

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 102

**UTILISATION DES CELLULES SOUCHES
MÉSENCHYMATEUSES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 décembre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

TRAXER DE GRIVEL Nell

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 102

**UTILISATION DES CELLULES SOUCHES
MÉSENCHYMATEUSES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 2 décembre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

TRAXER DE GRIVEL Nell

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (01-09-2021)

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur émérite
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothee	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOSCA	Marion	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

REMERCIEMENTS AUX MEMBRES DU JURY

À Monsieur le Professeur Jean-François Nicolas,

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon Sud,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ma thèse,
Hommages respectueux.

À Monsieur le Professeur Didier Pin,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir proposé ce sujet, et encadrée durant mon travail de thèse,
Pour votre bienveillance, votre réactivité et vos précieux conseils,
Que vous trouviez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Jean-Luc Cadoré,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur de prendre part au jury de ma thèse,
Mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ANNEXES	13
TABLE DES FIGURES	15
TABLE DES TABLEAUX	17
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	19
INTRODUCTION	23
PARTIE 1 : QU'EST-CE QU'UNE CELLULE SOUCHE MÉSENCHYMATEUSE ?	25
I) Origine des cellules souches	25
1) Rappels sur le développement embryonnaire	25
2) Les différents types de cellules souches : de la cellule souche embryonnaire totipotente à la cellule souche adulte spécialisée mésenchymateuse.....	25
II) Définitions.....	26
1) Une définition avant tout fonctionnelle.....	26
2) Une définition secondaire, moléculaire	28
III) Les différents types de cellules souches de la peau	29
1) Épiderme	29
a) Rappels histologiques.....	29
b) Cellules souches de l'épiderme interfolliculaire.....	31
c) Cellules souches du follicule pileux	32
d) Cellules souches de la glande sébacée	33
2) Derme et hypoderme	33
a) Rappels histologiques.....	33
b) Cellules souches de la papille dermique.....	34
c) Cellules souches de la gaine conjonctive péripilaire	34
d) Cellules souches du tissu adipeux.....	35
e) Cellules souches du tissu musculaire.....	35
3) Théorie de l'origine périvasculaire des CSM	38
IV) Rôles physiologiques des cellules souches cutanées	39
1) Maintien de l'homéostasie tissulaire	39
a) Épiderme interfolliculaire.....	39
b) Poil et follicule pilo-sébacé.....	41
c) Derme et hypoderme	46
2) Réaction à une agression	46
a) Rappels sur la cicatrisation cutanée	46
b) Phase vasculaire et inflammatoire	47
c) Phase de réparation tissulaire	47
d) Phase de remodelage	49
3) Importance des niches et interactions au sein des niches.....	49
a) Rôle de la « niche » ou microenvironnement sur le devenir des cellules souches	49
b) Interactions entre la niche et le sécrétome.....	50
c) Interactions entre les différentes cellules au sein des niches	51
4) Interactions entre cellules souches et immunité	52

a)	Influence du système immunitaire sur les cellules souches.....	52
b)	Influence des cellules souches sur le système immunitaire.....	52

PARTIE 2 : INTÉRÊTS ET MÉTHODES D'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES

MÉSENCHYMATEUSES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN 57

I)	Intérêts de l'utilisation des CSM en dermatologie du chien.....	57
1)	La thérapie par les CSM : espoirs et promesses.....	57
2)	Matière première : utilisation des CSM.....	57
a)	Exclusion des autres types de cellules souches.....	57
b)	Multiplicité des sources de CSM.....	58
3)	Statut immunitaire privilégié des CSM : mythe ou réalité ?.....	60
4)	Devenir et mécanismes d'action des CSM après transplantation <i>in vivo</i>	62
a)	Caractéristiques pharmacocinétiques.....	62
b)	Caractéristiques pharmacodynamiques.....	63
5)	Sûreté de l'administration de cellules souches mésenchymateuses.....	64
a)	Innocuité attestée par l'emploi des CSM à grande échelle.....	64
b)	Vigilance face à quelques effets secondaires rapportés.....	65
6)	Allogreffe versus autogreffe.....	67
7)	Utilisation des produits dérivés des CSM, le sécrétome : vers une thérapie acellulaire.....	68
a)	Utilisation du sécrétome.....	69
b)	Utilisation d'une portion du sécrétome : les vésicules extracellulaires.....	69
II)	Exemples de quelques techniques pour l'obtention et l'utilisation de CSM.....	71
1)	Protocoles pour l'utilisation de préparations à base de CSM.....	71
a)	Sources de CSM et méthodes de prélèvement.....	71
b)	Isolement et culture des CSM.....	72
c)	Conservation des CSM obtenues.....	73
d)	Préparation de la solution à administrer.....	75
e)	Principes de protocoles pour la thérapie acellulaire.....	77
2)	Évaluation de la réussite d'un protocole thérapeutique à base de CSM.....	78
a)	Obtention de CSM en quantité et qualité suffisantes.....	78
b)	Évaluation du succès thérapeutique.....	81
III)	Défis et enjeux pour l'utilisation de CSM chez le chien.....	82
1)	Défis pratiques.....	82
a)	Critères de sélection du donneur.....	82
b)	Choix du protocole.....	83
c)	Contrôles qualité des préparations à base de CSM.....	86
2)	Enjeux éthiques.....	86
3)	Limites réglementaires.....	87
4)	Perspectives.....	88

PARTIE 3 : ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR L'UTILISATION DES CSM À DES FINS

THÉRAPEUTIQUES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN 89

I)	Utilisation des CSM pour le traitement d'affections cutanées chez le chien.....	89
1)	Les plaies cutanées.....	89
a)	Les différents types de plaies.....	89
b)	Le processus de cicatrisation cutanée.....	92
c)	Les différents types de cicatrisation et leur prise en charge.....	95
d)	Plaie aiguë <i>versus</i> plaie chronique.....	100

e)	Études rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement de plaies chez le chien.....	101
2)	La dermatite atopique du chien	112
a)	Pathogenèse	112
b)	Lésions et signes cliniques	113
c)	Diagnostic	114
d)	Traitements conventionnels	116
e)	Études rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement de la dermatite atopique du chien	118
3)	Le syndrome hépato-cutané	123
a)	Pathogenèse	123
b)	Lésions et signes cliniques	123
c)	Diagnostic	124
d)	Traitement	124
e)	Cas clinique rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement du SHC chez le chien	125
4)	Les fistules périanales chez le chien	128
a)	Pathogenèse	128
b)	Lésions et signes cliniques	129
c)	Diagnostic	129
d)	Traitements	130
e)	Étude rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement des fistules périanales chez le chien	132
5)	Le pemphigus foliacé.....	136
a)	Pathogenèse	136
b)	Lésions et signes cliniques	136
c)	Diagnostic	137
d)	Traitement	138
e)	Étude rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement du pemphigus foliacé canin.....	139
II)	Perspectives : contribution de la médecine vétérinaire à la médecine humaine et réciproquement.....	143
1)	Le chien, un modèle idéal pour l'étude d'affections dermatologiques humaines	143
2)	Analogies entre différentes pathologies communes à l'Homme et au chien, et utilisation des CSM	143
a)	Les plaies cutanées	143
b)	La dermatite atopique	144
c)	Les pemphigus	145
d)	Les fistules périanales et la maladie de Crohn	145
e)	L'épidermolyse bulleuse	146
f)	Le lupus érythémateux systémique.....	146
g)	Autres maladies esthétiques	147
CONCLUSION		149
BIBLIOGRAPHIE.....		151
ANNEXES		167

TABLE DES ANNEXES

<u>ANNEXE 1</u> : Évolution d'une plaie de morsure, chronique, soumise à un traitement à base de CSM, après la réalisation d'un lambeau cutané partiel, par NANJAPPA <i>et al.</i> (2014)	167
<u>ANNEXE 2</u> : Cas d'un chien présentant une plaie de brûlure chimique étendue, chronique, traitée à l'aide de CSM par RIBEIRO <i>et al.</i> (2014)	169
<u>ANNEXE 3</u> : Cas d'un chien présentant une plaie chronique, de cause inconnue, traitée à l'aide de CSM par RIBEIRO <i>et al.</i> (2014)	171
<u>ANNEXE 4</u> : Évolution d'une plaie traumatique, chronique, traitée à l'aide de CSM et PRP par ZUBIN <i>et al.</i> (2015)	173
<u>ANNEXE 5</u> : Évolution de plaies aiguës et chroniques, prise en charge de manière conventionnelle ou <i>via</i> une thérapie à base de CSM, par ENCISO <i>et al.</i> (2020b)	174

TABLE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Différentiation progressive des cellules souches	26
<u>Figure 2</u> : Caractérisation des CSM humaines selon la Société Internationale pour la Thérapie Cellulaire	28
<u>Figure 3</u> : Représentation schématique de la structure histologique de l'épithélium cutané	30
<u>Figure 4</u> : Représentation schématique d'une coupe sagittale de follicule pileux	31
<u>Figure 5</u> : Représentation schématique de la structure du follicule pilo-sébacé et localisations principales des cellules souches	37
<u>Figure 6</u> : Structure du follicule pileux, cellules souches folliculaires et cycle pileux	42
<u>Figure 7</u> : Importance de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine pour l'activation des CS folliculaires	44
<u>Figure 8</u> : Activation des CSM	53
<u>Figure 9</u> : Mécanismes d'action des CSM et leurs interactions avec les cellules du système immunitaire	56
<u>Figure 10</u> : Les différents types de vésicules extracellulaires	70
<u>Figure 11</u> : Représentation schématique des plaies créées et protocole thérapeutique associé, pour l'étude de KIM <i>et al.</i> (2013)	102
<u>Figure 12</u> : Processus de cicatrisation des plaies traitées avec les CSM-TA et traitement conventionnel, protocole de ENCISO <i>et al.</i> (2020a)	105
<u>Figure 13</u> : Sites de prédilection des lésions et du prurit associé chez les chiens atteints de DA	114
<u>Figure 14</u> : Échelle visuelle analogique, destinée au propriétaire, et permettant d'établir le score de prurit visuel	120
<u>Figure 15</u> : Lésions cutanées observées lors du premier examen au centre hospitalier	127
<u>Figure 16</u> : Amélioration significative de l'état général et cutané, après l'administration de CSM directement dans le parenchyme hépatique	127
<u>Figure 17</u> : Présentation clinique de fistules périanales	130
<u>Figure 18</u> : Évolution lésionnelle chez le chien numéro 6	134
<u>Figure 19</u> : Évolution lésionnelle chez le chien numéro 3	135
<u>Figure 20</u> : Présentations cliniques lésionnelles du pemphigus foliacé canin	137
<u>Figure 21</u> : Examen clinique initial du chien atteint de pemphigus foliacé	141
<u>Figure 22</u> : Examen clinique final, après administration de la thérapie cellulaire	142

TABLE DES TABLEAUX

<u>Tableau I</u> : Variabilité de quelques protocoles de prélèvement et expansion des CSM	74
<u>Tableau II</u> : Résultats obtenus lors de l'analyse de CSM par cytométrie de flux	79
<u>Tableau III</u> : Principales cytokines impliquées dans la phase inflammatoire de la cicatrisation	93
<u>Tableau IV</u> : Facteurs de croissance impliqués dans la cicatrisation	94
<u>Tableau V</u> : Études utilisant des CSM ou dérivés pour le traitement de plaies induites chirurgicalement chez le chien	104
<u>Tableau VI</u> : Cas clinique utilisant des CSM pour le traitement de plaies de morsures récentes chez un chien	106
<u>Tableau VII</u> : Études utilisant des CSM pour le traitement de plaies chroniques chez le chien	109
<u>Tableau VIII</u> : Étude comparative contrôlée pour l'utilisation de CSM pour le traitement de plaies aiguës et chroniques chez le chien	111
<u>Tableau IX</u> : Diagnostic différentiel des affections cutanées prurigineuses	115
<u>Tableau X</u> : Études utilisant des CSM pour le traitement de la dermatite atopique canine	119
<u>Tableau XI</u> : Cas clinique rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement de SHC chez le chien	126
<u>Tableau XII</u> : Étude rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement de fistules périanales chez le chien	133
<u>Tableau XIII</u> : Cas clinique rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement d'un chien souffrant de pemphigus foliacé	140

LISTE DES ABRÉVIATIONS

/ kg PV : par kilogramme de poids vif
ADN : acide désoxyribonucléique
AIT : allergen immunotherapy : immunothérapie allergénique
AMM : autorisation de mise sur le marché
APC : protéine APC : *adenomatous polyposis coli*
ARNm : acide ribonucléique messenger
B7-1 : protéine membranaire de type 1 ou CD80 : cluster de différenciation 80
B7-2 : protéine membranaire de type 2 ou CD86 : cluster de différenciation 86
 β -FGF : basic fibroblast growth factor : facteur de croissance basique des fibroblastes
BMP : Bone Morphogenic Protein : protéine osseuse morphogénique
CADESI : Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index : index de sévérité et extension des lésions des chiens souffrant de dermatite atopique
CADLI : Canine Atopic Dermatitis Lesion Index : index de lésions de dermatite atopique canine
CD : cluster de différenciation
CD80 : cluster de différenciation 80 ou B7-1 : protéine membranaire de type 1
CD86 : cluster de différenciation 86 ou B7-2 : protéine membranaire de type 2
Cdkn1b : cyclin-dépendant kinase inhibitor 1b
Cdkn1c : cyclin-dépendant kinase inhibitor 1c
Cdkn2b : cyclin-dépendant kinase inhibitor 2b
CMH I : complexe majeur d'histocompatibilité de classe I
CMH II : complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
CO₂ : dioxyde de Carbone
CS : cellule(s) souche(s)
CSM : cellules souches mésenchymateuses
CSM-CTLA4 : CSM surexprimant l'antigène 4 des lymphocytes T cytotoxiques
CSM-hCSE : CSM dérivées de CS embryonnaires humaines
CSM-MO : CSM dérivées de moelle osseuse
CSM-TA : CSM dérivées de tissu adipeux
CTLA4 : antigène 4 des LT
DA : dermatite atopique
DAMPs : damage-associated molecular patterns
DAPP : dermatite par allergie aux piqûres de puces
Dkk : Dickkopf (inhibiteur de Wnt)
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium high glucose
DMSO : diméthylsulfoxyde
DPBS : Dulbecco's phosphate-buffered saline : tampon phosphate salin de Dulbecco

Dsh : dishevelled
EGF : epidermal growth factor : facteur de croissance épidermique
FBS : fetal bovine serum : sérum bovin foetal
FGF : fibroblast growth factor : facteur de croissance des fibroblastes
FVS : fraction vasculaire stromale
GDF11 : growth differentiation factor 11 : facteur de croissance et de différenciation 11
GSK3- β : glycogène synthase kinase 3 β
hCSM-GW = CSM humaines issues de Gelée de Wharton
HGF : hepatocyte growth factor : facteur de croissance des hépatocytes
HO : hème oxygénase
IBIMR : instant blood mediated inflammatory reaction
ID : intradermique
IDO : indoleamine 2,3-dioxygénase
IFN- γ : interféron gamma
IgE : immunoglobulines E
IGF : insuline-like growth factor : facteur de croissance analogue à l'insuline
IL : interleukine
IM : intramusculaire
IPSC : induced pluripotent stem cells : cellules souches pluripotentes induites
IV : intraveineux/intraveineuse(s)
KC : kératinocytes
LB : lymphocytes B
LEF : lymphoid enhancer factor-1
LT : lymphocytes T
MDSCs : muscle-derived stem cells : cellules souches dérivées de muscle
MEC : matrice extracellulaire
miARN : micro-acide ribonucléique
MMPs : matrix metalloproteinases : métalloprotéases matricielles
MTI : Médicament de Thérapie Innovante
MV : multivésicules
ND : nom déposé
NO : monoxyde d'azote
PAMs : peptides et protéines antimicrobiens : AMPs : antimicrobial peptides and proteins
PAMPs : pathogene-associated molecular patterns
PBS : phosphate-buffered saline : tampon phosphate salin
PCNA : proliferating cell nuclear antigen : antigène nucléaire de prolifération cellulaire
PDGF : platelet derived growth factor : facteur de croissance dérivé des plaquettes
PGE2 : prostaglandine E2
PO : *per os*
PRP : plasma riche en plaquettes
PVA : alcool polyvinylique

q : *quaque*

RPM : rotations par minute

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction

SC : sous-cutané(e)

SDF-1 : stromal cell-derived factor 1 : facteur dérivé de cellules stromales 1

SHC : syndrome hépato-cutané

SID : single in day : une fois par jour

TCF : T cell factor

TGF : transforming growth factor : facteur de croissance transformant

Th1 : lymphocyte T auxiliaire sous-type 1

Th2 : lymphocyte T auxiliaire sous-type 2

TLR : Toll like receptor

TNF- α : facteur de nécrose tumorale

TRAIL : TNF-related apoptosis- inducing ligand

VEGF : vascular endothelial growth factor : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Wnt : contraction de Wg (pour « wingless ») et Int (pour « integration »)

INTRODUCTION

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) sont des cellules indifférenciées, multipotentes et capables d'auto-renouvellement, présentes au sein de tissus conjonctifs communs. Leur autre appellation, cellules stromales mésenchymateuses, paraît redondante, puisque « stroma » et « mésenchyme » désignent tous deux des tissus conjonctifs, plus ou moins matures. L'utilisation du terme « souche » peut, néanmoins, être considéré comme inadapté car, bien que les CSM soient capables de reconstruire des tissus entiers après de multiples divisions, ce mécanisme ne semble pas avoir de lien avec leurs propriétés thérapeutiques.

De par leurs nombreuses qualités et, notamment, leur activité immunomodulatrice, les CSM sont, en effet, très attractives et placées au cœur de la recherche scientifique depuis les années 50. Leur utilisation, en médecine vétérinaire, notamment en orthopédie du chien et du cheval, s'est d'abord déroulée dans le cadre d'essais cliniques. Aujourd'hui, la mise sur le marché européen de deux composés à base de CSM (Arti-Cell Forte[®] et HorStem[®]), à destination des chevaux arthrosiques, simplifie leur emploi et ouvre de nouvelles perspectives.

Parallèlement, la prise en charge d'animaux de compagnie, en particulier de chiens, pour des affections cutanées est en constante augmentation.

Alors que l'arsenal thérapeutique à disposition des vétérinaires évolue, par exemple avec le développement d'antiprurigineux spécifiques (Cytopoint[®], Apoquel[®]), le recours à des immunosuppresseurs ou autres molécules plus anciennes, telles que les glucocorticoïdes, reste souvent indispensable, associé à des effets secondaires multiples, et est parfois insuffisant. Il est donc raisonnable de s'interroger sur la potentielle utilisation de CSM, en tant que traitement, en dermatologie du chien.

La définition des CSM et leur implication dans l'homéostasie cutanée sont, d'abord, rappelées. Nous détaillons, ensuite, l'intérêt et les méthodes d'utilisation des CSM. Enfin, nous étudions les cas cliniques et les études publiés décrivant l'emploi de CSM à visée thérapeutique, en dermatologie du chien.

PARTIE 1 : QU'EST-CE QU'UNE CELLULE SOUCHE MÉSENCHYMATEUSE ?

I) Origine des cellules souches

1) Rappels sur le développement embryonnaire

Chez les mammifères, l'individu a pour origine un œuf ou zygote, unique, issu de la fécondation d'un ovule par un spermatozoïde. Ce zygote, unicellulaire, se divise de nombreuses fois donnant des blastomères identiques, c'est le stade « morula » (16-32 cellules) puis, à cinq jour, l'embryon devient cavitaire et porte le nom de « blastocyste ». Ensuite, lors de la nidation utérine, entre 6 et 12 jours d'âge chez l'Homme pour l'embryon, celui-ci est formé de trois types cellulaires différents. On distingue le tissu trophoblastique, cellules les plus externes qui seront à l'origine du placenta, l'endoderme primitif, futur sac vitellin, et l'épiblaste, plus au centre, qui participera aux annexes embryonnaires et « sera à l'origine de toutes les cellules de l'embryon lui-même » (LE GALL et ARDAILLOU, 2010).

