VjFFkCujGXB>

61. Claeys A, Vialatte JS. Rapport sur les cellules souches. Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Disponible sur: <http://www.senat.fr/rap/r09-652/r09-6521.pdf>
62. Kemp P. EuroStemCell. Des cellules souches aux patients : le rôle de la commercialisation. Disponible sur: <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/des-cellules-souches-aux-patients-le-r%C3%B4le-de-la-commercialisation>
63. Unger C. EuroStemCell. Nouveaux outils pour la recherche sur les maladies : cellules reprogrammées dans la modélisation des maladies. Disponible sur: <http://www.eurostemcell.org/fr/factsheet/nouveaux-outils-pour-la-recherche-sur-les-maladies-cellules-reprogramm%C3%A9es-dans-la-mod%C3%A9li-0>
64. Martinat C, Maury Y, Côme J. I-Stem. Maladies du motoneurone. Disponible sur: <http://www.istem.eu/en/biotherapies/motoneuron-diseases/>
65. Yakoub-Agha I. CHRU de Lille. La greffe de cellules souches hématopoïétiques. Disponible sur: <http://www.leucemie-espoir.org/scripts/files/529cff54cf7d40.15739477/yakoubaghaquimper200911.pdf>
66. Peschanski M. Inserm. Première reconstitution d'un épiderme à partir de cellules souches. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/espace-journalistes/premiere-reconstitution-d-un-epiderme-a-partir-de-cellules-souches>
67. European Medicines Agency. Holoclar. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/002450/WC500183406.pdf
68. Inserm. Thérapie cellulaire de l'insuffisance cardiaque : première implantation de cellules cardiaques dérivées de cellules souches embryonnaires humaines. Disponible sur: <http://presse.inserm.fr/therapie-cellulaire-de-linsuffisance-cardiaque-premiere-implantation-de-cellules-cardiaques-derivees-de-cellules-souches-embryonnaires-humaines/17502/>
69. Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL et al. Human embryonic stem cell-derived retinal

pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet Lond Engl.* 7 févr 2015;385(9967):509-16.

70. The London Project. Disponible sur: <http://www.thelondonproject.org/>
71. Génétique.org. Autorisation d'un nouvel essai clinique à base de cellules souches embryonnaires humaines. [Internet]. Disponible sur:
<http://www.genethique.org/fr/autorisation-dun-nouvel-essai-clinique-base-de-cellules-souches-embryonnaires-humaines-63744.html#.Vjjj6yujGXA>
72. ClinicalTrials.gov. A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-01™ Combination Product in Subjects With Type I Diabetes Mellitus. Disponible sur:
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239354?term=VC-01&rank=1>
73. EurekAlert.org. Pilot clinical study into iPS cell therapy for eye disease starts in Japan. Disponible sur: http://www.eurekalert.org/pub_releases/2013-07/r-pcs073013.php
74. Génétique.org. Japon : Suspension du premier essai clinique utilisant des cellules iPS. Disponible sur: <http://www.genethique.org/fr/japon-suspension-du-premier-essai-clinique-utilisant-des-cellules-ips-63646.html#.VjnTUCujGXA>
75. Clinicaltrials.gov. Safety and Efficacy of Intravenous Autologous Mesenchymal Stem Cells for MS: a Phase 2 Proof of Concept Study. Disponible sur:
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02239393?term=MEsenchymal+Stem+Cell+Therapy+for+CANadian+MS+patients&rank=1>
76. Banerjee S, Bentley P, Hamady et al. Intra-Arterial Immunoselected CD34+ Stem Cells for Acute Ischemic Stroke. *Stem Cells Transl Med.* 8 août 2014;sctm.2013-0178.
77. Clinicaltrials.gov. Administration of Mesenchymal Stem Cells in Patients With Chronic Ischemic Cardiomyopathy (MESAMI2). Disponible sur:
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02462330?term=mesami&rank=1>
78. Berta Á, Duska Z, Tóth F et al. Clinical experiences with cartilage repair techniques: outcomes, indications, contraindications and rehabilitation. *Ekleml Hastalık Ve Cerrahisi Jt*

Dis Relat Surg. 2015;26(2):84-96.