Pendant toute la vie de l'animal, du stade embryon jusqu'à l'âge adulte, en passant par le stade fœtal, des cellules dites « souches » participent à l'élaboration, au développement et au maintien de cet organisme multicellulaire, structuré et fonctionnel. Celles-ci peuvent être subdivisées en différents groupes, compte tenu de l'étendue de leurs propriétés.

2) Les différents types de cellules souches : de la cellule souche embryonnaire totipotente à la cellule souche adulte spécialisée méenchymateuse

Initialement, jusqu'au stade huit blastomères, l'embryon est un ensemble de cellules souches (CS) embryonnaires totipotentes, définies par leur propriété d'induction de l'intégralité du développement embryonnaire et fœtal (LE GALL et ARDAILLOU, 2010).

À partir du stade blastocyste, les CS embryonnaires, un peu plus spécialisées, sont alors qualifiées de pluripotentes, c'est-à-dire que leur différenciation permettra l'élaboration des trois feuillets embryonnaires (ectoderme, mésoderme, endoderme).

Au cours du développement fœtal, ces CS « restreignent progressivement leur potentiel d'organogenèse » (FORTUNEL et MARTIN, 2008) et sont, alors, à partir du 46^{ème} jour, considérées comme des CS plus spécialisées, dites multipotentes.

Ainsi, une fois le processus d'élaboration du fœtus terminé, une petite population de CS est présente dans chaque organe, dans chaque tissu. On parle alors de cellules souches adultes

tissulaires. Les cellules souches mésenchymateuses appartiennent à cette catégorie de CS (figure 1). Plus précisément, d'après l'étymologie du mot « mésenchyme », elles sont présentes dans des tissus particuliers que sont les tissus conjonctifs communs (LAROUSSE²), comme le derme et l'hypoderme par exemple. Malgré leur classification de CS multipotentes théoriquement capables de se différencier uniquement en tissus de type mésodermique, les cellules souches mésenchymateuses (CSM) seraient douées, au moins *in vitro*, d'une certaine pluripotence puisqu'elles pourraient se différencier en tissus non-mésodermiques, tels que des « neuron-like cells » ou cellules de type neuronal, des hépatocytes et des « pancreatic islet like cells » ou pseudo cellules d'îlot pancréatique (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019). Après avoir été des actrices majeures de la construction d'un nouvel individu, elles endossent le rôle de « garants de l'intégrité du tissu auquel elles appartiennent » (FORTUNEL et MARTIN, 2008).

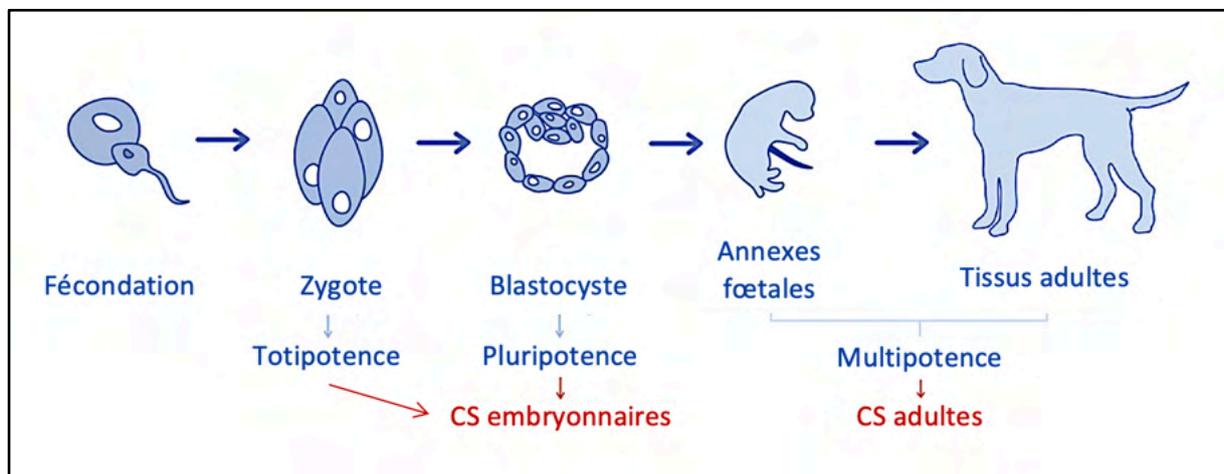


Figure 1 : Différenciation progressive des cellules souches
 Légende : CS : cellules souches. (D'après DIAS *et al.*, 2019).

II) Définitions

1) Une définition avant tout fonctionnelle

Les cellules souches adultes résidentes des tissus sont indifférenciées, immatures, mais déjà spécialisées. Elles sont définies avant tout par leurs propriétés, en partie dues à leur caractère indifférencié.

DEREURE (2012) considère deux propriétés comme fondamentales pour ces cellules : l'auto-renouveaulement et le maintien pendant une durée indéfinie (vie de l'individu), ainsi que la

multipotence, qu'elle définit comme « l'aptitude (...) à générer tous les types de cellules différenciées du tissu » auquel elles appartiennent. Elle ajoute à ces deux caractéristiques la notion de quiescence au sein de leurs niches (ou microenvironnements), avec lesquelles l'interaction est essentielle (cf. *infra*). Enfin, elle décrit le phénomène de transdifférenciation, plus rare, qui est la capacité à donner naissance à des cellules issues d'autres lignages que celui du tissu dont elles sont issues (exemple : des cellules souches mésenchymateuses à l'origine de kératinocytes, dérivés ectodermiques).

L'auto-renouveaulement peut être défini comme « la capacité pour une cellule souche de donner après mitose au moins une cellule identique à elle-même, qui conserve son plein potentiel de différenciation et de prolifération » (CHARBORD et CASTEILLA, 2011). On parle de division asymétrique : une cellule fille conserve le phénotype souche, tandis que la seconde entrera dans un processus de différenciation. Cette cellule fille est parfois décrite comme une « transit amplifying cell » (LAVKER and SUN, 2000) ou « cellule d'amplification transitoire » (QUATRESOOZ *et al.*, 2012), c'est-à-dire qu'elle possède encore un certain potentiel prolifératif, plus limité que celui des CS. Elle peut se multiplier encore plusieurs fois avant de se différencier de façon définitive. L'accroissement du nombre cellulaire du tissu est alors amplifié. Cependant, cette capacité d'auto-renouveaulement, théoriquement illimitée dans le temps, ne doit pas être confondue avec une forme d'immortalité, en effet les cellules souches adultes sont victimes, voire peut-être actrices, du procédé de sénescence (LE GALL et ARDAILLOU, 2010).

Pour compléter la notion de quiescence, il est important de noter que les CS sont des cellules à haut potentiel prolifératif mais leur cycle cellulaire, à l'état basal physiologique, est très lent, les mitoses sont peu nombreuses (QUATRESOOZ *et al.*, 2012). Cela permet notamment de conserver le potentiel de prolifération, tout en diminuant les erreurs de réplication de l'ADN (LAVKER and SUN, 2000). En cas de besoin, en réponse à certains stimuli, les CS passent à un état de prolifération intense transitoire. Ce phénomène peut être considéré comme une propriété fonctionnelle supplémentaire : la flexibilité ou plasticité (CHARBORD et CASTEILLA, 2011).

Une dernière propriété des cellules souches, évoquée dans une étude, est leur potentiel de détoxification, basé sur « la capacité des cellules souches à excréter efficacement des drogues et colorants » (FORTUNEL et MARTIN, 2008).

2) Une définition secondaire, moléculaire

Face au manque de définition universelle des CS, dans le but de standardiser les préparations cellulaires et de permettre des comparaisons entre études issues de laboratoires différents, la Société Internationale de Thérapie Cellulaire (DOMINICI *et al.*, 2006) a souhaité énoncer des critères minimaux pour définir les CS, et plus particulièrement les CS mésenchymateuses d'origine humaine (figure 2).

Le premier critère abordé est la capacité d'adhésion des CS au plastique lorsqu'elles sont placées dans des conditions standardisées de culture.

Le second critère concerne l'expression d'antigènes spécifiques de surface, permettant la reconnaissance rapide des CS. Celles-ci doivent exprimer CD105 (ou Endogline, appartenant au complexe récepteur du TGF- β), CD73 (ou Ecto-5'-nucléotidase ou NT5E) et CD90 (Cluster de différenciation 90 ou antigène de différenciation des thymocytes 1 ou Thy-1). Pour éviter toute confusion avec d'autres cellules, il est également recommandé qu'elles n'expriment pas d'antigènes hématopoïétiques.

La dernière condition rejoint la définition fonctionnelle et biologique des cellules souches, qui est leur capacité de différenciation *in vitro* en cellules appartenant aux trois lignées mésenchymateuses : ostéoblastes, chondroblastes et adipocytes.

Ce panel d'antigènes est imparfait et ne permet pas d'identifier uniquement des CS mésenchymateuses, cependant, associé aux critères fonctionnels, ce phénotype de surface peut s'avérer intéressant.

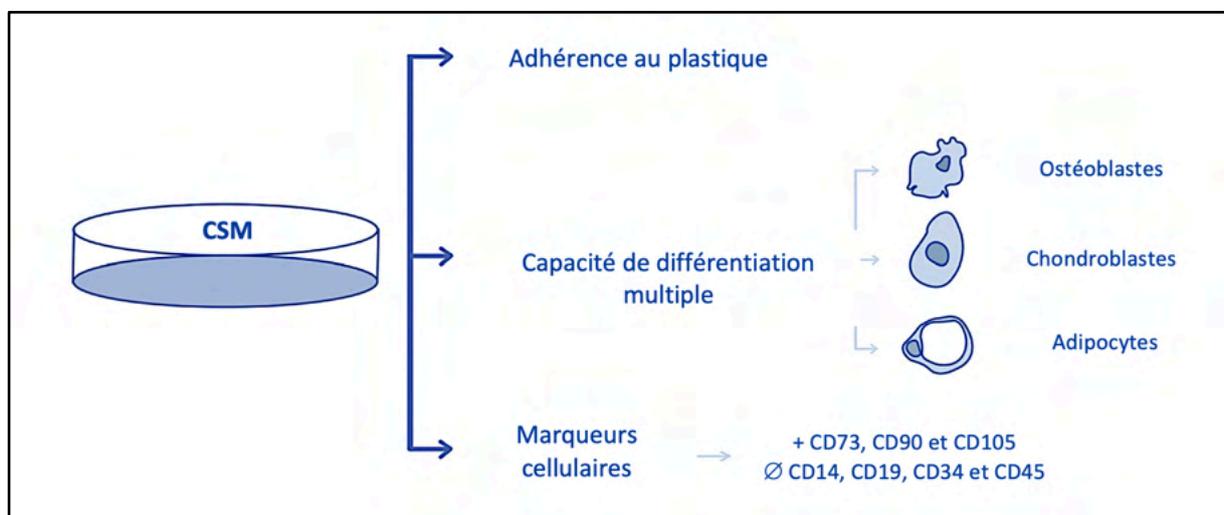


Figure 2 : Caractérisation des CSM humaines selon la Société Internationale pour la Thérapie Cellulaire

*Légende : CSM : cellules souches mésenchymateuses ; CD : cluster de différenciation ; + : présence ; Ø : absence. (D'après DIAS *et al.*, 2019).*

Après avoir défini ce que sont les CS, présentes dans tous les organes du corps, nous nous intéressons à celles présentes au sein de notre organe d'étude : la peau.

III) Les différents types de cellules souches de la peau

La peau est une barrière entre l'organisme et son environnement, il s'agit de la première ligne de défense contre les agressions extérieures (traumatismes, infections) mais aussi contre la déshydratation (ALONSO and FUCHS, 2003). La peau est un organe regroupant une grande variété de tissus. Elle est organisée en strates, au nombre de quatre : l'épiderme (tissu épithélial), le derme et l'hypoderme (tissus conjonctifs richement vascularisés et innervés) et le muscle peaucier (ALBERTS *et al.*, 2012).

1) Épiderme

a) Rappels histologiques

L'épiderme (figure 3) est la couche la plus mince et la plus superficielle (3 à 5 strates cellulaires chez le chien, 25 à 30 chez l'Homme). L'épiderme est un épithélium pluristratifié, kératinisant, de quatre couches (basale ou germinative, épineuse, granuleuse et cornée) (FORTUNEL et MARTIN, 2008), ancré sur une membrane basale (ALONSO and FUCHS, 2003). Cet épithélium est « pavimenteux, orthokératosique, non vascularisé mais innervé » (PROST-SQUARCIONI, 2006). A la surface de cet épithélium, s'abouchent de nombreuses annexes et glandes dont les follicules pileux, les glandes sébacées et les glandes sudoripares. L'épithélium est un des organes les plus actifs au sein de la peau : les cellules les plus externes desquament en continu et sont progressivement remplacées par des cellules issues des couches sous-jacentes. L'épiderme est totalement renouvelé en 1 à 2 mois chez l'Homme (FORTUNEL et MARTIN, 2008 ; ALBERTS *et al.*, 2012). Malgré ce renouvellement permanent, l'organisation du tissu reste parfaitement stable grâce à une kératinopoïèse active, à laquelle les CS prennent part.

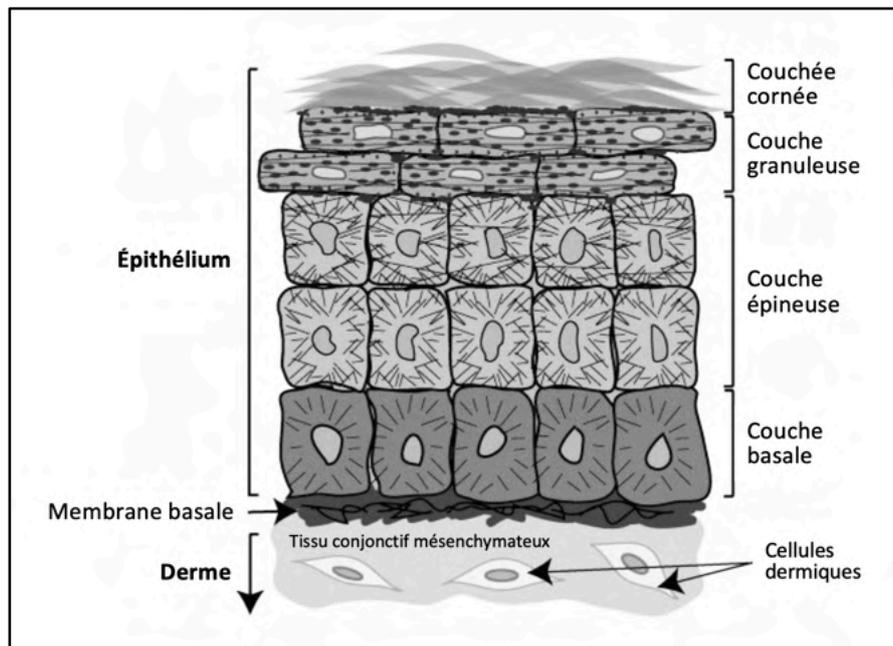


Figure 3 : Représentation schématique de la structure histologique de l'épithélium cutané
Un flux cellulaire a lieu de la couche basale vers la couche cornée, concomitant d'une différenciation progressive des cellules. (D'après ALONSO and FUCHS, 2003).

Le follicule pileux (figure 4) est également très actif, en fonction des différentes phases du cycle pileux. Il est considéré comme un « appendice » de l'épiderme (LAVKER and SUN, 2000). Il est constitué du poil, enveloppé dans des gaines (interne et externe), de glandes sébacées, et suivant les zones, d'un muscle érecteur et de glandes sudorales apocrines. On distingue une partie supérieure, permanente, et une partie plus profonde, cyclique, produisant le poil (ALONSO and FUCHS, 2003). L'isthme est la région entre l'abouchement de la glande sébacée au follicule et l'insertion du muscle érecteur. Au-dessus, il s'agit de l'infundibulum, au-dessous, du bulbe pileux, composé de la matrice du poil et de la papille dermique.

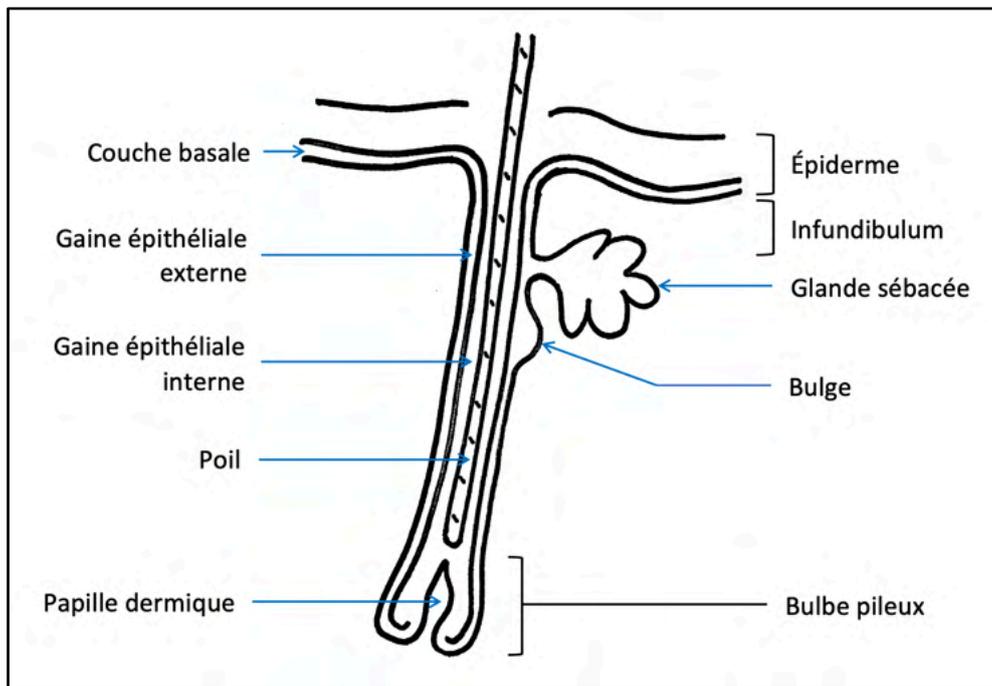


Figure 4 : Représentation schématique d'une coupe sagittale de follicule pileux (D'après ALONSO and FUCHS, 2003).

Chaque partie de l'épiderme contient des cellules souches, dont on connaît plus ou moins bien la localisation. Trois niches principales ont été identifiées, une en zone interfolliculaire, une dans le « bulge » et une de l'isthme (QUATRESOOZ *et al.*, 2012), au niveau de la glande sébacée (NIEZGODA *et al.*, 2017).

b) Cellules souches de l'épiderme interfolliculaire

Le maintien et le renouvellement permanent de l'épiderme sont permis par un groupe de CS situé entre les follicules pilo-sébacés, au sein de l'épiderme interfolliculaire. Il existe un équilibre finement régulé de la kératinopoïèse. Parmi les kératinocytes de la couche basale, bien que ces cellules soient déjà engagées dans une lignée cellulaire précise (DEREURE, 2012), certains peuvent être reconnus comme des CS car ils présentent une faible activité mitotique, ainsi que des propriétés d'auto-renouvellement et d'organogenèse.

Leur localisation exacte n'est pas clairement définie (ALONSO and FUCHS, 2003) et serait variable suivant la zone cutanée : en profondeur au niveau des crêtes épidermiques pour les paumes et plantes chez l'Homme, plus en surface ou parsemées de manière aléatoire le long de la couche germinative (DEREURE, 2012).

Il est intéressant de noter que les kératinocytes souches ne représentent que 0,1 à 1% des kératinocytes basaux, qui représentent eux-mêmes 10% des kératinocytes de l'épiderme.

Les CS de l'épiderme interfolliculaire assurent l'homéostasie de l'épiderme en générant des kératinocytes, mais également en étant à l'origine de glandes sébacées, de lignées constituant le follicule pileux et probablement des glandes sudoripares également. Le choix de la voie de différenciation semble donc plutôt être dû à l'environnement des CS ou « niche », plutôt qu'à une pré-programmation (WATT, 2002). De plus leur multipotentialité n'a pas encore été démontrée, mais elle n'est pas exclue (FORTUNEL et MARTIN, 2008).

c) Cellules souches du follicule pileux

Le follicule pileux est l'hôte de CS cutanées le plus documenté. Cette invagination de l'épiderme dans le derme fournit aux CS une niche à l'abri du milieu extérieur, protégées de la déshydratation, des rayons lumineux... On trouve notamment une concentration de CS au niveau du « bulge » ou renflement folliculaire, situé juste sous l'abouchement de la glande sébacée au follicule, au niveau de l'insertion du muscle érecteur, dans la paroi du canal pileux (QUATRESOOZ *et al.*, 2012). C'est dans cette zone que les CS ont été identifiées pour la première fois au sein de la peau. Il est intéressant de noter que si un renflement réel est visualisable chez la souris, cet effet est beaucoup moins marqué chez l'Homme (DEREURE, 2012).

Au niveau de ce renflement, on trouve des CS adultes, qui pourraient intervenir dans le renouvellement de l'intégralité des structures épithéliales, et non seulement du follicule, en se différenciant en kératinocytes folliculaires et interfolliculaires, sébocytes, mélanocytes... À l'heure actuelle, une incertitude persiste quant à la nature des CS présentes dans cette niche. En effet, on ne sait pas s'il s'agit d'une unique catégorie de CS multipotentes, capables d'engendrer toutes les lignées cellulaires de la peau, ou s'il s'agit de CS déjà partiellement « engagées » dans un lignage précis mais pouvant encore se « transdifférencier » (DEREURE, 2012).

QUATRESOOZ et son équipe (2012) décrivent également ces cellules, « nestine-positives », qui auraient la capacité de se différencier dans de très nombreux types cellulaires différents (neurones, cellules gliales, kératinocytes, cellules musculaires lisses, mélanocytes et vaisseaux sanguins).

L'existence de CS mélanocytaires a aussi été certifiée dans cette même niche (NISHIMURA, 2011 ; DEREURE, 2012). Elles sont d'abord immatures et dépourvues de mélanine, c'est seulement lors du passage de la phase télogène à la phase anagène du poil que celles-ci vont entamer une migration en direction de la papille dermique, où elles entreront en division et se chargeront en pigment (DEREURE, 2012).

Une autre niche non loin du bulge a été décrite. Il s'agit de l'isthme pileux, plutôt dans sa partie supérieure (BLANPAIN and FUCHS, 2009), correspondant à la glande sébacée (NIEZGODA *et al.*, 2017). Les CS de ces deux niches auraient les mêmes fonctions (QUATRESOOZ *et al.*, 2012).

d) Cellules souches de la glande sébacée

Très peu de données concernant les CS de la glande sébacée sont disponibles, elles sont effectivement les CS cutanées les moins étudiées. Elles se situent à la base de la glande, et participent, à l'aide des CS du follicule pileux, à sa régénération. Les CS de la glande sébacée peuvent également, en cas de besoin, se différencier en cellules épidermiques (NIEZGODA *et al.*, 2017).

Après avoir décrit l'existence de CS à la fois dans l'épiderme interfolliculaire et dans le follicule pilo-sébacé, il est intéressant d'étudier les proportions de ces populations. Des données chiffrées ne sont pas disponibles mais ALONSO et FUCHS (2003) expliquent que la principale réserve de CS se situe dans le bulge plutôt que dans l'épiderme basal.

La peau, en plus des CS de l'épiderme, héberge de nombreuses CS au sein de ses strates inférieures.

2) Derme et hypoderme

a) Rappels histologiques

Situé sous l'épiderme, séparés par la jonction dermo-épidermique, le derme, tout comme l'hypoderme, est un tissu conjonctif, ayant une origine mésodermique. Ils contiennent de nombreuses structures telles que vaisseaux, nerfs et terminaisons nerveuses, ainsi que du tissu musculaire lisse (muscle érecteur du poil) ou strié squelettique (prolongement du muscle peaucier) (PROST-SQUARCIONI, 2006).

Le derme peut être divisé en deux régions chez l'homme : le derme papillaire, superficiel, situé entre les crêtes épidermiques, constitué de tissu conjonctif lâche, et le derme réticulaire, profond, constitué d'un tissu conjonctif plus dense.

Il n'existe pas de limite nette de composition entre le derme et l'hypoderme, ce dernier étant dans le prolongement de l'autre.

L'hypoderme est un ensemble de « lobules graisseux séparés par des septums interlobulaires servant de passage aux vaisseaux et aux nerfs destinés au derme » (PROST-SQUARCIONI, 2006).

b) Cellules souches de la papille dermique

Au cœur du derme, à la base du follicule pilo-sébacé, se situe la papille dermique (ou papille folliculaire). En effet, au niveau de leur extrémité profonde, les enveloppes du follicule s'invaginent pour former le bulbe pileux, au sein duquel est creusée une cavité appelée papille dermique (PROST-SQUARCIONI, 2006). L'origine dermique de cette papille a été confirmée par des études de lignées cellulaires (MORGAN, 2014).

Des cellules souches sont présentes dans sein de la papille dermique. Ces CS, nommées SKPs pour « skin-derived precursors » (ou précurseurs dérivant de la peau) par FERNANDES *et al.* (2004), ont la capacité de se différencier à la fois en cellules appartenant à des lignées mésodermiques et neuroectodermiques, voir même en neurones, normalement jamais au niveau de la peau. Ces cellules sont douées de multipotence et possèdent de nombreux points communs avec les cellules souches embryonnaires de la crête neurale (QUATRESOOZ *et al.*, 2012). Ces CS ne sont pas prédéterminées à appartenir à la lignée de la papille dermique. En effet, c'est uniquement une fois placées dans des conditions particulières que les cellules du derme sont recrutées par des signaux dérivés des kératinocytes (MORGAN, 2014). Les interactions entre cellules et entre cellules et environnement semblent avoir un rôle clé.

Dans une certaine mesure, on peut considérer que la papille dermique héberge également de manière transitoire des CS mélanocytaires. En effet, ces CS sont d'abord présentes dans le bulge (DEREURE, 2012) ou juste en-dessous, dans la gaine épithéliale externe (NISHIMURA, 2011), puis après une première division, une cellule fille non-différenciée migre en direction de la papille à l'aide de prolongements dendritiques. La papille recense donc, plutôt que des CS, des « transit amplifying cells » (ou cellules d'amplification transitoire) à l'origine de futurs mélanocytes (DEREURE, 2012).

On décrit également la présence d'une autre population de CS mésenchymateuses appelées « Muse », qui semblerait avoir des marqueurs de pluripotence (QUATRESOOZ *et al.*, 2012).

c) Cellules souches de la gaine conjonctive péripilaire

Une autre niche de CS dermiques est la gaine conjonctive périfolliculaire (ou péripilaire). Ces CS jouent un rôle dans l'élaboration de la papille, mais également dans la cicatrisation via le recrutement de fibroblastes (QUATRESOOZ *et al.*, 2012). D'autres auteurs confirment la présence de CS mésenchymateuses dans cette gaine, cellules qui auraient la capacité de se différencier en ostéocytes, adipocytes, chondrocytes, myocytes, fibroblastes (lignée mésodermique), en hépatocytes et, également, en cellules endothéliales et kératinocytes par transdifférenciation (DEREURE, 2012 ; QUATRESOOZ *et al.*, 2012).

d) Cellules souches du tissu adipeux

Le tissu adipeux est un site majeur de dépôt d'énergie. Longtemps considéré comme un simple organe de stockage, sa composition lui confère aujourd'hui un intérêt marqué, puisqu'il s'agit de la source de CS la plus utilisée en thérapeutique vétérinaire. En effet, la fraction en adipocytes matures représente seulement 20 à 30% du tissu. Les 70 à 80% qui restent composent la fraction vasculaire stromale (FVS), un pool cellulaire regroupant, entre autres, fibroblastes, précurseurs d'adipocytes, cellules endothéliales et cellules immunitaires. (MÜLLER *et al.*, 2016).

Une niche de CS se situe effectivement dans l'hypoderme (QUATRESOOZ *et al.*, 2012 ; MAZINI *et al.*, 2020), plus précisément, à proximité des vaisseaux sanguins (MÜLLER *et al.*, 2016), dans le stroma périvasculaire (DEREURE, 2012). Ces CS représenteraient environ 20 à 55% de la FVS (MÜLLER *et al.*, 2016), ce qui est une concentration bien plus élevée que les CS de la couche basale de l'épiderme par exemple.

Ces cellules possèderaient un fort potentiel multipotent et seraient capables de se différencier en adipocytes matures, fibroblastes dermiques, kératinocytes et autres cellules (DEREURE, 2012 ; MAZINI *et al.*, 2020).

De par leur potentiel et leur facilité d'accès par liposuction, les cellules souches mésenchymateuses adultes dérivées de l'hypoderme seront par la suite au cœur de notre étude.

e) Cellules souches du tissu musculaire

La peau contient différents types de tissus musculaires. Les muscles érecteurs des poils et les muscles des vaisseaux sanguins sont des muscles lisses, tandis que le muscle peaucier est un muscle strié squelettique.

i. CS musculaires lisses

Le muscle érecteur du poil relie la jonction dermo-épidermique au poil, en-dessous de l'isthme. Ce muscle lisse s'étend le long de la glande sébacée. L'horripilation est rendue possible par sa contraction, qui provoque une verticalisation du poil associé (PROST-SQUARCIONI, 2006). L'intégrité et le renouvellement de ces muscles est certainement permise par des CS, cependant elles ne semblent pas décrites dans la littérature.

Les muscles des vaisseaux sanguins sont également des muscles lisses. Les CS correspondantes seraient situées au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins, ces CS seraient alors capables de se différencier en cellules des muscles lisses, afin de garantir le maintien de la structure qu'ils constituent (WANG *et al.*, 2015).

ii. CS musculaires striées squelettiques

Si l'on s'intéresse aux cellules souches du muscle peaucier, et donc du muscle strié squelettique en général, il a été évoqué l'existence de plusieurs populations de CS.

Le muscle strié squelettique est composé de fibres musculaires, englobées par une membrane, le sarcolemme, lui-même immergé au sein d'une matrice extracellulaire (MEC). Cette matrice est appelée la membrane basale, et peut être divisée en deux parties : la lame basale et la lame réticulaire (DINULOVIC *et al.*, 2017).

USAS et HUARD (2007) décrivent la présence de plusieurs populations de CS au sein du muscle strié squelettique : les cellules satellites, les « muscle-derived stem cells » (MDSCs) ou cellules souches dérivées du muscle, considérées comme les prédécesseurs des cellules satellites, ainsi que les péricytes et hémangioblastes.

En 2010, une autre théorie considère que ce sont les cellules satellites (et non les MDSCs) qui permettent la régénération du muscle (ABOU-KHALIL *et al.*, 2010). Ces cellules donneraient naissance après division à des précurseurs myogéniques, dont une partie, considérée comme « réserve », ne subirait pas de différenciation terminale et conserverait alors les propriétés des cellules satellites (indifférenciées, propriété d'auto-renouveaulement, capacité à générer des cellules musculaires différenciées). Les cellules souches du muscle seraient donc les cellules satellites, ou une sous-population d'entre elles (ABOU-KHALIL *et al.*, 2010).

Tous s'accordent cependant sur leur localisation dans une zone située le long des fibres musculaires, entre le sarcolemme et la membrane basale.

Au sein de la peau, les CS sont présentes au niveau de nombreux compartiments. La figure 5 représente les principales niches où celles-ci ont été identifiées.

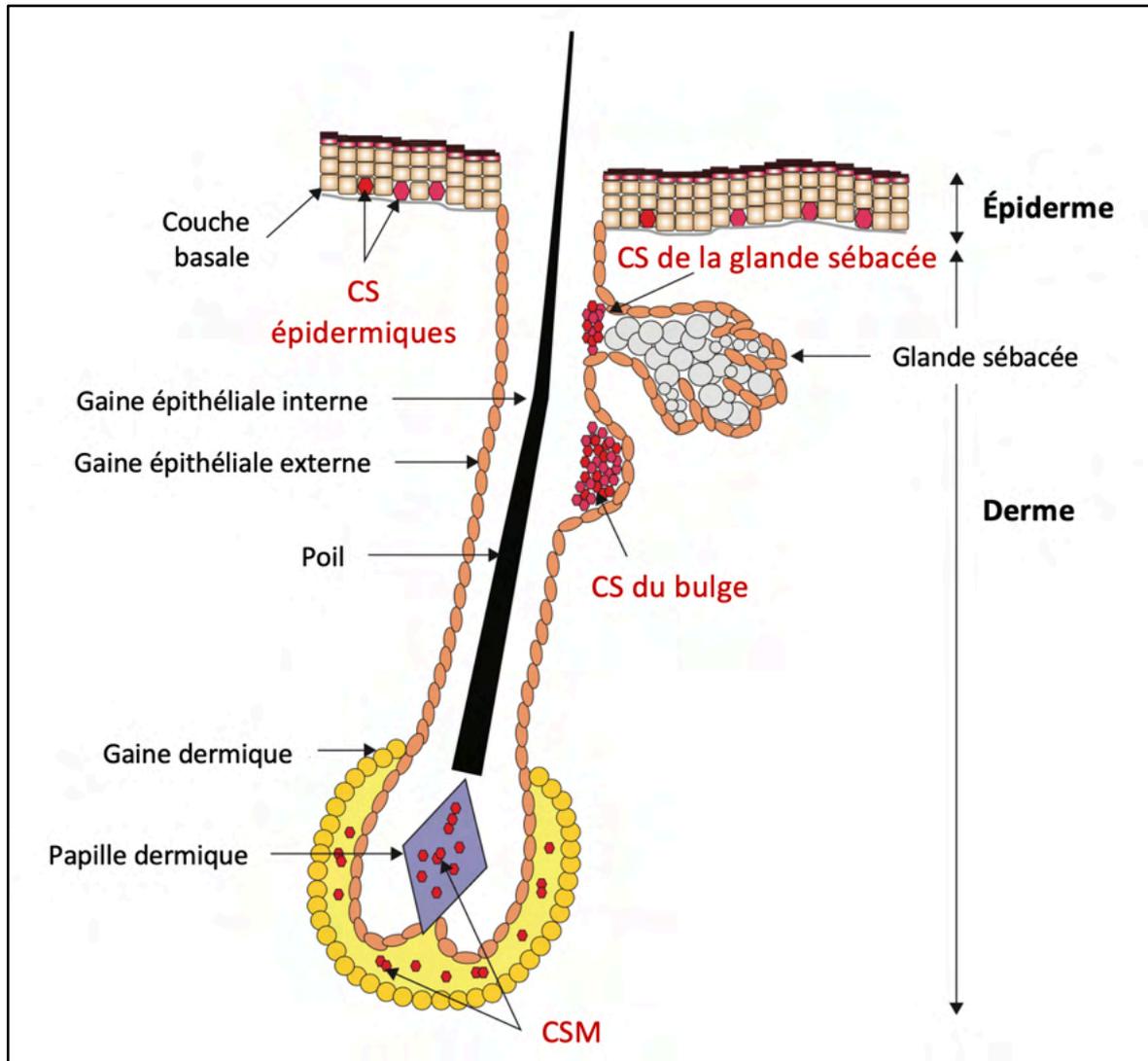


Figure 5 : Représentation schématique de la structure du follicule pilo-sébacé et localisations principales des cellules souches

Légende : CS : cellules souches ; CSM : cellules souches mésoenchymateuses.

(D'après NIEZGODA et al., 2017).

Conjointement à l'identification de ces différentes niches, une autre origine des CS est proposée par certains auteurs.

3) Théorie de l'origine périvasculaire des CSM

L'existence d'une niche périvasculaire des CSM est proposée (VIEIRA *et al.*, 2010). En effet, la grande ressemblance des CSM avec les péricytes, des cellules résidant contre les parois des vaisseaux sanguins, a conduit certains scientifiques à considérer que la plupart des CSM, voire la totalité, dérivent de ces cellules murales (CAPLAN, 2017 ; AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Les péricytes possèdent des propriétés proches de celles des CSM. Ils sont en effet capables de maintenir l'intégrité de la structure qu'ils composent : les vaisseaux sanguins. Ils peuvent aussi se différencier en adipocytes, chondrocytes et ostéoblastes (NIEZGODA *et al.*, 2017). Ces données, confrontées au fait que les CSM peuvent être isolées de tous les tissus vascularisés, ont conduit à l'élaboration de l'hypothèse selon laquelle les CSM sont issues de la différenciation de péricytes (CAPLAN, 2017).

Il est important de noter que cette théorie est ici mentionnée, car présente dans la littérature, mais non reprise de manière unanime.

Quelle que soit leur localisation, ces différents types de CS, présentes dans tous les tissus, sont des acteurs clés du maintien de l'intégrité de l'organisme dont elles font partie.

IV) Rôles physiologiques des cellules souches cutanées

Les cellules souches de la peau ont différentes fonctions *in vivo*, notamment un double rôle, puisqu'elles servent à la fois de fournisseur de matières premières *via* la multiplication cellulaire, et également de décisionnaire et modérateur puisqu'elles orchestrent des actions clés comme l'entrée ou non en différenciation, la cicatrisation, l'inflammation, etc.

1) Maintien de l'homéostasie tissulaire

Les deux composants de la peau se renouvelant le plus souvent sont l'épiderme et le poil. Ce processus physiologique qui maintient un nombre constant de cellules dans les organes en renouvellement est appelé homéostasie tissulaire. Les CS cutanées sont particulièrement actives pour maintenir cette homéostasie tissulaire *via* l'apport de nouvelles cellules pour succéder à celles qui sont constamment perdues lors de la desquamation naturelle ou bien après une blessure (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

La présentation qui suit distingue les CS de l'épiderme interfolliculaire, des CS du follicule pilo-sébacé et des CS du derme et de l'hypoderme, pour des raisons purement pratiques, puisque les données traitent généralement d'un seul compartiment et donc d'un seul type de CS à la fois. Cependant, il est important de noter que c'est bien l'ensemble des CS qui participe à l'homéostasie tissulaire. En effet, les CS étant douées des capacités de multipotence et de dédifférenciation, il a été montré par exemple que des CS de l'épiderme interfolliculaire peuvent générer des cellules du follicule pileux (BLANPAIN and FUCHS, 2009), et inversement, que des CS du bulge peuvent générer des cellules épidermiques (LAVKER and SUN, 2000 ; GUASCH et BLANPAIN, 2004).

a) Épiderme interfolliculaire

i. Maintien de la quiescence

Bien que l'épiderme se renouvelle en permanence grâce aux CS de la couche basale, celles-ci sont le plus souvent au repos. En effet, ce stade indifférencié dans lequel les CS possèdent toutes leurs propriétés de multipotence, d'auto-renouvellement indéfini et de quiescence, nécessite d'être maintenu tout au long de la vie de l'organisme, afin de conserver ce pool constant. ALONSO et FUCHS (2003) expliquent que cela serait permis grâce à une adhésion forte des CS à la membrane basale, notamment grâce à leurs intégrines transmembranaires. En effet, les expériences de WATT (2002) suggèrent que l'adhésion des CS à la MEC *via* les intégrines- β 1 induit la genèse d'un signal de non-différenciation et donc de maintien au repos.

ii. Division cellulaire : induction et régulation

Le point de départ de l'homéostasie est l'apport de nouvelles cellules pour remplacer les kératinocytes constamment perdus par desquamation. Cela est permis par la multiplication de CS toutefois peu nombreuses (FORTUNEL et MARTIN, 2008). Le type de division évoqué par plusieurs auteurs est asymétrique, c'est-à-dire que chaque CS mère donne naissance à deux cellules filles, l'une restant à l'état de cellule souche, la seconde étant destinée à un processus de différenciation après encore quelques divisions. À ce stade intermédiaire, elles sont appelées « transit amplifying cells », puisqu'il s'agit d'un état transitoire, dans lequel elles possèdent encore certaines des capacités des CS, comme le fait de générer des cellules non totalement différenciées, permettant ainsi d'accroître très rapidement le potentiel multiplicatif des CS basales, qui sont peu nombreuses et dont les cycles cellulaires sont plutôt lents (LAVKER and SUN, 2000 ; WATT, 2002 ; ALONSO and FUCHS, 2003 ; BLANPAIN and FUCHS, 2009 ; DEREURE, 2012). FORTUNEL et MARTIN (2008) expliquent que ces « progéniteurs se distinguent des cellules souches notamment par le fait qu'ils se trouvent dans un état de prolifération plus actif et qu'ils ne possèdent pas la capacité d'auto-renouvellement à long terme de ces dernières. » Ce type de cellules entrera inévitablement en différenciation, contemporaine d'une migration progressive vers les couches superficielles de l'épiderme. Cependant, une divergence d'opinion existe concernant la présence ou non de « transit amplifying cells », mais des études supplémentaires sont nécessaires pour le prouver (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

Le maintien du potentiel prolifératif de ces cellules semble être étroitement lié à un gène. En effet, des études chez le rat et la souris ont démontré que le gène p63, un gène homologue du gène p53 suppresseur de tumeur, est indispensable pour assurer cette propriété des CS épidermiques (SENOO *et al.*, 2007).