79. Bark S, Piontek T, Behrens et al. Enhanced microfracture techniques in cartilage knee surgery: Fact or fiction? *World J Orthop.* 18 sept 2014;5(4):444-9.
80. Ulstein S, Årøen A, Røtterud JH et al. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014;22(6):1207-15.
81. Dickhut A, Gottwald E, Steck E et al. Chondrogenesis of mesenchymal stem cells in gel-like biomaterials in vitro and in vivo. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2008;13:4517-28.
82. Benthien JP, Behrens P. Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis (AMIC). *Cartilage.* janv 2010;1(1):65-8.
83. Boyer T, Bonvarlet JP. Traitement des lésions cartilagineuses du genou. Disponible sur: <http://thierry.boyer13.pagesperso-orange.fr/Lesions%20cartilagineuses.html>
84. Reverte-Vinaixa MM, Joshi N, Diaz-Ferreiro EW et al. Medium-term outcome of mosaicplasty for grade III-IV cartilage defects of the knee. *J Orthop Surg Hong Kong.* avr 2013;21(1):4-9.
85. Hangody L, Vásárhelyi G, Hangody LR et al. Autologous osteochondral grafting-- technique and long-term results. *Injury.* avr 2008;39 Suppl 1:S32-9.
86. Gudas R, Gudaite A, Pocius A et al. Ten-year follow-up of a prospective, randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint of athletes. *Am J Sports Med.* nov 2012;40(11):2499-508.
87. Zhang Z, Zhong X, Ji H et al. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation for the treatment of chondral defects of the knees in Chinese patients. *Drug Des Devel Ther.* 5 déc 2014;8:2439-48.
88. Haute Autorité de Santé. Avis Autogreffe de chondrocytes au niveau des condyles

- fémoraux. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011-02/avis_autogreffe_chondrocytes.pdf
89. Cheng A, Kapacee Z, Peng J et al. Cartilage Repair Using Human Embryonic Stem Cell-Derived Chondroprogenitors. *Stem Cells Transl Med.* nov 2014;3(11):1287-94.
 90. Uto S, Nishizawa S, Takasawa Y et al. Bone and cartilage repair by transplantation of induced pluripotent stem cells in murine joint defect model. *Biomed Res Tokyo Jpn.* 2013;34(6):281-8.
 91. Saito T, Yano F, Mori D et al. Hyaline cartilage formation and tumorigenesis of implanted tissues derived from human induced pluripotent stem cells. *Biomed Res Tokyo Jpn.* 2015;36(3):179-86.
 92. Margossian T. Caractérisation des Cellules Souches Mésoenchymateuses du sang placentaire et de la gelée de Wharton. Thèse de doctorat d'université. Université de Lorraine, 2013. Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/DDOC_T_2013_0030_MARGOSSIEN.pdf
 93. Gil-Ortega M, Garidou L, Barreau C et al. Native adipose stromal cells egress from adipose tissue in vivo: evidence during lymph node activation. *Stem Cells Dayt Ohio.* juill 2013;31(7):1309-20.
 94. Nakagami H, Morishita R, Maeda K et al. Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell therapy. *J Atheroscler Thromb.* avr 2006;13(2):77-81.
 95. Jingwei Y. Optimisation de modèles de culture 3D pour la différenciation des cellules souches mésoenchymateuses application à la chondrogénèse. Thèse de doctorat d'université. Nancy. Université Henri Poincaré. Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCD_T_2006_0251_YANG.pdf
 96. Kuroda K, Kabata T, Hayashi K et al. The paracrine effect of adipose-derived stem cells inhibits osteoarthritis progression. *BMC Musculoskelet Disord.* 3 sept 2015 ;16. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4559871/>