La stabilité dans le temps de l'épiderme est la preuve de l'existence d'une régulation fine de cette entrée en division. Pour sortir de leur état quiescent de manière cyclique et régulière, les CS semblent être génétiquement programmées. Au sein de l'épiderme, le gène *MYC* est indispensable pour permettre aux CS de sortir de leur niche (WATT, 2002), sans quoi multiplication et différenciation seraient impossibles. En effet, il semble que *MYC* modifie la conformation en histones des cellules en une conformation dans laquelle la chromatine est dans un état activé, prémices de mitose. On parle alors de régulation épigénétique (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

iii. Différentiation cellulaire : induction et régulation

Après multiplication, les cellules subissent une différenciation terminale. Celle-ci n'est pas laissée au hasard puisqu'elle est aussi régulée. Après division, une cellule fille sur deux doit se détacher de la niche et donc de la membrane basale pour pouvoir entamer sa différenciation contemporaine de sa migration vers la surface. Pour cela, il est possible que cette cellule reçoive des signaux, probablement grâce à la protéine Numb, dont le gène est un inhibiteur du gène Notch. En effet, la voie de signalisation Notch exerce un contrôle négatif sur l'expression des intégrines membranaires, nécessaires à l'adhésion à la membrane basale. Une expression différente de cette voie pour l'une ou l'autre des cellules filles est une bonne candidate pour expliquer leur détachement et donc leurs avenir différents (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

b) Poil et follicule pilo-sébacé

La régénération des poils et follicules fonctionne de manière cyclique. Au cours de sa vie et de chaque cycle, le follicule peut se trouver à tout moment dans l'un des trois états suivants : un stade de repos, appelé phase télogène, un stade de croissance, appelé phase anagène, suivi d'un stade de dégénérescence, appelé phase catagène (BLANPAIN, 2007). L'homéostasie de ces annexes cutanées est régie, en partie au moins, par les CS (figure 6).

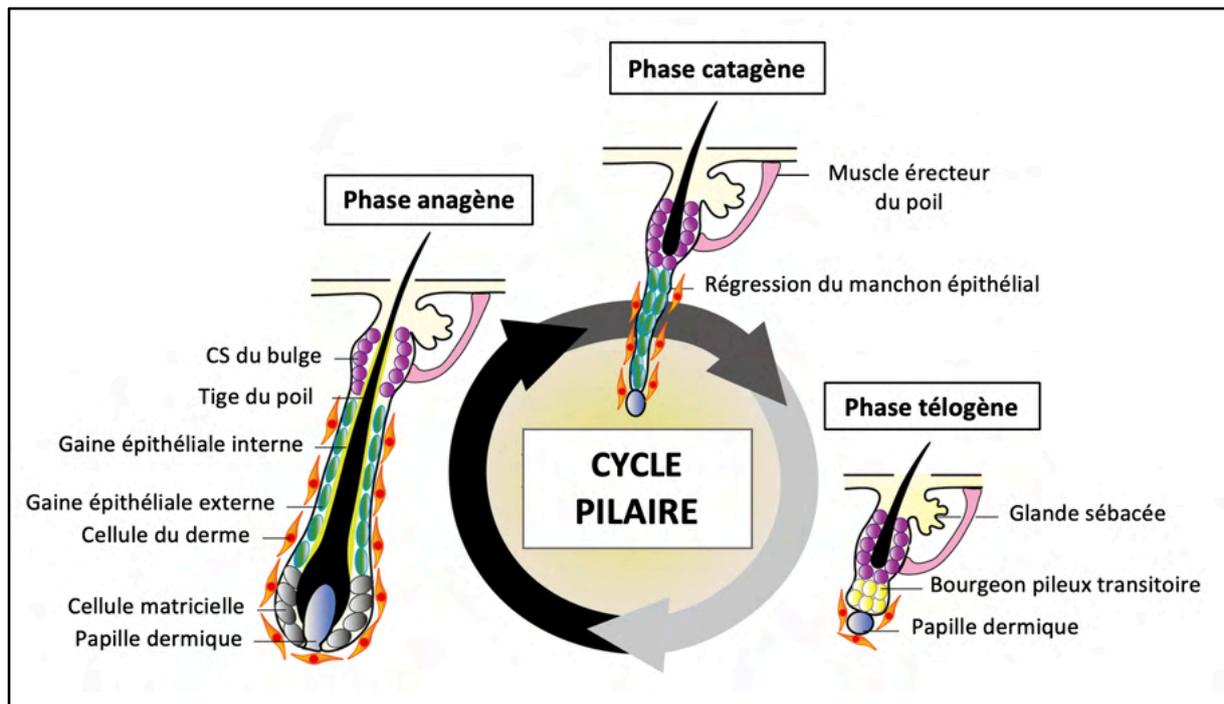


Figure 6 : Structure du follicule pileux, cellules souches folliculaires et cycle pileaire

En phase télogène, les CS folliculaires quiescentes sont situées au niveau du bulge. Des CS pré-activées sont présentes au niveau du bourgeon pileux transitoire, au moment de la transition entre les phases télogène et anagène. Transitoirement activées, les CS se divisent et les cellules filles progressent en profondeur pour former la portion non-permanente du follicule. Lors de la phase de croissance, les cellules matricielles présentes au niveau du bulbe pileux prolifèrent pour soutenir l'élongation du poil et sa gaine, permise par les CS. En phase catagène, le bulbe pileux et la portion basse du follicule régressent, via le raccourcissement progressif du manchon épithélial, déjà amorcé en phase télogène. Très actives en phase anagène, les CS folliculaires sont plutôt au repos lors des phases catagène et télogène.

Légende : CS : cellules souches. (Traduit d'après Chen et al., 2020).

i. Maintien de la quiescence

Les CS folliculaires, bien qu'elles aient un rôle majeur dans l'homéostasie du poil et du follicule pilo-sébacé, et de l'épiderme en général, sont la plupart du temps au repos. Cet état quiescent, basal, semble être maintenu grâce au signal BMP (Bone Morphogenic Protein). Les CS peuvent être dans deux états de quiescence différents, soit réfractaires, soit sensibles à une éventuelle activation. Ces deux états semblent liés à la concentration en BMP du derme, qui tend à diminuer à la fin de la phase télogène. La capacité des CS du bulge à être activées, et donc permettre la régénération du follicule pileux, est donc dictée par l'expression cyclique dans le derme des protéines BMP (BLANPAIN and FUCHS, 2009). Cette

hypothèse est également soutenue par MORGAN (2014), qui explique que l'expression de BMP prolonge la phase télogène du cycle pileux.

D'autres composants interviennent dans le maintien de cet état indifférencié. Par exemple, il a été montré que la surexpression de composants de la voie Wnt/ β -caténine était impliquée (DEREURE, 2012). Cette voie sera détaillée par la suite.

Des acteurs, directement en lien avec le cycle cellulaire, entrent également en jeu. DEREURE (2012) évoque par exemple l'expression amplifiée d'inhibiteurs du cycle (Cdkn1b, Cdkn1c et Cdkn2b, TGF- β) ou l'expression diminuée de gènes associés au déroulement de mitoses (Ki67, PCNA, cyclines, kinases dépendantes de cyclines...).

ii. Division cellulaire : induction et régulation

Chaque nouveau cycle commence par l'activation des CS du bulge, pour leur permettre d'entrer en division et de générer des cellules progénitrices à haut potentiel prolifératif (« transit amplifying cells ») (BLANPAIN, 2007).

Différentes molécules ont été identifiées comme jouant un rôle dans l'évolution des CS en « transit amplifying cells ». ALONSO et FUCHS (2003) évoquent notamment le proto-oncogène *MYC*. Il s'agit d'un gène connu pour réguler, *via* la production de facteurs de transcription, la prolifération de nombreux types cellulaires, dont les kératinocytes. En effet, certaines expériences chez des souris transgéniques ont démontré que la surexpression de *MYC* est associée à une diminution du nombre de CS mésenchymateuses du bulge, ainsi qu'à un défaut de cicatrisation.

La voie Wnt/ β -caténine semble également jouer un rôle dans cette induction (figure 7). Il s'agit d'une voie de transmission intracellulaire qui détermine de nombreux devenir cellulaires, et intervient très tôt au cours du développement embryonnaire mais également à l'âge adulte. Cette voie est régie par l'action conjointe de deux protéines : β -caténine et Wnt. La β -caténine est une protéine présente dans le cytoplasme des CS, plus précisément au niveau des jonctions cellulaires, attachées aux cadhérines qui assurent l'adhérence intercellulaire. Elle peut également se lier à des facteurs de transcription et ainsi stimuler l'expression de certains gènes. Il est alors évident que sa concentration est déterminante et doit être régulée. C'est le rôle de la glycoprotéine Wnt, ligand du récepteur membranaire « Frizzled », associé à un corécepteur. En l'absence de Wnt, la concentration cellulaire de β -caténine est stabilisée par le protéasome qui la dégrade si elle est présente en excès. En revanche, la liaison de Wnt à son récepteur inhibe la stimulation de la dégradation de la β -caténine, qui s'accumule et peut donc rejoindre le noyau pour se lier à des facteurs de transcription tels que ceux du groupe LEF/TCF (lymphoid enhancer factor-1 et T cell factor) (BLANPAIN, 2007).

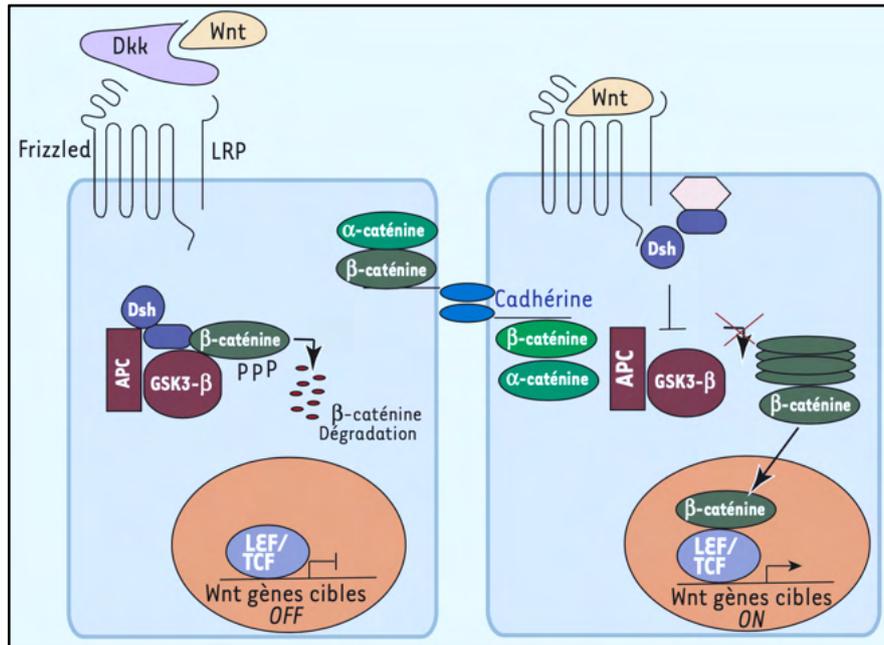


Figure 7 : Importance de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine pour l'activation des CS folliculaires

À gauche : lorsque le signal Wnt n'est pas perçu par la cellule, le protéasome dégrade la β -caténine présente en excès.

À droite : lorsque la glycoprotéine Wnt se lie au complexe Frizzled-LRP, la dégradation de la β -caténine est inhibée car l'attraction de certains éléments du protéasome au niveau de la membrane plasmique, par le complexe membranaire, empêche son activité. La β -caténine s'accumule alors dans le cytoplasme et rejoint le noyau, permettant ainsi l'expression des gènes Wnt, via les facteurs de transcription LEF/TCF.

Légende : LEF : lymphoid enhancer factor-1 ; TCF : T cell factor ; Dsh : dishevelled ; Dkk : Dickkopf (inhibiteur de Wnt) ; APC : protéine APC : adenomatous polyposis coli ; GSK3- β : glycogène synthase kinase 3 β . (Source : BLANPAIN, 2007).

La cascade d'activation de la voie Wnt/ β -caténine joue bel et bien un rôle important dans l'activation des CS folliculaires : si l'on élève artificiellement le taux de β -caténine active de CS au repos, cela induit précocement l'entrée du follicule pileux dans un nouveau cycle de croissance. L'augmentation de la concentration en β -caténine a, d'ailleurs, été retrouvée *in vivo* au niveau de la base du follicule pileux, au moment où il passe de la phase télogène à la phase anagène (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

L'importance de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine pour l'entrée en division et la différenciation des CS est indéniable, cependant elle semble ne pas déterminer à elle seule leur devenir. Cela est suggéré par le fait que malgré des concentrations élevées en β -caténine active, les CS folliculaires demeurent pour la majorité dans un état quiescent, ainsi que par le maintien du bulge à une taille constante (BLANPAIN, 2007 ; BLANPAIN and FUCHS,

2009). D'autres facteurs interviennent, comme le signal BMP déjà cité plus haut, conférant une certaine résistance des CS à la voie Wnt, ou encore d'autres permettant de la soutenir. En effet, la papille dermique est encore une fois un acteur clé de l'homéostasie du follicule en exprimant la protéine soluble Noggin, inhibitrice de la voie BMP, permettant ainsi de soutenir la voie Wnt dans l'induction des CS (BLANPAIN, 2007 ; MORGAN, 2014).

Des études plus récentes ont appuyé et précisé cette théorie. La voie de signalisation Wnt/ β -caténine interviendrait, plus précisément, sur les progéniteurs, directement issus des CS du bulge, et situés au niveau du bourgeon pileux transitoire, situé entre le bulge et la papille dermique. Le point de départ d'un nouveau cycle serait l'activation de ces cellules par cette voie dont la papille dermique serait à l'origine. En effet, il a été montré que la phase anagène commence par l'activation des cellules les plus proches de la papille dermique (MORGAN, 2014).

Cette activité inductrice de la papille dermique est soutenue par la signalisation BMP, qui, perçue par la papille, va être à l'origine d'un rétrocontrôle négatif via l'expression d'inhibiteurs de la voie BMP. Ainsi, il est possible que cela soit corrélé à la phase de sensibilité (deuxième partie de la phase télogène), et permette alors au CS du bulge d'être activées (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

Un autre processus peut également être à l'origine de la stimulation des CS folliculaires du bulge. En effet, il est intéressant de noter que l'activité intrinsèque de la glande sébacée peut faire office de stimulus pour les CS du bulge. Ainsi, il semblerait que l'homéostasie soit assurée par des cellules progénitrices résidentes, unipotentes, mais que lorsque l'activité de la glande sébacée est très augmentée, des CS du bulge soient recrutées pour soutenir l'homéostasie de la glande (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

iii. Contrôle de la différenciation

Au cours de chaque cycle pileux, après les phases de multiplication et d'amplification cellulaire, les progéniteurs vont entamer un processus de différenciation afin de restaurer les différents types de cellules du follicule (BLANPAIN, 2007).

Le proto-oncogène *MYC* semble également impliqué lors de cette phase puisqu'une concentration élevée en ses facteurs de transcription semble induire un changement de lignée cellulaire pour les CS, passant de cellules progénitrices du follicule pileux à des cellules productrices de sébum. En plus d'être impliqué dans la transition des CS en « transit amplifying cells », le degré d'expression de *MYC* jouerait un rôle dans le choix de la lignée cellulaire (ALONSO and FUCHS, 2003).

La voie Wnt/ β -caténine intervient également, plus tard dans le cycle pileux, au moment de la différenciation des cellules matricielles, qui sont stimulées pour former la gaine pileuse. Cela

active des gènes de kératine, spécifiques du poil, à l'origine d'une différenciation terminale des cellules (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

Alors que le processus de différenciation cellulaire est un processus progressif, on peut se demander à partir de quand celle-ci peut être considérée comme étant terminale et irréversible. Le destin des CS semble déterminé de la sorte qu'une cellule fille pérennise la population souche, tandis que l'autre quitte la niche pour se spécialiser. Cependant, d'après BLANPAIN et FUCHS (2009), il semblerait qu'en conditions de stress, une « early progeny », ou cellule fille ayant récemment quitté la niche, puisse se dédifférencier pour récupérer les capacités des CS. Cela a été décrit dans le cas où, après épilation des poils, le bulge est recolonisé par des cellules provenant directement du bourgeon pileux transitoire, un compact amas de cellules situé, en phase télogène, entre l'extrémité profonde du follicule pileux et la papille dermique (PANTELEYEV, 2018).

c) [Derme et hypoderme](#)

Les CS du derme et de l'hypoderme sont très faiblement étudiées en comparaison avec les CS épidermiques. On peut supposer que des mécanismes similaires entre en jeu.

Par exemple, la différenciation des CS dérivées du tissu adipeux peuvent être stimulées par le TGF- β , notamment lors de la cicatrisation (MAZINI *et al.*, 2020).

Les CS sont des actrices majeures du maintien de l'homéostasie cutanée. Elles agissent en conditions physiologiques, mais également lorsque l'organisme est soumis à une agression.

2) [Réaction à une agression](#)

Toute agression ou traumatisme déclenche chez un mammifère adulte en bonne santé des mécanismes spontanés de cicatrisation, permettant ou non de restaurer l'intégrité tissulaire (CHARBORD et CASTEILLA, 2011). Les cellules souches jouent alors également un rôle dans ces mécanismes.

a) [Rappels sur la cicatrisation cutanée](#)

Lors de la cicatrisation cutanée, trois étapes distinctes peuvent être identifiées, bien qu'elles puissent se superposer dans le temps. D'abord, la phase initiale, vasculaire et inflammatoire, durant environ deux à quatre jours, consiste en la mise en place du caillot ainsi qu'à l'afflux des cellules immunitaires. Ensuite, la phase de réparation tissulaire commence, comprenant la formation du tissu de granulation, l'angiogenèse, la migration des fibroblastes, ainsi que l'étape d'épithélialisation, dont la multiplication et différenciation des kératinocytes. Cette

phase d'une durée approximative de dix jours laisse ensuite place à un long remodelage. Cette phase de maturation peut durer jusqu'à deux ans (MÉDECINE SORBONNE UNIVERSITÉ).

Après une altération de l'intégrité de la barrière cutanée, les cellules souches sont sollicitées. Par exemple, concernant les CS du follicule, de nouveaux programmes de différenciation entrent en jeu, différents de ceux ayant lieu en conditions d'homéostasie (BLANPAIN and FUCHS, 2009). Il a été montré que les CS du bulge ne participent pas à l'homéostasie physiologique de l'épiderme, tandis qu'elles peuvent momentanément contribuer à sa cicatrisation lors de plaies (MOORE and LEMISCHKA, 2006).

b) Phase vasculaire et inflammatoire

Les CSM, et plus particulièrement les cellules souches dérivées du tissu adipeux (CSM-TA), participent à la cicatrisation tissulaire de par leurs propriétés immunomodulatrices, notamment au moment de la phase inflammatoire. Les CSM-TA sécrètent du TGF- β qui, associé à IL-1 β et IL-6, libérées entre autres par les cellules de l'immunité innée, stimulent le recrutement des macrophages, ainsi que leur « polarisation de M1 à M2 ». Il s'en suit une libération de cytokines anti-inflammatoires (MAZINI *et al.*, 2020). Alors que les macrophages M1 sont plutôt pro-inflammatoires, ceux de type M2 ont une orientation anti-inflammatoire et favorisent la réparation et cicatrisation tissulaire (SHAPOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2018).

c) Phase de réparation tissulaire

À la suite d'un traumatisme, les CSM participent à la réparation tissulaire par deux mécanismes principaux qui sont la repopulation cellulaire par multiplication et différenciation, ainsi que des « effets de type stromal » destinées à ces cellules. Cela consiste en la production et libération de nombreux facteurs de croissance (notamment angiogéniques), d'immunomodulateurs ou, encore, de facteurs permettant de ralentir la dégénération et la mort cellulaire (antifibrotiques, antiapoptotiques). Les CSM peuvent repeupler le tissu, soit grâce à l'adoption par leurs cellules filles du phénotype de la lignée d'origine (chondroblastes, ostéoblastes ou adipocytes pour la lignée mésenchymateuse), soit être reprogrammées (CHARBORD et CASTEILLA, 2011).

Pendant la phase de prolifération, les CSM-TA sécrètent des cytokines et chimiokines qui pourraient stimuler certaines propriétés des fibroblastes, notamment leur prolifération et la synthèse de collagène (MAZINI *et al.*, 2020).

Les CSM-TA semblent également capables de se différencier en fibroblastes dermiques, ou encore en « keratinocytes-like cells » (ou cellules semblables à des kératinocytes), capables de s'organiser dans l'espace, sous forme stratifiée, à la manière d'une peau normale. Ce dernier type de différenciation est permis par culture dans un milieu riche en calcium et en

EGF. Une amélioration similaire de la cicatrisation est observée avec des concentrations élevées en GDF11 (MAZINI *et al.*, 2020).

Les CS de l'épiderme interfolliculaire sont aussi impliquées lors de blessure. En effet, un signal émis par la plaie, dépendant de la voie Wnt, induit, si besoin, la différenciation de ces CS en cellules du follicule pileux, permettant la genèse *de novo* d'un follicule pileux. Cette propriété sous-entend également la possibilité de régénération des poils même après brûlure, si tant est que l'épiderme interfolliculaire et ses CS ne soient que partiellement atteints (BLANPAIN and FUCHS 2009).

Bien que prolifération et différenciation cellulaires soient indispensables lors de la cicatrisation, celles-ci ne sont intéressantes que si elles s'effectuent *in fine* au niveau de la zone d'intérêt, c'est-à-dire de la zone lésée. Les CSM jouent encore une fois un rôle important à ce niveau-là, puisqu'elles sont également impliquées dans cette seconde phase de l'inflammation, grâce à leur capacité de migration vers la peau lésée ou à la surface de l'épiderme. Ce déplacement serait permis par des gradients de molécules chimio-attractives dans la matrice extracellulaire et le sang périphérique (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Une autre théorie s'ajoute à la précédente, selon laquelle les CSM-TA seraient capables de surexprimer la protéine SDF-1, marqueur des fibroblastes dont les propriétés migratoires ne sont plus à démontrer. En effet, la protéine SDF-1 est reconnue comme étant la principale protéine « impliquée dans la migration de cellules cutanées humaines ». Cette surexpression par les CSM-TA leur permet d'être recrutées au niveau du site lésionnel (MAZINI *et al.*, 2020).

Ce phénomène de migration des CS, bien que largement stimulé, prend fin une fois la cicatrisation terminée. Il est donc raisonnable de penser qu'il est aussi précisément régulé (BLANPAIN and FUCHS 2009).

MAZINI et ses collaborateurs (2020) rapportent également la probable implication des CSM-TA dans l'induction de la néoangiogenèse lors de la cicatrisation. Cela s'explique par la sécrétion par les CSM-TA de nombreux facteurs identifiés comme permettant leur différenciation, ainsi que celle des fibroblastes dermiques en cellules endothéliales. On relève notamment les facteurs VEGF, PDGF, IGF, HGF, β -FGF, SDF-1, TGF- β et GDF11.

L'équipe de AYALA-CUELLAR (2019) évoque également le rôle de plusieurs de ces facteurs trophiques, sécrétés par les CSM, dans la réparation tissulaire. Cela s'explique par leurs propriétés favorisant la survie des cellules (SDF-1, HGF, IGF-1, EGF, TGF- α , VEGF).

Alors que les CSM sont bel et bien actrices de la phase de réparation tissulaire, il semble que leurs effets soient stimulés par les conditions du milieu. Après migration sur le site lésé, les fonctions des CSM sont amplifiées par les facteurs locaux que sont l'hypoxie, les différentes cytokines présentes dans le milieu, ainsi que les ligands des TLR (Toll Like Receptor) (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Des expériences *in vitro* ont de plus montré une accélération de l'épithélialisation lorsque des CSM-TA sont injectées par voie intraveineuse, associée à des applications topiques (MAZINI *et al.*, 2020).

d) Phase de remodelage

Enfin, les CS prennent également part à la phase de remodelage. Le SDF-1 semble impliqué dans cette dernière étape de la cicatrisation. Sa surexpression par les CSM-TA auraient également pour effet l'augmentation de production de MEC et donc l'impulsion de la phase de remodelage (MAZINI *et al.*, 2020).

À la suite d'une agression cutanée, les CS interviennent à chaque étape de la cicatrisation cutanée. Leurs actions sont variables et influencées par le milieu qui les entoure.

3) Importance des niches et interactions au sein des niches

Les propriétés et comportements des cellules souches sont largement influencées par l'environnement dans lequel elles évoluent : leur niche (DEREURE, 2012). En effet, la définition de niche ne s'arrête pas seulement à la présence de CS dans un milieu, mais inclut également son action de régulation sur le comportement de ces mêmes cellules, en conditions physiologiques ou pathologiques. Deux types de niches semblent exister. Les niches de type stromal, regroupant des CS ainsi que d'autres cellules à leur contact : des cellules de support, ou les niches épithéliales, constituées uniquement de CS directement au contact de la membrane basale (VOOG and JONES, 2010).

Il est d'abord important de noter que le fonctionnement des niches n'est, pour l'instant, que partiellement connu (DEREURE, 2012), et nécessite des recherches supplémentaires (MAZINI *et al.*, 2020).

a) Rôle de la « niche » ou microenvironnement sur le devenir des cellules souches

i. *Maintien du « phénotype souche »*

La niche est pour les cellules souches une sorte d'abris qui les protège de différents stimuli extérieurs (différentiation, apoptose), représentant une certaine menace pour le pool de cellules ainsi que pour leur phénotype souche. La niche est également le garant de

l'équilibre entre quiescence et production de cellules, dont la rupture peut conduire au développement de cancer (MOORE and LEMISCHKA, 2006).

Le phénotype souche et, notamment, l'état de quiescence des CS, serait a priori maintenu, en partie, grâce à l'influence exercée par les niches sur les CS (DEREURE, 2012).

Les niches seraient également responsables, en partie au moins, d'une autre caractéristique clé des CS : leur durée de vie presque infinie. Le microenvironnement semble leur conférer des propriétés antiapoptotiques *via* des inducteurs divers, comme par exemple le TNF- α , le « TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) » ou encore *via* des interactions physiques et chimiques. Certains facteurs de transcription seraient également impliqués (inducteurs de molécules anti-apoptose, ou inhibiteurs de molécules pro-apoptose) (DEREURE, 2012).

La matrice extracellulaire est une partie importante de toutes les niches de CS. Il semble qu'au sein de l'épiderme interfolliculaire, la jonction à la MEC via les intégrines- β 1 joue un rôle important dans le maintien d'un état indifférencié (WATT, 2002). Les intégrines- β 6 sont également impliquées dans cette jonction (GUASCH et BLANPAIN, 2004).

ii. Activation, prolifération et différenciation

La niche des CS a une influence sur leur fonctionnement. Par exemple, des stimuli environnementaux peuvent activer les CSM, normalement au repos, et favoriser certaines de leurs propriétés antiapoptotiques ou immunitaires. De plus, lors de lésion cutanée, les CSM sont stimulés par les conditions propres du milieu (hypoxie, cytokines, ligands des TLR) (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019). MAZINI et ses collègues (2020) supposent également une influence du microenvironnement sur les propriétés et capacités des CSM-TA à proliférer, se différencier ou encore migrer vers un site lésé.

La différenciation des CS est également influencée par la niche. Les CSM s'orientent préférentiellement vers certaines lignées cellulaires par rapport à leur tissu d'origine (CHARBORD et CASTEILLA, 2011). De plus, il a déjà été mentionné l'hypothèse selon laquelle l'induction de la différenciation se fait par rapport à la distance entre la cellule et sa niche. En effet, lors de la division asymétrique des CS, tandis qu'une cellule fille perdure à l'état de cellule souche pour maintenir le pool constant, c'est la seconde, la plus éloignée de la niche, qui entamera un processus de différenciation terminale (BLANPAIN and FUCHS, 2009).

b) Interactions entre la niche et le secrétome

En plus de son influence sur la quiescence, l'activation, la prolifération et la différenciation des CS, la niche interagit également avec le secrétome.

Le secrétome est défini comme « l'étude globale de l'ensemble des protéines sécrétées par une cellule », ici une cellule souche. Il s'agit d'une notion dynamique puisque ces molécules libérées diffèrent dans le temps et suivant les conditions du milieu (CHENAU *et al.*, 2008).

i. Influence de la niche sur le secrétome

Des études de transplantation de CSM ont montré que leur sécrétion de molécules était influencée par l'environnement dans lequel les cellules se trouvent. On peut alors supposer que cela se passe également *in vivo*. En effet, on peut raisonnablement avoir une vision plus dynamique de la niche étant donné que les CSM sont capables de migrer au sein des tissus, donc de changer de microenvironnement et, donc, *a priori*, également de secrétome (CHARBORD et CASTEILLA, 2011).

ii. Influence du secrétome sur la niche

Les CS ont une influence directe sur leur niche, de par leurs nombreuses sécrétions déjà mentionnées. Il a, par exemple, été rapporté que les CSM-TA modifient leur environnement *via* la libération de TGF- β , ce qui améliore l'implication des kératinocytes et fibroblastes dans le processus de cicatrisation (MAZINI *et al.*, 2020).

On peut également ajouter le fait que les CS sont capables « d'organiser leur niche », en effet, elles sécrètent notamment certains sous-types de collagène ainsi que la ténascine C, un composant de la matrice extracellulaire environnante (GUASCH et BLANPAIN, 2004).

c) Interactions entre les différentes cellules au sein des niches

Au sein de l'épiderme interfolliculaire, les cellules voisines des CS peuvent influencer leur nombre et leur distribution. Des expériences en culture ont montré que l'expression de Delta1, ligand du récepteur Notch, par une cellule aurait tendance à stimuler la sortie de la niche et la différenciation de la CS voisine. Ces communications intercellulaires et intra-niche sont donc importantes pour déterminer le destin des CS (WATT, 2002). Cette notion est effectivement reprise par MAZINI et son équipe (2020) puisqu'ils définissent les CSM-TA comme des « paracrine tools » (ou outils paracrines), qui influencent leur environnement et les cellules qui s'y trouvent par la sécrétion d'un panel varié de facteurs trophiques.

Après avoir montré que les cellules souches ont différentes actions au sein du vivant, dont le maintien de l'intégrité tissulaire, en conditions physiologiques ou pathologiques, et que cela inclut des interactions étroites avec leur environnement, il est important de s'intéresser à un autre type d'interaction exercé par les cellules souches : celles avec le système immunitaire.

4) Interactions entre cellules souches et immunité

En plus d'être des actrices majeures de l'homéostasie et la cicatrisation tissulaire, les cellules souches ont également des interactions fortes avec le système immunitaire, ce qui leur confère un intérêt important de la part des scientifiques. Cependant, les recherches pour comprendre le fonctionnement des CS sont encore au cœur de l'actualité, c'est pourquoi l'intégralité des données et mécanismes exacts ne sont pas encore compris (DIAS *et al.*, 2019 ; AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Les interactions entre CS et système immunitaires peuvent être de deux types : anti-inflammatoires et pro-inflammatoires ou, plus précisément, de soutien de l'inflammation. Bien que les CSM soient souvent qualifiées d'immunosuppressives, il est plus juste de qualifier leurs effets d'immunotolérance, comme une fonction de veille sur la réaction immunitaire afin de supprimer toute réponse inadaptée du système immunitaire (DIAS *et al.*, 2019).

Il est supposé que ces interactions entre CS et système immunitaire se font majoritairement par la libération de facteurs solubles dans le milieu ou *via* des interactions entre les cellules (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019 ; DIAS *et al.*, 2019).

a) Influence du système immunitaire sur les cellules souches

Le système immunitaire est capable d'activer les cellules souches mésenchymateuses. Cela peut se dérouler via deux mécanismes principaux. Le premier consiste en l'action d'une ou plusieurs cytokines, probablement produites par des lymphocytes T (LT), sur les CSM. Celles-ci sont activées par l'IL-1 β , le TNF- α ou l'IFN- γ . Le second mécanisme d'activation des CSM met en jeu les TLRs (« Toll like receptors »), stimulés soit par les PAMPs (« pathogene-associated molecular patterns ») et, notamment, les lipopolysaccharides bactériens, soit par les DAMPs (« damage-associated molecular patterns ») (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Des expériences *in vitro* ont montré que l'activité immunomodulatrice des CSM peut être amplifiée dans certaines conditions. Par exemple, des CSM canines, cultivées en présence de leucocytes, produisent des quantités plus importantes de PGE2 et IDO (indoleamine 2,3-dioxygénase), connues pour conférer une certaine immunotolérance, que des CSM cultivées seules (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

b) Influence des cellules souches sur le système immunitaire

Après avoir été activées par les cytokines des LT, les CSM assurent un rétrocontrôle modulateur sur les cellules immunitaires. La sécrétion de PGE2, monoxyde d'azote (NO),

IDO, IL-6 et IL-10 influence négativement les cellules dendritiques, les cellules NK (Natural Killer), les macrophages, ainsi que les lymphocytes B et T (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Bien que l'activité des CSM ait plutôt une orientation immunosuppressive, celle-ci semble être modifiable, notamment lorsqu'elles sont activées par la voie des TLRs (figure 8). Suivant le type de TLR impliqué, il a été montré que les CSM humaines peuvent avoir une orientation pro-inflammatoire (CSM1) lorsqu'elles sont stimulées par TLR4, ou plutôt anti-inflammatoire (CSM2) lorsqu'elles sont stimulées par TLR3. Les cytokines produites par chaque type sont alors différentes : IL-6, IL-8 et TGF- β pour les CSM1, IL-10, IDO et PGE2 pour CSM2. Les auteurs n'excluent pas des variations chez les autres espèces (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

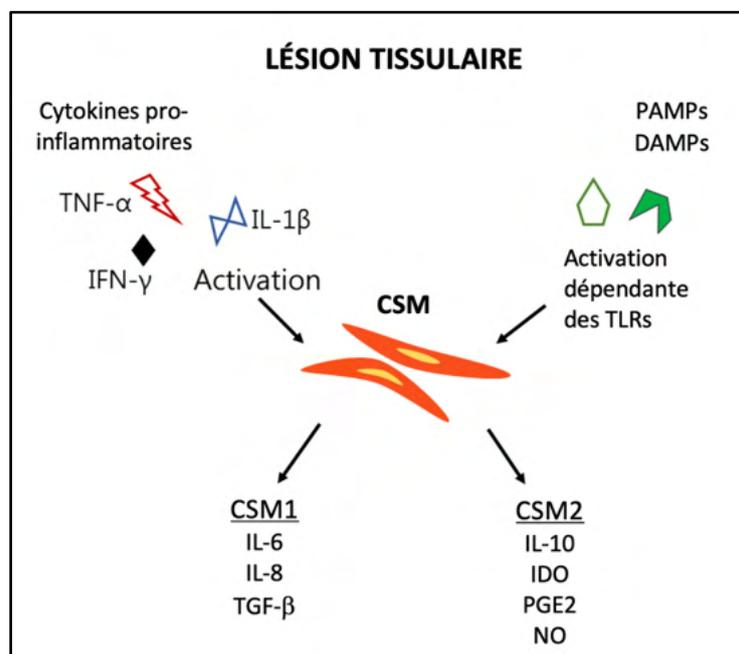


Figure 8 : Activation des CSM

Lors de lésion tissulaire, les CSM peuvent être « activées » par les lymphocytes *via* la production de cytokines pro-inflammatoires, à l'origine de la production de facteurs anti-inflammatoires par les CSM (IL-10, IDO, PGE2, NO). Une autre voie d'activation est initiée par la liaison de PAMPs et DAMPs aux TLRs situés à la surface des CSM. Suivant les espèces, la reconnaissance de ce ligand peut orienter les CSM à exprimer un phénotype pro-inflammatoire (CSM1), à l'origine de la production d'IL-6, IL-8 et TGF- β , ou un phénotype anti-inflammatoire (CSM2).

Légende : CSM : cellules souches mésenchymateuses ; TNF- α : facteur de nécrose tumorale ; IFN- γ : interféron gamma ; IL-1 β : interleukine 1 bêta ; PAMPs : pathogene-associated molecular patterns ; DAMPs : damage-associated molecular patterns ; TLR : toll like receptor ; IL : interleukine ; TGF- β : facteur de croissance transformant bêta ; IDO : indoleamine 2,3-dioxygénase ; PGE2 : prostaglandine E2 ; NO : monoxyde d'azote.

(D'après AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

i. Les CSM suppriment les cellules de l'immunité innée

Les cellules de l'immunité innée sont mises en jeu dans l'homéostasie tissulaire et, plus précisément, lorsque l'organisme perçoit une agression extérieure. Elles sont la première ligne de défense contre les pathogènes et agissent, principalement, par le biais de la réaction inflammatoire. L'immunité innée est composée de cellules telles que les cellules NK (« natural killer »), les cellules dendritiques et les monocytes/macrophages, ainsi que de facteurs solubles, par exemple les protéines du système du complément.

Trois mécanismes principaux ont été identifiés concernant l'interaction entre les CSM et l'immunité innée.

Le premier mécanisme est l'activation des macrophages pro-inflammatoires (M1) en macrophages anti-inflammatoires (M2), produisant, en grande quantité, de l'IL-10 et, en faible quantité, du TNF et de l'IFN- γ . Cette transition d'un type de macrophage à un autre est induite par les CSM et les facteurs solubles qu'elles sécrètent (IL-6, PGE2, TGF- β , HGF) (DIAS *et al.*, 2019).

Une seconde voie, impliquée dans la paralysie de l'immunité innée, est l'inhibition de la maturation des cellules dendritiques à partir des monocytes. Cela est dû aux quatre mêmes facteurs solubles mis en jeu pour la transition des macrophages. Ces cellules dendritiques immatures ont des propriétés immunomodulatrices par la sécrétion de concentrations importantes d'IL-10 et par leur inaptitude (ou aptitude très faible) à stimuler la prolifération des LT (DIAS *et al.*, 2019).

Enfin, les CSM sont également capables d'inhiber les cellules NK. En effet, des contacts cellule-cellule ainsi que des facteurs solubles (principalement PGE2 et IDO, ainsi que TGF- β) semblent requis de la part des CSM pour empêcher la prolifération et la toxicité des cellules NK (DIAS *et al.*, 2019).

Une quatrième action des CSM est décrite par AYALA-CUELLAR et son équipe (2019). En effet, d'après des expériences *in vitro*, les CSM canines seraient également capables d'inhiber la prolifération de leucocytes (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

ii. Les CSM inhibent l'immunité acquise

L'immunité acquise a pour rôle de reconnaître et détruire, de manière spécifique, un agresseur, tout en le gardant en mémoire, afin d'y réagir de manière plus rapide et efficace lors d'un deuxième contact. Cette immunité peut être subdivisée en deux. On distingue la « réponse immunitaire humorale », impliquant la production d'anticorps par les lymphocytes B (LB), et la « réponse immunitaire cellulaire », orchestrée par les lymphocytes T (DIAS *et al.*, 2019).