97. Gillet P. Inserm. Réparer le cartilage : Bio-ingénierie du cartilage. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/thematiques/technologies-pour-la-sante/dossiers-d-information/biomateriaux/repaper-le-cartilage-bio-ingenierie-du-cartilage>
98. Sheykhhasan M, Qomi RT, Kalhor N et al. Evaluation of the ability of natural and synthetic scaffolds in providing an appropriate environment for growth and chondrogenic differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells. *Indian J Orthop.* 2015;49(5):561-8.
99. Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB et al. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* déc 2003;48(12):3464-74.
100. Al Faqeh H, Nor Hamdan BMY, Chen HC et al. The potential of intra-articular injection of chondrogenic-induced bone marrow stem cells to retard the progression of osteoarthritis in a sheep model. *Exp Gerontol.* juin 2012;47(6):458-64.
101. Emadedin M, Ghorbani Liastani M, Fazeli R et al. Long-Term Follow-up of Intra-articular Injection of Autologous Mesenchymal Stem Cells in Patients with Knee, Ankle, or Hip Osteoarthritis. *Arch Iran Med.* juin 2015;18(6):336-44.
102. Kuroda R, Ishida K, Matsumoto T et al. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthr Cartil OARS Osteoarthr Res Soc.* févr 2007;15(2):226-31.
103. Wakitani S, Nawata M, Tensho K et al. Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. *J Tissue Eng Regen Med.* févr 2007;1(1):74-9.
104. Haleem AM, Singergy AAE, Sabry D et al. The Clinical Use of Human Culture-Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. *Cartilage.* oct 2010;1(4):253-61.
105. Giannini S, Buda R, Vannini F et al. One-step Bone Marrow-derived Cell Transplantation

- in Talar Osteochondral Lesions. Clin Orthop. déc 2009;467(12):3307-20.
106. Giannini S, Buda R, Battaglia M et al. One-step repair in talar osteochondral lesions: 4-year clinical results and t2-mapping capability in outcome prediction. Am J Sports Med. mars 2013;41(3):511-8.
 107. Enea D, Cecconi S, Calcagno S et al. Single-stage cartilage repair in the knee with microfracture covered with a resorbable polymer-based matrix and autologous bone marrow concentrate. The Knee. déc 2013;20(6):562-9.
 108. Clinicaltrials.gov. Transplantation of Bone Marrow Stem Cells Stimulated by Proteins Scaffold to Heal Defects Articular Cartilage of the Knee. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01159899?term=ASSOR&rank=1>
 109. Institut du Genou et Pathologies Articulaires . Assor M. Arthrose du genou, résultats préliminaires du traitement par cellules souches. Disponible sur: <http://www.cellulesouches.org/communications-diapositives-reacutesumeacutes-abstracts.html>
 110. Adipoa-2. Stem cell research for joint health. Disponible sur: <http://adipoa2.eu/>

Résumé en anglais :

Osteoarthritis is a degenerative joint disease. Most of the time, symptoms appear at an advanced age but cartilage lesions, at the origin of the illness, occur earlier. Osteoarthritis slowly develops but leads to the cartilage complete destruction causing pain and a functional failure of the joint. While traditional treatments always reduce pain, they only have small impact on the progression of osteoarthritis ; therefore the setting up of a prosthesis often is the ultimate solution. During the last decade, stem cells emergence has opened new therapeutics outlook in order to achieve a cartilage regeneration and to an effective treatment of osteoarthritis. Mesenchymal stem cells coupled to tissue engineering currently appear to be the best candidates to obtain such a result. Despite promising clinical trials, it will take years before stem cells could make part of the therapeutic strategy of osteoarthritis.

POTENTIEL THERAPEUTIQUE DES CELLULES SOUCHES DANS L'ARTHROSE

Résumé :

L'arthrose est une pathologie dégénérative des articulations. Ses symptômes apparaissent le plus souvent à un âge avancé mais les lésions cartilagineuses qui signent le départ de la maladie sont plus précoces. L'arthrose évolue lentement mais conduit à la destruction complète du cartilage entraînant des douleurs et une insuffisance fonctionnelle de l'articulation. Les traitements classiques réduisent seulement la douleur et n'ont que peu d'effets sur la progression de l'arthrose ; la mise en place d'une prothèse est donc souvent l'ultime solution. Lors de la dernière décennie, l'émergence des cellules souches a ouvert de nouvelles perspectives thérapeutiques pour parvenir à une régénération du cartilage, constituant alors un traitement efficace de l'arthrose. Les cellules souches mésenchymateuses couplées à l'ingénierie tissulaire semblent être actuellement les meilleures candidates pour obtenir un tel résultat. Malgré des essais cliniques encourageants, il faudra attendre plusieurs années avant que les cellules souches fassent partie de la stratégie thérapeutique de l'arthrose.

Discipline administrative : Pharmacie

Mots clés : arthrose, cartilage, cellules souches, thérapie cellulaire, chondrocytes

Université Paul Sabatier -Toulouse 3
Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, chemin des Maraîchers
31062 Toulouse cedex 9

Directeur de thèse : COUDERC Bettina