L'action anti-inflammatoire des CSM, dont celle des CSM-TA, s'explique, notamment, par leur capacité à inactiver les LT (MAZINI *et al.*, 2020), notamment *via* les facteurs solubles qu'elles libèrent ou des contacts cellule-cellule (DIAS *et al.*, 2019). Par exemple, les CSM induisent l'arrêt du cycle cellulaire, voire l'apoptose des LT, grâce à la libération de monoxyde d'azote (NO). Le contrôle des LT, par l'une ou l'autre de ces voies, semble dépendre de leur tissu d'origine. Dans le cas de l'espèce équine, on constate que les CSM du tissu adipeux (CSM-TA) provoquent plutôt l'apoptose des LT, tandis que les CSM de la moelle osseuse bloquent le cycle cellulaire des LT. La prostaglandine PGE2 est aussi largement impliquée puisqu'elle inhiberait, également, la prolifération des LT, par une action sur l'IL-2, interleukine stimulant la prolifération des LT face à une infection. En effet, PGE2 diminue la concentration en IL-2 du milieu, tout en inhibant les récepteurs à l'IL-2 (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

L'action des CSM sur les LB peut être qualifiée de contradictoire. Des interactions cellule-cellule ainsi que le blocage du cycle cellulaire (phase G0/G1) ont pour effet d'inhiber la prolifération des LB. Les CSM empêchent, également, la différenciation des LB en plasmocytes et la production d'immunoglobulines. Bien que les CSM semblent capables d'affecter le devenir des LB activés, elles semblent n'avoir aucun pouvoir sur les LB naïfs ou les LB mémoires (DIAS *et al.*, 2019).

Les CSM agissent, également, en fonction de leur environnement. En présence d'une réaction inflammatoire puissante, elles peuvent orienter la réponse immunitaire en remplaçant un profil pro-inflammatoire (voie Th1) par un profil anti-inflammatoire (voie Th2) (DIAS *et al.*, 2019).

La relation qui unit immunité et CSM est à double sens. Le système immunitaire influence les CSM, et les CSM conditionnent, à leur tour, différentes actions des cellules de l'immunité (figure 9). Les CSM sont, en effet, considérées comme des entités capables de restaurer une immunité adaptée aux conditions du milieu.

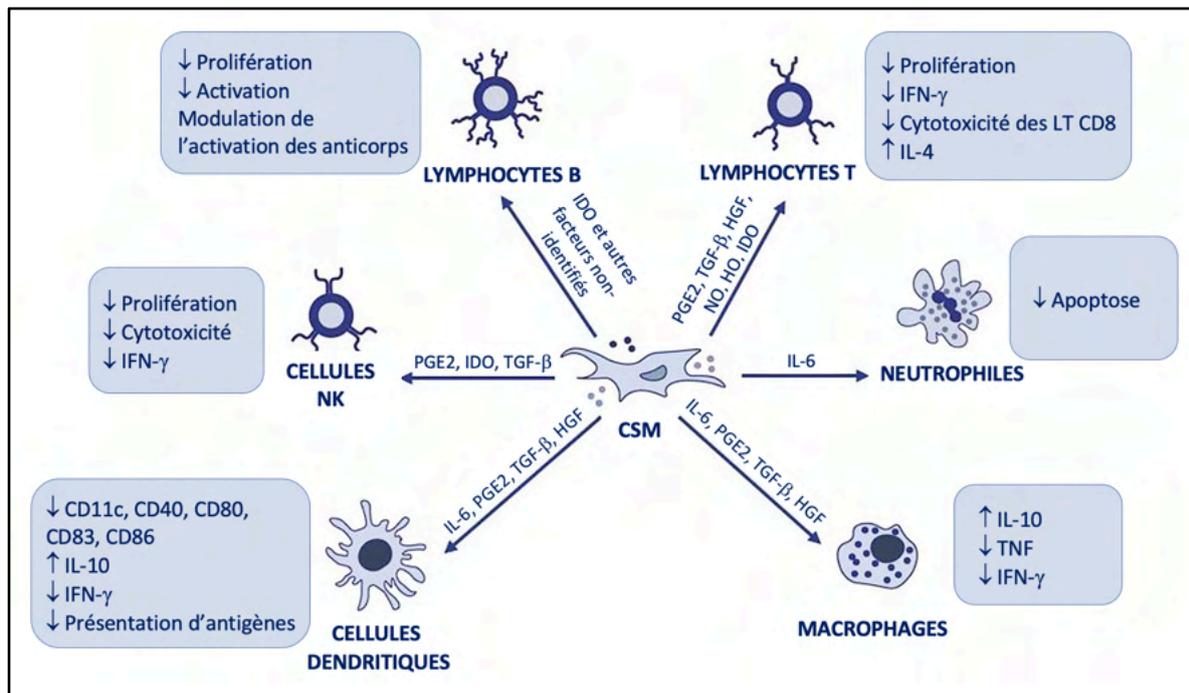


Figure 9 : Mécanismes d'action des CSM et leurs interactions avec les cellules du système immunitaire

Légende : CD : cluster de différenciation ; HGF : facteur de croissance des hépatocytes ; HO : hème oxygénase ; IFN- γ : interféron gamme ; IDO : indoleamine 2,3-dioxygénase ; IL : interleukine ; LT : lymphocyte T ; NK : Natural Killer ; NO : monoxyde d'azote ; PGE2 : prostaglandine E2 ; TGF- β : facteur de croissance transformant bêta ; TNF : facteur de nécrose tumorale. (D'après DIAS et al., 2019).

Cette première partie nous a permis de définir la notion de CS, tant d'un point de vue fonctionnel que moléculaire. Nous avons pu constater qu'elles présentent des localisations variées au sein de la peau. Enfin, nous avons énoncé leurs multiples fonctions en tant que garantes de l'intégrité de la barrière cutanée, tant en conditions physiologiques que pathologiques. En particulier, nous nous sommes intéressés à leurs interactions avec le système immunitaire. Cette propriété phare des CSM captivent les scientifiques qui étudient de potentielles applications dans de nombreux domaines, notamment en dermatologie du chien.

PARTIE 2 : INTÉRÊTS ET MÉTHODES D'UTILISATION DES CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMATEUSES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN

I) Intérêts de l'utilisation des CSM en dermatologie du chien

1) La thérapie par les CSM : espoirs et promesses

Alors que la dermatologie vétérinaire est un domaine très vaste, regroupant à la fois des anomalies de cicatrisation de plaies chroniques, des maladies génétiques (épidermolyse bulleuse), des maladies auto-immunes (lupus érythémateux), ou des maladies inflammatoires chroniques, multifactorielles (dermatite atopique), les CSM représentent une potentielle solution unique à ces nombreuses affections.

En effet, leur attrait pour les scientifiques est dû à leur capacité à se différencier en trois lignées cellulaires différentes, à moduler le système immunitaire et à stimuler la régénération tissulaire. Cette thérapie par les CSM est d'autant plus intéressante, qu'elle semble, à la fois, efficace et sans danger pour le traitement d'affections cutanées (HARMAN, 2013), comparées aux thérapies actuelles, sources d'effets secondaires multiples, de résultats parfois décevants, voire d'échecs. C'est, donc, avec une grande motivation que de nombreux scientifiques étudient des protocoles d'utilisation des CSM.

2) Matière première : utilisation des CSM

Si l'on classe les cellules souches en deux grands types, on distingue les cellules souches embryonnaires et les cellules souches adultes. Seule une sous-catégorie de ces dernières semble utilisable de manière standardisée en thérapie cellulaire (HARMAN, 2013).

a) Exclusion des autres types de cellules souches

Les cellules souches utilisables, et utilisées, en médecine vétérinaire sont principalement des CSM. En effet, les autres types de CS semblent moins adaptées.

D'abord, les cellules souches embryonnaires, bien qu'étant les plus puissantes en termes de multipotence et de capacité de renouvellement, sont difficilement exploitables en thérapie de routine, puisqu'elles posent des problèmes éthiques, notamment pour leur extraction (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019), qui implique de manipuler des embryons. De plus, elles présentent un défaut majeur, puisque, après implantation au sein d'un organisme vivant,

elles ont la capacité d'engendrer des tératomes (HARMAN, 2013). Des cellules souches non-embryonnaires, incapables de former un organisme entier, semblent donc plus adaptées.

Les cellules souches pluripotentes induites (« induced pluripotent stem cells » ou iPSC) sont des cellules adultes ayant été génétiquement reprogrammées pour revenir à un état plus indifférencié. Non seulement, ces cellules pourraient montrer une instabilité génomique (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019), mais le risque de formation de tératomes a également été rapporté dans ce cas-là, tout comme le fait qu'elles seraient immunogènes, même dans le cas d'autogreffes (HARMAN, 2013).

Ces deux derniers types seraient les meilleures candidates pour la mise en place d'une thérapie cellulaire à l'échelle industrielle, pour leur potentiel d'amplification théoriquement infini. Cependant, les chercheurs et les laboratoires se heurtent à des considérations éthiques trop importantes pour que cela soit mis en place (MADDENS *et al.*, 2018).

Les CSM sont, elles, présentes dans presque tous les tissus, n'induisent pas de tératomes lorsqu'elles sont transplantées à un individu et sont, généralement, facilement isolées. Ce sont donc les cellules les plus adaptées pour le développement d'une thérapie cellulaire (HARMAN, 2013). Plus précisément, certaines sources de CSM sont plus faciles d'utilisation que d'autres.

b) Multiplicité des sources de CSM

i. Cellules souches issues de la moelle osseuse

D'un point de vue chronologique, la première source de CS découverte par les scientifiques fut la moelle osseuse. La première greffe de CS chez l'Homme a eu lieu en dans les années 1950. Le but était de reconstituer la moelle osseuse de patients ayant subi une chimiothérapie. Pour ce faire, ils ont reçu, par voie intraveineuse, des CS hématopoïétiques, provenant de moelle osseuse.

Ce n'est que dans les années 1980 que les chercheurs ont montré l'existence d'un second type de CS dans la moelle osseuse : les CS mésenchymateuses (HARMAN, 2013).

Les années qui ont suivi ont permis de démontrer que les CSM sont présentes dans pratiquement tous les tissus du corps (HARMAN, 2013). Bien que la moelle osseuse reste la source de CSM la plus documentée, de nombreux tissus ont déjà permis leur extraction : tissu adipeux, cordon ombilical, gelée de Wharton, liquide amniotique, muscle strié squelettique, périoste, gencive, tissus parodontal, hépatique et pulmonaire, sang menstruel, etc. (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

ii. CSM issues de tissu adipeux

Après la moelle osseuse, la seconde source de CSM à s'imposer auprès des chercheurs est le tissu adipeux. Depuis leur première extraction en 2001 (BAHAMONES *et al.*, 2017), les CSM adipeuses ont largement démontré leur supériorité par rapport aux CSM issues de la moelle osseuse, notamment pour la prise en charge de patients atteints d'ulcères, de cicatrices ou de brûlures (MAZINI *et al.*, 2020). Le tissu adipeux est, aujourd'hui, devenu une des sources privilégiées pour les essais cliniques chez le chien (BAHAMONDES *et al.*, 2017), notamment pour son accessibilité aisée, ainsi que sa concentration élevée en CSM (MARTINELLO *et al.*, 2011 ; AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019). HARMAN (2013), de même que MAZINI et ses collaborateurs (2020), évoquent la possibilité d'utilisation directe du tissu adipeux, sans nécessiter de culture, du fait de sa teneur en CSM. L'utilisation de la fraction vasculaire stromale (FVS) semble également possible et intéressante (MÜLLER *et al.*, 2016 ; MAZINI *et al.*, 2020).

En comparaison aux CSM issues de la moelle osseuse, les CSM adipeuses possèdent un potentiel prolifératif plus élevé et leur capacité de différenciation est moins affectée par le temps (MAZINI *et al.*, 2020). De plus, elles sont obtenues par des procédures moins invasives (BAHAMONDES *et al.*, 2017).

On distingue deux sites majeurs de dépôt adipeux, pouvant, l'un et l'autre, servir de sources de CSM : le compartiment sous-cutané et le compartiment abdominal ou viscéral (MÜLLER *et al.*, 2016), ainsi que des sites mineurs au niveau de nombreux organes (cœur, nœuds lymphatiques, vaisseaux sanguins...) (GUERCIO *et al.*, 2013). Alors que le tissu graisseux sous-cutané semble déjà largement utilisé pour des études chez le chien, cette espèce est une bonne candidate au prélèvement et à l'utilisation de CSM d'origine viscérale en raison du grand nombre d'ovariectomies et d'ovariohystérectomies réalisées (MARTINELLO *et al.*, 2011). Les CSM de l'omentum (ou épiploon) semblent posséder quelques propriétés supplémentaires, d'après une étude de BAHAMONDES et associés (2017). En effet, ils constatent que la réussite des prélèvements est meilleure pour l'omentum que pour le tissu sous-cutané (100 contre 71%), il en est de même pour le rendement cellulaire. Un des avantages du compartiment viscéral par rapport au compartiment sous-cutané est que le premier est moins influencé par l'état d'embonpoint que le second, en effet, le volume de l'omentum semble assez stable suivant les individus. Ces différences restent minimes, puisque ces deux sources sont tout à fait adaptées pour une utilisation thérapeutique : elles permettent toutes deux d'isoler des CSM et aucune différence significative de potentiel prolifératif ou de sénescence n'a été identifiée. Les CSM dérivées de ces deux sources possèdent les mêmes propriétés trophiques et des effets similaires sur les cellules cibles (prolifération, migration, propriétés angiogéniques et immunomodulatrices...).

iii. CSM issues d'autres tissus

Comme dit précédemment, les CSM se trouvent dans la quasi-totalité des tissus. Cependant, cela n'implique pas que toutes ces sources sont exploitables pour une utilisation thérapeutique et, plus précisément, en dermatologie canine.

Les cellules souches néonatales, provenant du placenta, du cordon ombilical et de l'amnios, peuvent être considérées comme des CS adultes, du point de vue de leur fonctionnement (HARMAN, 2013). Ce sont les CSM qui possèdent le potentiel d'amplification et le potentiel immunomodulateur les plus élevés et qui seraient les moins immunogènes. Elles permettent, également, de limiter le risque infectieux, puisque faiblement exposées à l'environnement du fait de la présence de la barrière fœto-maternelle. Leur obtention ne nécessite pas d'anesthésie de l'animal, puisqu'elle se fait lors de la mise bas (MADDENS *et al.*, 2018). Elles ne sont, cependant, pas aisées à obtenir en grande quantité puisque de plus en plus de chiennes sont stérilisées. Pour les quelques mises-bas recensées chaque année dans l'espèce canine, la récupération du placenta et du cordon ombilical n'est pas simple car ceux-ci sont rapidement ingérés par la mère. Ces tissus peuvent, toutefois, être collectés lorsqu'une césarienne est pratiquée, puisqu'ils sont, alors, considérés comme des déchets chirurgicaux (MADDENS *et al.*, 2018). Pour parer à cette difficulté et tenir compte de l'évolution de la détention des animaux de compagnie et la forte tendance à la stérilisation, SULTANA et ses collaborateurs (2018) évoquent l'idée de l'utilisation des organes reproducteurs (ovaires, testicules) en tant que sources de CSM.

Le tissu palatin est utilisable en thérapie cellulaire chez l'Homme, bien que moins riche en CSM que le tissu adipeux. Sa localisation et ses caractéristiques semblent plus adaptées à de la reconstruction tissulaire parodontale et crânio-faciale, voire osseuse (HAKKI *et al.*, 2017), qu'à de la reconstruction cutanée.

Parmi les CS, seules les CSM paraissent utilisables en pratique, et plus particulièrement les CSM issues de moelle osseuse, de tissu adipeux, ou éventuellement les CS néonatales.

Les CSM sont notamment étudiées car elles semblent hautement tolérées après administration à un individu.

3) Statut immunitaire privilégié des CSM : mythe ou réalité ?

Les CSM ont longtemps été considérées comme possédant un statut immunitaire privilégié, puisqu'elles ne semblaient pas être reconnues par le système immunitaire comme des composés étrangers. Cette hypothèse était formulée sur la base du profil d'expression des CSM. Elles ne possèdent pas de CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité de classe II), ou une expression extrêmement faible. La reconnaissance du « non-soi » par les

lymphocytes T nécessite également que la cellule présentatrice d'antigène possède des récepteurs CD80 ou CD86, ce qui n'est pas le cas des CSM. Celles-ci ne sont donc pas considérées comme des cellules présentatrices d'antigène et n'engendrent donc pas d'activation des LT (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

Ce statut immun privilégié est parfois nuancé par d'autres auteurs. Il faut, en effet, noter que les CSM expriment des niveaux variables de CMH I (complexe majeur d'histocompatibilité de classe I). Cependant, l'absence d'expression de molécules du CMH II et des molécules CD80, CD86 et CD 40, co-stimulatrices des LT, permet aux CSM de ne pas avoir d'impact sur la population de LT, en la laissant « anergique » (BEN-AMI *et al.*, 2011).

VON BAHR *et al.* (2012) énoncent que les CSM n'échappent pas totalement à la veille du système immunitaire, puisque des réponses, suite à des allogreffes, ont été rapportées chez des macaques. BERGLUND et ses confrères (2017) expliquent qu'il y a, en réalité, très peu d'études qui contrôlent la présence ou l'absence d'expression des molécules du complexe d'histocompatibilité, ou qui testent l'immunogénicité des CSM *in vivo*. Quelques rares études, chez différentes espèces (souris, cochon, cheval, singe), ayant analysé les haplotypes du CMH, des donneurs et des receveurs, ont montré qu'il existe une réaction immunitaire, à la fois cellulaire et humorale, lorsque des CSM sont injectées chez un receveur possédant un CMH incompatible. L'ampleur de cette réaction semble corrélée au degré d'incompatibilité. Il est, également, intéressant de noter que, à la suite d'une injection de CSM, les chevaux développent des allo-anticorps (immunoglobulines G), ce qui n'est pas le cas pour la majorité des Hommes. Les conséquences de l'existence de cette réponse du système immunitaire vis-à-vis des CSM restent cependant vagues d'un point de vue clinique et thérapeutique. Par précaution, les auteurs recommandent l'haplotypage du receveur et des CSM, bien que cela semble compliqué dans le cas de la mise en œuvre d'une thérapie cellulaire standardisée et à grande échelle.

Rien n'indique que cette réaction du système immunitaire a un impact négatif sur l'innocuité et l'efficacité de cette thérapie. HARMAN (2013) rapporte même un effet positif sur le fonctionnement des CSM puisqu'il explique que, lorsqu'elles évoluent dans un environnement inflammatoire, les CSM sont capables de modifier le profil de cytokines sécrétées par les cellules dendritiques et les lymphocytes T, à l'origine d'une modification du milieu d'un état pro-inflammatoire vers un état anti-inflammatoire ou immunotoléro-gène.

La confrontation entre le nombre grandissant d'études rapportant une certaine innocuité des CSM et ces données montrant l'existence d'une réponse dirigée contre les cellules administrées a conduit les scientifiques à considérer les CSM comme « immuno-évasives, c'est-à-dire capables d'induire une réponse immunitaire atténuée » (MADDENS *et al.*, 2018).

Afin d'établir un éventuel intérêt à l'utilisation des CSM en dermatologie du chien, il est nécessaire de comprendre leur devenir et leur comportement après administration.

4) Devenir et mécanismes d'action des CSM après transplantation *in vivo*

À la manière de MADDENS *et al.* (2018), il est judicieux de considérer les CSM comme un (futur) médicament, plus précisément comme un « médicament de thérapie innovante (MTI) », et donc d'étudier ses propriétés pharmacologiques.

a) Caractéristiques pharmacocinétiques

i. Distribution

Quelle que soit la voie d'injection des CSM (locale ou systémique), une de leurs principales caractéristiques est associée à la notion de « homing », décrite comme un évènement par lequel une cellule migre d'une zone du corps vers un site où sa présence est nécessaire pour un évènement physiologique donné. Traduit comme un « tropisme spécifique » (MADDENS *et al.*, 2018), c'est une des propriétés des CSM qui explique qu'une administration parentérale ait des effets thérapeutiques au niveau de zones malades ou lésées (HARMAN, 2013). Ce « homing » a été rapporté à court (dans les 3 premiers jours) et moyen (3 jours à 3 mois) terme, cependant, une persistance à long terme, au-delà de 3 mois, est rarement détectée (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016).

Après injection intraveineuse, les poumons représentent un premier filtre des CSM. Les CSM, du fait de leur taille moyenne de 30 μm , se trouvent en grande partie piégées au niveau du lit capillaire pulmonaire. La voie intraartérielle semble diminuer cet effet de premier passage et, ainsi, augmenter l'accumulation des CSM au sein des tissus visés par l'effet thérapeutique (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016), en augmentant cependant la survenue d'évènements obstructifs et la formation d'embolies (MADDENS *et al.*, 2018). Après ce premier obstacle, les CSM sont, *a priori*, distribuées à une grande variété d'organes tels que les tissus gastro-intestinaux (colon, duodénum, jéjunum, iléon) et autres (rein, peau, thymus) (DEVINE *et al.*, 2003), ainsi qu'au niveau du foie et de la rate. De plus, certains modèles tendent à montrer qu'elles sont capables de migrer vers les régions pro-inflammatoires ou ischémiques (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016).

La biodistribution des CSM est, en réalité, limitée, puisqu'après injection de CSM marquées, le signal émis par celles-ci diminue jusqu'à ne plus être détecté après quatre jours (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016). Il semblerait que les CSM ne persistent pas au sein de l'organisme receveur : BERGLUND *et al.* (2017) rapportent des taux de greffe faibles. On

considère, aujourd'hui, que l'organisme receveur ne contient plus de CSM transplantées, quelques semaines après administration, quelle que soit la voie utilisée (MADDENS *et al.*, 2018).

ii. Métabolisme et élimination

La non-persistance des CSM suggère des mécanismes de métabolisation et d'élimination. Bien que celui-ci ne soit pas considéré comme un organe émonctoire, c'est le système immunitaire qui remplit ces fonctions.

Comme évoqué plus haut, les CSM ne sont pas réellement immuno-privilégiées et, bien que leur destin précis après injection par voie intraveineuse reste « insaisissable » (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016), il est probable que leurs interactions avec le système immunitaire, recherchées à visée thérapeutique, soient aussi à l'origine de leur élimination. La formation d'anticorps dirigés contre les CS injectées ou la mise en place d'une réaction immunitaire médiée par les lymphocytes T ont été observées (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016). D'autres auteurs évoquent l'intervention des lymphocytes NK (Natural Killer), capables, une fois activés, de lyser les CSM (MADDENS *et al.*, 2018).

b) Caractéristiques pharmacodynamiques

Historiquement, il a longtemps été supposé que les CSM participent à la réparation tissulaire en se différenciant en types de cellules dont le tissu aurait spécifiquement besoin, pour remplacer les cellules mortes ou endommagées (PHELPS *et al.*, 2018).

Aujourd'hui, les scientifiques s'accordent pour dire que, après injection, le faible temps de persistance des CSM chez le receveur n'est pas cohérent avec les résultats cliniques obtenus, voire que la prise de greffe n'est pas nécessaire pour obtenir une réponse au traitement (VON BAHR *et al.*, 2012). De plus, face au manque de preuves concernant la différenciation des CSM *in vivo* (BERGLUND *et al.* 2017), les chercheurs se sont concentrés sur les facteurs trophiques sécrétés afin d'élucider le fonctionnement des CSM (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019). Il est désormais admis que la majorité des effets thérapeutiques observés après administration de CSM est due à la sécrétion, par ces dernières, de molécules bioactives dont l'ensemble constitue le sécrétome. Celui-ci serait capable de stimuler les mécanismes endogènes de réparation et d'immunomodulation (PHELPS *et al.*, 2018), tout en exerçant une influence sur les populations cellulaires, locales et distantes (HARMAN, 2013). Face à l'élaboration de cette nouvelle théorie, CAPLAN (2017) propose même d'identifier les CSM en tant que « Cellules de Signalisation Médicinales », afin de mieux représenter leur mode d'action paracrine. La libération des facteurs se fait, principalement, depuis le lit capillaire, là où la majorité des CSM sont piégées (MADDENS *et al.*, 2018).

Contrairement aux CSM, rapidement indétectables, les molécules sécrétées peuvent persister jusqu'à 100 jours suivant la voie d'injection (intramusculaire). La puissance des CSM

réside, également, dans le dynamisme de leur sécrétome, puisqu'elles adaptent ce dernier au microenvironnement dans lequel elles évoluent (MADDENS *et al.*, 2018).

Une fois administrées à un organisme, les CSM semblent capables d'engendrer les mêmes effets que ceux qu'elles ont physiologiquement au sein de leur organisme d'origine. Elles remplissent leur fonction de support trophique, via les facteurs de croissance, leurs fonctions anti-inflammatoires ou immunomodulatrices, favorisent la néovascularisation et exercent leur activité anti-apoptotique (HARMAN, 2013). Il est important de rappeler que la sécrétion par les CSM de biomolécules est, avant tout, destinée à utiliser ou rediriger les capacités de l'organisme vers un retour à l'homéostasie initiale, en interagissant avec le système immunitaire ou en favorisant « l'afflux local de cellules souches endogènes » par la promotion de l'angiogenèse (MADDENS *et al.*, 2018). En effet, ce sont les cellules résidentes des tissus qui, stimulées par les facteurs sécrétés par les CSM exogènes, construisent le nouveau tissu (CAPLAN, 2017). Une dernière propriété émergente des CSM est antibactérienne, directement, par la stimulation de l'action des macrophages (phagocytose) et, de manière plus générale, par la coordination des effets pro-inflammatoires et anti-inflammatoires du système immunitaire, indirectement, par la production de composés antibiotiques : les peptides et protéines antimicrobiens (PAMs) (par exemple, le peptide cathélicidine LL-37) (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

Les effets engendrés par les CSM administrées ne sont pas immédiats. Un délai d'action d'une semaine est évoqué, notamment pour la mise en place des propriétés immunomodulatrices (MADDENS *et al.*, 2018).

Le caractère immuno-évasif des CSM, associé à leurs actions variées après administration, font de ces cellules des outils intéressants en thérapeutique. Il est cependant nécessaire de s'assurer de leur innocuité.

5) Sûreté de l'administration de cellules souches mésenchymateuses

a) Innocuité attestée par l'emploi des CSM à grande échelle

L'utilisation des CSM en médecine, humaine ou vétérinaire, bien que récente, a déjà été largement rapportée. Chez l'Homme, on ne recense pas de réaction de rejet suraiguë, même dans le cas d'allogreffe (BERGLUND *et al.*, 2011). De plus, la sûreté et la faisabilité de ce type de thérapie ont déjà été démontrées par de nombreux essais cliniques, tant dans le cas de réparation tissulaire, que pour l'atténuation de certaines maladies grâce au pouvoir immunomodulateur des CSM (PHELPS *et al.*, 2018).

La mise en place d'études *in vitro* puis précliniques, sur des modèles animaux, et, plus récemment, d'applications cliniques, a permis de montrer que l'utilisation des CSM est sans danger, en plus d'être efficace, pour le traitement d'affections cutanées, autant en médecine humaine que vétérinaire (HARMAN, 2013).

En médecine vétérinaire, l'utilisation de CSM a d'abord eu lieu en orthopédie du cheval (arthrose), puis s'est étendue à la prise en charge d'affections inflammatoires chroniques, chez les animaux de compagnie. De nombreuses études de terrain ont été réalisées, chez le chien, d'abord pour la prise en charge de l'arthrose, puis pour la prise en charge de la dégénérescence du disque intervertébral, de cardiomyopathie dilatée, de maladie inflammatoire chronique de l'intestin, de kératoconjonctivite sèche et, enfin, pour le traitement de maladie cutanées (dermatite atopique, par exemple). L'usage des CSM a, également, été testé chez le chat, dans le cadre d'affections chroniques (entéropathie chronique, maladie rénale, gingivostomatite) (MADDENS *et al.*, 2018).

Bien que l'emploi de CSM à visée thérapeutique, dans un grand nombre d'espèces et sur de grandes populations, témoigne de son innocuité, l'absence de méthode d'utilisation standardisée incite d'autant plus à la vigilance quant à l'apparition de certains effets secondaires (MADDENS *et al.*, 2018).

b) Vigilance face à quelques effets secondaires rapportés

Lors de la mise en place d'une thérapie par les CSM, il est primordial de garder à l'esprit qu'il s'agit de matière vivante, dont les modes d'action ne sont encore connus que partiellement. De plus, l'absence de protocole standardisé doit inciter les vétérinaires à redoubler de vigilance face à la survenue de certains signes cliniques.

Les effets secondaires rapportés sont, principalement, une inflammation locale, la production de tissu ectopique ou tumoral, la stimulation de cellules tumorales existantes et, enfin, les risques infectieux et thromboembolique (MADDENS *et al.*, 2018).

L'inflammation locale a surtout été rapportée dans le cas d'injection intra-articulaire dans l'espèce équine (MADDENS *et al.*, 2018). Chez le chien, de nombreuses études montrent que la voie intraveineuse (IV) est bien tolérée (PEREZ-MERINO *et al.*, 2015, VILLATORO *et al.*, 2018), de même que les voies intramusculaire (ENCISO *et al.*, 2019) et intradermique (KIM *et al.*, 2013). KANG et PARK (2014) rapportent des modifications fréquentes du parenchyme pulmonaire, témoignant d'une réaction inflammatoire moyenne (hémorragies, œdème). Les résultats restent nuancés par les auteurs, en raison de la faible population d'étude (9 chiens), et l'absence de groupe témoin.

En ce qui concerne la formation de tissu ectopique, ce danger semble limité face à l'absence de preuve concernant la différenciation des CSM *in vivo*. Des taux de greffe faibles (BERGLUND *et al.*, 2017) (0,1 à 2,7%, DEVINE *et al.*, 2003) et donc la non-persistance des CSM diminuent également considérablement ce risque à long terme (VON BAHR *et al.*, 2012).

Une autre inquiétude concerne le développement de tumeur. La formation de tératome, tumeur bénigne ou maligne, est déjà limitée par la non-utilisation de cellules souches embryonnaires ou de cellules souches pluripotentes induites (HARMAN, 2013). Des néoplasies malignes peuvent avoir lieu si des CSM néoplasiques sont transplantées. La phase à risque est celle de l'expansion des cellules, pendant laquelle des anomalies génomiques peuvent apparaître. Ce danger n'est, *a priori*, pas établi (MADDENS *et al.*, 2018). De plus, la vie courte des CSM chez le receveur (VON BAHR *et al.*, 2012) diminue, à nouveau, fortement ce risque.

Le risque de cancer est, également, à considérer dans le cas où des cellules tumorales seraient déjà présentes chez l'organisme receveur. Les CSM induisant une promotion de l'angiogenèse ainsi qu'une immunomodulation, il est raisonnable, bien que les chercheurs peinent à prouver ce risque, d'exclure tout patient chez qui un processus tumoral avéré est en cours (MADDENS *et al.*, 2018).

Le risque infectieux est également présent à deux titres.

Le premier, direct, est lié à la suspension produite puis administrée, vecteur potentiel d'agent infectieux. La contamination peut être due directement à la source des CSM (donneur) ou se produire, au laboratoire, lors de la préparation. Tout agent pathogène présent chez le donneur représente un danger. En effet, même un agent pathogène latent, peut, suite au changement de milieu pouvant être assimilé à un stress, provoquer une réactivation de cet agent une fois injecté au receveur (MADDENS *et al.*, 2018).

Le second est indirect, dû aux effets immunomodulateurs exercés par les CSM (ALCAYAGA *et al.*, 2017). On peut effectivement faire l'hypothèse qu'un phénomène infectieux, jusqu'alors jugulé par le système immunitaire du receveur, puisse à nouveau affecter son organisme (MADDENS *et al.*, 2018).

Enfin, certains auteurs rapportent la formation de thrombi et d'embolies dans le cas d'injection intraveineuse (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016), tandis que d'autres n'en détectent pas malgré des méthodes d'exploration fine (KANG and PARK, 2014 : détection *via* angioscanner pulmonaire et observations histopathologiques). Cela s'explique par le fait que les CSM auraient effectivement un « effet prothrombogène » (MADDENS *et al.*, 2018). Celui-ci est même augmenté après congélation et décongélation des CSM, qui expriment, légèrement mais significativement, plus le facteur tissulaire, ce qui est corrélé à une accélération des temps de coagulation (HOOGDUIJN *et al.*, 2016). La voie intraveineuse

reste, de manière générale, bien supportée (PEREZ-MERINO *et al.*, 2015, VILLATORO *et al.*, 2018), tandis que la voie intraartérielle semble plus encline à l'apparition de ce type de phénomènes obstructifs. Les CSM néonatales semblent moins à risque, car deux fois plus petites que les CSM adultes (MADDENS *et al.*, 2018).

Les CSM présentent un intérêt thérapeutique certain et semblent, de manière générale, bien tolérées après transplantation. Afin d'optimiser leur utilisation et limiter les effets indésirables, il est raisonnable de s'interroger sur les avantages d'une allogreffe par rapport à une autogreffe, et inversement.

6) Allogreffe versus autogreffe

En médecine vétérinaire, les CSM ont d'abord été employées de manière autologue, principalement en orthopédie du cheval (voie intra-articulaire), toujours suivant le dogme selon lequel les CSM se différencient en cellules cibles pour remplacer les tissus lésés. Suite à la remise en question totale de ce principe et à l'élucidation partielle des mécanismes de fonctionnement des CSM, le champ des utilisations s'est considérablement élargi (maladies inflammatoires chroniques, auto-immunes, traitement de plaies et de fistules...). À cela, s'ajoute une propriété phare des CSM : leur caractère immunoévasif. L'ensemble de ces considérations, ajoutées à cette absence de restriction immunologique (MADDENS *et al.*, 2018), ont vu naître les transplantations de CSM allogéniques, c'est-à-dire entre un donneur et un receveur différent.

Bien que les transplantations, autologue et allogénique, soient toutes les deux plutôt sans danger (MAZINI *et al.*, 2020) et que la même distribution tissulaire (DEVINE *et al.*, 2003), le même niveau d'efficacité et le même potentiel immunomodulateur soient rapportés dans les deux cas (BEN-AMI *et al.*, 2011), l'utilisation autologue est largement délaissée. En effet, elle peut être considérée comme excessivement chronophage, pour ce qui est de la collecte des CSM jusqu'à leur préparation. Alors que l'utilisation allogénique permet une préparation rapide (décongélation par exemple), en prenant seulement en compte la bonne santé du donneur, alors distinct du receveur (KIM *et al.*, 2013).

L'utilisation de CSM allogéniques permet la mise en place d'un traitement immédiat, avec des cellules de qualité, au moment désiré (BERGLUND *et al.*, 2017). De plus, sachant que l'objectif final est une utilisation des CSM en routine, en tant que Médicament de Thérapie Innovante, seules celles d'origine allogénique ont un avenir en médecine vétérinaire. Ceci est déjà mis en place chez l'Homme, pour qui le premier médicament à base de CSM a été autorisé par l'agence européenne du médicament (*Alofice1*[®], indiqué dans le traitement des fistules périanales chez les patients atteints de la maladie de Crohn) (MADDENS *et al.*, 2018).

BEN-AMI *et al.* (2011) soulèvent la problématique d'une greffe autologue dans le cas du traitement d'un patient atteint d'une maladie auto-immune, quant aux possibles altérations des propriétés de CSM prélevées chez un tel patient. Il demeure alors nécessaire de connaître les effets sur les CSM de l'influence de l'environnement particulier induit par une affection auto-immune.

De plus, l'utilisation allogénique, seule compatible avec la commercialisation de médicaments à base de CSM, présente un autre avantage par rapport à l'utilisation autologue. Il suffit de trouver un seul donneur en bonne santé pour traiter plusieurs chiens, ce qui, d'un point de vue éthique, est plus acceptable que s'il fallait trouver un donneur pour un receveur.

La mise en place d'une thérapie à base de CSM, bien que prometteuse, reste compliquée. De plus, la découverte de leurs mécanismes de fonctionnement, attribués principalement aux facteurs qu'elles sécrètent, ouvre les portes d'une thérapie basée sur l'utilisation de ces composés uniquement.

7) Utilisation des produits dérivés des CSM, le sécrétome : vers une thérapie acellulaire

L'attrait premier des scientifiques pour une thérapie à base de CSM était dû au fait que les capacités des CSM à restaurer un tissu lésé étaient uniquement attribuées à leur potentiel de différenciation en multiples lignées cellulaires. Cependant, aucune preuve ne permet d'affirmer que, une fois injectées à un organisme, les CSM sont capables de se différencier en un type de cellule cible. De plus, les effets thérapeutiques des CSM ont été largement attribués aux molécules qu'elles sécrètent (PHELPS *et al.*, 2018). Cela a mené les chercheurs à s'intéresser au sécrétome et à son influence sur l'immunité et l'homéostasie tissulaire (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019). Ainsi, émerge l'idée d'une thérapie acellulaire, utilisant uniquement le surnageant de culture des CSM (MAZINI *et al.*, 2020).

L'utilisation du sécrétome par rapport aux CSM présente quelques avantages, notamment en ce qui concerne le transport et le stockage, puisque dans ce cas il ne s'agit pas de matériel vivant. Le risque infectieux serait également minimisé du fait d'une meilleure stérilité. Il semble également mieux toléré par le système immunitaire. Cependant, un des inconvénients est que de nombreux paramètres influencent la nature du sécrétome et, donc ses propriétés thérapeutiques, notamment la source des cellules, les conditions de culture, les méthodes d'isolation, etc. (PHELPS *et al.*, 2018).

a) Utilisation du sécrétome

On définit le sécrétome, aussi appelé milieu conditionné, comme l'ensemble des facteurs solubles (cytokines, chimiokines, facteurs de croissance...) et des vésicules extracellulaires, libérés dans l'espace extracellulaire, par n'importe quel type de cellule, ici les CSM (LOMBARDI *et al.*, 2019). Les vésicules extracellulaires sont des composés entourés d'une membrane et contenant de nombreuses biomolécules (PHELPS *et al.*, 2018).

Des études *in vivo* et *in vitro*, chez l'Homme, concernent l'utilisation de milieu conditionné issu de la culture de CSM adipeuses, notamment pour le traitement de plaies chroniques. Les résultats sont plutôt prometteurs puisque l'application de sécrétome, par injection sous-cutanée et par voie topique, semble, suivant les études, stimuler la fermeture de la plaie, l'angiogenèse, l'amincissement du derme, la prolifération des macrophages ainsi que leur polarisation vers le type M2, et réduire l'inflammation (LOMBARDI *et al.*, 2019).

D'autres auteurs évoquent également l'utilisation du milieu conditionné issu de la culture de CSM adipeuses pour leurs propriétés antimicrobiennes. En effet, des études *in vitro* ont montré que ce sécrétome, mis en présence de *Pseudomonas aeruginosa*, induit la diminution du taux de croissance de la bactérie, avec la même efficacité qu'un antibiotique appartenant à la famille des aminosides (Généticine). L'association de ces deux traitements semble produire un effet encore plus puissant. Ces données suggèrent que le surnageant de culture de CSM pourrait être utilisé en tant que traitement auxiliaire des antibiotiques conventionnels (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

b) Utilisation d'une portion du sécrétome : les vésicules extracellulaires

Certains chercheurs ont également étudié l'utilisation d'une partie seulement du sécrétome : les vésicules extracellulaires, en tant que substitut aux thérapies cellulaires (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

Le terme de « vésicule extracellulaire » regroupe les exosomes, les microvésicules et les corps apoptotiques (PHELPS *et al.*, 2018) (figure 10). De 20 à 150 nm de diamètre, les exosomes sont formés *via* le compartiment endosomal et sont libérés dans le milieu extracellulaire par la fusion de multivésicules avec la membrane plasmique. Ils seraient un acteur clé de la communication intercellulaire, orchestrée par les CSM dont ils dérivent. Plus grandes (100-1000 nm), les microvésicules sont créées directement par le bourgeonnement de la membrane plasmique des CSM. Enfin, les corps apoptotiques (50 nm à 5 µm de diamètre) sont libérés, lors du processus de mort cellulaire, lorsque le cytosquelette se rompt, par la formation de « blebs » ou bulles, qui se séparent ensuite de la cellule (LOMBARDI *et al.*, 2019).

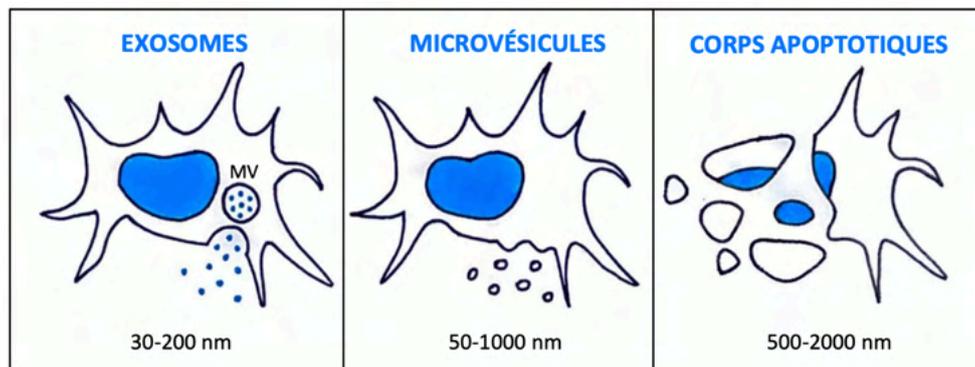


Figure 10 : Les différents types de vésicules extracellulaires

N.B. : Les tailles diffèrent légèrement suivant les sources.

Légende : MV : multivésicules ; nm : nanomètre. (D'après PHELPS *et al.*, 2018).

Les vésicules extracellulaires contiennent des protéines, sécrétées par les CSM, telles que des ARNm codants et d'autres protéines non codantes, telles que des miARN (micro-acide ribonucléique), des ARN longs non-codants et des ARN circulaires. Capables de migrer vers des cellules ou des tissus cibles, elles représentent ainsi un intérêt en bio-ingénierie, en tant que support, stable et de petite taille, pour délivrer des signaux à des cellules receveuses, par translation de protéine ou modification de l'expression de gènes, cela avec des dosages et des molécules choisis et adaptés. De plus, elles possèdent, *a priori*, une immunogénicité négligeable *in vivo* (PHELPS *et al.*, 2018) et sont bien tolérées dans les fluides biologiques (LOMBARDI *et al.*, 2019). En effet, une partie des effets paracrines des CSM a lieu par le transfert horizontal de matériel, contenu dans les vésicules extracellulaires, entre les cellules lésées et les CSM. Ceci est d'autant plus intéressant que ce transfert serait potentiellement bidirectionnel, entraînant une production du sécrétome en fonction de l'environnement, apportant une réponse spécifique des besoins des cellules (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

La découverte des propriétés antimicrobiennes des CSM et de la potentielle présence de PAMs (peptides et protéines antimicrobiens) dans les vésicules extracellulaires a d'autant plus accéléré l'attrait pour ces dernières. Des études supplémentaires restent à mener pour déterminer s'il est possible de conditionner les CSM afin d'enrichir le contenu des vésicules libérées en PAMs (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

Certaines études réalisées chez l'Homme, toujours dans le cas de plaies chroniques, ont mis en évidence l'obtention de résultats similaires en utilisant le sécrétome ou les vésicules extracellulaires uniquement. Ici, les vésicules sont injectées par voie intraveineuse, topique ou sous-cutanée. L'efficacité est supérieure par voie intraveineuse et semble être identique, que les vésicules soient fraîches ou décongelées après conservation à -80°C (LOMBARDI *et al.*, 2019).

Alors que le sécrétome et les vésicules extracellulaires semblent, bel et bien, favoriser la cicatrisation de plaies, il serait intéressant d'étudier l'effet des molécules solubles c'est-à-dire du sécrétome appauvri en vésicules extracellulaires. D'autant plus qu'une interaction synergique entre les différents composants du milieu conditionné est suggérée (LOMBARDI *et al.*, 2019).

L'utilisation des CSM allogéniques présente un intérêt certain en dermatologie du chien. Globalement bien tolérées par l'organisme receveur, leur pouvoir thérapeutique est dû à leurs effets bénéfiques sur la cicatrisation ainsi qu'à leur influence sur le système immunitaire.

En pratique, les modalités d'utilisation des CSM en thérapeutique chez le chien sont assez variées.

II) Exemples de quelques techniques pour l'obtention et l'utilisation de CSM

1) Protocoles pour l'utilisation de préparations à base de CSM

Le but de cette sous-partie est de donner une vision simplifiée de quelques protocoles décrits dans la littérature. Celle-ci recense 14 études et cas cliniques rapportant l'utilisation de CSM dans le cas de maladies cutanées chez le chien. La présentation qui suit se base sur des exemples de protocoles choisis parmi les 14 publiés, ainsi que sur d'autres études plus globales d'utilisation de CSM. Elle n'est, en aucun cas, exhaustive, et vise, avant tout, à décrire l'objectif et les effets de chaque étape vers l'obtention et l'utilisation des CSM chez le chien.

a) Sources de CSM et méthodes de prélèvement

Il est possible d'isoler des CSM à partir de pratiquement tout tissu, et de tous les tissus vascularisés (CAPLAN, 2017). Différentes études ont utilisé, respectivement, la moelle osseuse, le tissu adipeux, le cordon ombilical et le sang qu'il contient, la gelée de Wharton, le liquide amniotique, le muscle strié squelettique, le périoste, la gencive et le tissu parodontal, le tissu hépatique ou pulmonaire, le sang menstruel, etc. Les tissus les plus fréquemment utilisés demeurent la moelle osseuse, historiquement, et le tissu adipeux, pour son accessibilité (AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019).

En ce qui concerne la moelle osseuse, le prélèvement s'effectue, chez le chien, principalement par aspiration, par exemple au niveau de la crête iliaque (KIM *et al.*, 2013), et du grand tubercule de l'humérus (KANG and PARK, 2014).

Il existe deux sites majeurs de dépôt de tissu adipeux blanc : le compartiment sous-cutané et le compartiment intra-abdominal. On trouve également du tissu adipeux autour des vaisseaux sanguins, des reins, du cœur. Ces sites de dépôt, moins importants, ne sont généralement pas utilisés pour les prélèvements (MÜLLER *et al.*, 2016). Différents endroits de l'organisme sont dès-lors accessibles, par liposuction ou biopsie au niveau des muscles fessiers (VIEIRA *et al.*, 2010 ; VILLATORO *et al.*, 2015) ou au niveau de la base de la queue (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020), et par excision chirurgicale pour le prélèvement d'omentum (PEREZ- MERINO *et al.*, 2015 ; ENCISO *et al.*, 2019).

Les échantillons obtenus sont ensuite placés, dans des tubes à centrifugation, dans un milieu de culture classique du type DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), additionné d'antibiotiques (pénicilline, streptomycine, amphotéricine) (ENCISO *et al.*, 2019).

b) Isolement et culture des CSM

L'échantillon est ensuite lavé abondamment, par exemple avec une solution à base de PBS (ou tampon phosphate salin) et contenant des antibiotiques (pénicilline, streptomycine). Seul le surnageant est conservé, permettant d'éliminer les caillots sanguins et les cellules hématopoïétiques (VIEIRA *et al.*, 2010 ; KIM *et al.*, 2013 ; ENCISO *et al.*, 2019).

On réalise ensuite une digestion enzymatique (généralement à l'aide de collagénase de type I) à 37°C. Celle-ci peut durer une quinzaine de minutes (VIEIRA *et al.*, 2010) ou une heure avec agitation continue (ENCISO *et al.*, 2019). D'autres auteurs préfèrent l'utilisation de collagénase de type II (VILLATORO *et al.*, 2018) ou de hyaluronidase (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). Cette étape permet de fragmenter l'échantillon en digérant la matrice extracellulaire et ainsi libérer et séparer les cellules. L'activité enzymatique est ensuite neutralisée à l'aide de milieu de culture (DMEM ou DMEM-HG, c'est-à-dire enrichi en glucose (high glucose)), associé à 10% de FBS (VIEIRA *et al.*, 2010 ; ENCISO *et al.*, 2019).

Les étapes suivantes consistent en la filtration, pour retirer les débris éventuels, et la centrifugation, pour faire sédimenter les cellules, de la solution. Certains auteurs pratiquent la centrifugation en premier (VIEIRA *et al.*, 2010), d'autres commencent par la filtration, suivie d'une centrifugation (ENCISO *et al.*, 2019).

Le culot cellulaire est conservé et transféré dans des flacons (ENCISO *et al.*, 2019) ou plaques de culture (VIEIRA *et al.*, 2010). Les milieux de culture diffèrent à nouveau à cette étape : utilisation de DMEM pur pour DE OLIVEIRA *et al.* (2020), utilisation de DMEM, FBS et antibiotiques pour ENCISO *et al.* (2019), ou encore utilisation de DMEM-HG et FBS pour VIEIRA *et al.* (2010).

Une nouvelle étape de lavage peut être effectuée 24 à 48 heures après ce stade, avec du PBS, afin de retirer les cellules non attachées et de fournir un milieu frais (VIEIRA *et al.*, 2010).

La culture se poursuit ensuite dans un incubateur, à 37°C, sous atmosphère à 5% de CO₂ (dioxyde de carbone), dans le milieu de culture (VIEIRA *et al.*, 2010 ; ENCISO *et al.*, 2019).

Les cellules sont lavées (par exemple avec du PBS) puis le milieu de culture est renouvelé, tous les trois jours, pendant une douzaine de jours. S'en suit ensuite une série de « passages » ou repiquages. Après avoir atteint 80% de confluence (ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020) (ou 70% suivant les études (VIEIRA *et al.*, 2010)), les cellules sont détachées des flacons de culture grâce à de la trypsine, permettant de rompre les protéines membranaires extracellulaires, pendant quelques minutes. L'action enzymatique est ensuite neutralisée à l'aide de DMEM et 10% de FBS. Enfin, la solution est centrifugée et les cellules placées en culture une nouvelle fois (ENCISO *et al.*, 2019). Ces repiquages successifs permettent d'augmenter le rendement cellulaire.

Une fois le nombre de cellules souhaité atteint, celles-ci sont mises en suspension, soit dans du DMEM pour une utilisation fraîche (ENCISO *et al.*, 2019), soit dans un milieu de conservation pour congélation (VIEIRA *et al.*, 2010 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

c) Conservation des CSM obtenues

Les CSM obtenues peuvent être soit utilisées fraîches, soit, dans l'objectif d'une utilisation à grande échelle, congelées et être ainsi disponibles au besoin.

La conservation peut se faire par cryoconservation dans du nitrogène liquide à court terme (une dizaine de jours, ENCISO *et al.*, 2019) et à plus long terme (un an, MARTINELLO *et al.*, 2011). Le milieu de cryoconservation proposé par MARTINELLO *et al.* (2011), et utilisé par VILLATORO *et al.* (2018) contient en majorité du sérum bovin fœtal (FBS) (90%), associé à du diméthylsulfoxyde (DMSO) (10%). Il s'agit de faire descendre progressivement les tubes en température (-1°C par minute), jusqu'à atteindre -80°C pendant une semaine, pour ensuite transférer les tubes dans une cuve contenant de l'azote liquide. Il n'existe pas de milieu précisément défini : VIEIRA *et al.* (2010) utilisent une autre solution, contenant du FBS (80%), ainsi que du DMSO (10%), auxquels est ajouté du DMEM enrichi en glucose (DMEM-HG).

KHAN *et al.* (2019) utilisent un milieu encore différent, à base de DMEM (50%), FBS (40%), et DMSO (10%). La vitesse de diminution en température est également différente : les cellules sont placées à 4°C pendant une heure, puis -20°C pendant deux heures puis -80°C pendant un jour, puis -150°C pour deux à trois semaines.

Sur seulement cinq protocoles d'extraction, de culture, d'obtention et de conservation de CSM, de nombreuses différences apparaissent, comme en témoigne le tableau I. Il existe une grande variabilité des manipulations, puisqu'aucune méthode standardisée n'existe.

Tableau I: Variabilité de quelques protocoles de prélèvement et expansion des CSM

Type de tissu	Prélèvement :			Digestion enzymatique :			Centrifuga-tion		Si filtration	Solution de lavage après centri-fugation	Conditions de culture :			Confluence avant trypsination	Nombre de passages	Si cryocon-servation	Milieu de conservation	
	Lieu	Méthode	Composition de la solution de lavage	Enzyme	Dose	Conditions	Solution pour neutraliser l'activité enzymatique	Vitesse			Durée	Taille du filtre	Milieu					Température
VIEIRA <i>et al.</i> , 2010	Tissu adipeux	Muscles fessiers	Biopsies et liposuc-tion	PBS + pénicilline et strepto-mycine	Collagénase I	0,08%	37°C 15 min	DMEM-HG + 10% FBS	1200 x g	5 min	NR	PBS	DMEM-HG + 10% FBS	37°C	5% CO2	70%	NR	80% FBS + 10% DMEM-HG + 10% DMSO
KIM <i>et al.</i> , 2013 (basé sur JUNG <i>et al.</i> , 2008)	Moelle osseuse	Crête iliaque	Aspira-tion	PBS	Pas de digestion enzymatique				1100 x g	30 min	Pas de filtration mention-née	PBS	DMEM + 10% FBS + 1% solution antibiotique et antimycosique (NR)	37°C	Humidi-tié 5% CO2	NR	2	Même milieu que celui de culture
VILLATORO <i>et al.</i> , 2018 (basé sur VILLATORO <i>et al.</i> , 2015)	Tissu adipeux	Muscles fessiers	Biopsie	Pas de lavage	Collagénase II	0,10%	37°C 90 min	NR	400 x g	5 min	100 µm	Milieu de culture	DMEM + 10 FBS + L-glutamine + pénicilline + streptomycine + amphotéricine B	NR	NR	80%	2	90% FBS + 10 DMSO
ENCIISO <i>et al.</i> , 2019	Tissu adipeux	Omentum	Excision chirur-gicale	PBS	Collagénase I	1 mg/mL	37°C 60 min	DMEM + 10% FBS	800 rpm	5 min	100 µm	NR	DMEM + 10% FBS + 1% pénicilline-streptomycine	37°C	Humidi-tié 5% CO2	80%	5	85% DMEM + 10% FBS + 5% DMSO
DE OLIVEIRA RAMOS <i>et al.</i> , 2020 (BIOCELL Labora-tories)	Tissu adipeux	Base de la queue	Excision chirur-gicale	NaCl 0,9%	Hyaluronidase		NR		Pas de centrifugation mentionnée		NR	NR	DMEM	37,5°C	5% CO2	80%	NR	FBS + DMSO

Légende : NR : non renseigné ; rpm : rotations par minutes ; min : minutes ; DMEM : Dulbecco's Modified Eagle Medium ; DMEM-HG : DMEM high glucose ; PBS : phosphate-buffered saline ou tampon phosphate salin ; CO₂ : dioxyde de Carbone ; NaCl : chlorure de sodium.

d) Préparation de la solution à administrer

i. Utilisation de cellules fraîches

Les études utilisant des CSM fraîches sont rares.

Lors du passage choisi, KHAN *et al.* (2019) centrifugent la solution, afin de ne conserver que le culot contenant les cellules cultivées. Celles-ci sont alors immédiatement placées dans 1 mL de solution de Hartmann ou Ringer Lactate. Après comptage cellulaire, le nombre de cellules souhaité est placé dans un plus grand volume de Ringer Lactate, avant d'être injecté, par voie intraveineuse dans ce cas-là.

KANG et PARK (2014) procèdent autrement et rincent d'abord trois fois de suite les cellules obtenues à l'aide de PBS, avant de les placer dans une solution de sérum physiologique, prêtes à être injectées.

ii. Utilisation de cellules congelées

La décongélation est une étape indispensable afin que l'administration des CSM à un patient soit possible. MARTINELLO *et al.* (2011) proposent de décongeler les tubes au bain-marie, à 37°C, pendant une à deux minutes. Les cellules sont ensuite lavées avec une solution de DMEM contenant 10% de FBS, afin d'éliminer le DMSO. Les cellules sont enfin placées dans des flacons en présence de milieu non-inductif.

ENCISO *et al.* (2019) utilisent le protocole de décongélation de MITCHELL *et al.* (2015), suivant lequel les flacons sont placés au bain-marie, sous une légère agitation, jusqu'à ce qu'aucun glaçon ne soit présent. Une fois décongelées, du tampon phosphate salin de Dulbecco (DPBS) est immédiatement ajouté à la solution, puis à nouveau quelques minutes plus tard. Ensuite, ENCISO *et al.* (2019) diluent les cellules ainsi obtenues dans du sérum physiologique afin de les injecter immédiatement.

KHAN *et al.* (2019), après décongélation des tubes au bain-marie à 37°C pendant cinq minutes, ajoutent une dernière étape de centrifugation (2500 rpm, 5 min, à 4°C). Le culot cellulaire est ensuite mis en suspension dans du Ringer Lactate.

PEREZ-MERINO *et al.* (2015) procèdent d'une manière encore différente, puisqu'ils repiquent une fois de plus les cellules après décongélation. Une fois arrivées à 75% de confluence, elles sont trypsinisées puis envoyées à la clinique souhaitée, dans des seringues pré-remplies avec quelques millilitres de PBS. Pour leur administration, chaque seringue est ensuite diluée dans un grand volume de sérum physiologique.

iii. Posologie

Une fois les CSM disponibles, fraîches ou décongelées, il s'agit de déterminer à quelle posologie les administrer. La posologie à laquelle les CSM sont administrées dépend, non seulement, du chercheur mais, également, de la maladie. En cas de lésions cutanées ischémiques ou traumatiques, une administration locale, directement dans le tissu lésé, peut être utilisée, tandis que dans le cas de maladie auto-immune, la voie systémique sera préférée (HARMAN, 2013).

Le choix de la voie d'administration est important. Par exemple, la voie intraartérielle, par rapport à la voie intraveineuse, augmente l'accumulation des CSM au niveau des tissus à visée thérapeutique (LEIBACHER and HENSCHLER, 2016), cependant, elle est plus à risque pour la formation d'embolies. Dans le but de concentrer les cellules au niveau de certains vaisseaux, une perfusion locorégionale peut s'avérer pertinente. La voie intraartérielle sous-garrot, dans le cas d'une affection d'un membre, par exemple, est à préférer au même type d'injection par voie intraveineuse (MADDENS *et al.*, 2018). Les voies intramusculaire (ENCISO *et al.*, 2019) et sous-cutanée (MADDENS *et al.*, 2018) permettraient de contrer la non-persistance des CSM puisque leur durée de vie semble, dans ce cas, localement prolongée. On peut supposer qu'il en est de même pour la voie intradermique utilisée par KIM *et al.* (2013), autour et dans le lit de plaies cutanées.

La rapidité d'injection doit également être choisie. Il semble que, pour les injections intraveineuses, une perfusion plus ou moins lente soit préférée, bien qu'aucun taux ne soit choisi à l'unanimité (100 mL/h pour VILLATORO *et al.* (2018), 40 à 60 mL/h pour KANG et PARK (2014), 750 mL/h pour PEREZ-MERINO *et al.* (2015)).

La fréquence d'administration diffère suivant les études. Certains chercheurs procèdent à une seule administration, par une injection unique (VILLATORO *et al.*, 2018) ou de multiples injections séparées dans l'espace mais contemporaines (KIM *et al.*, 2013), tandis que d'autres répètent les administrations (ENCISO *et al.*, 2019).

La dose de CSM administrées varie aussi. En injection unique, par voie intraveineuse, on peut trouver : $1,5 \times 10^6$ cellules par kilogramme de poids vif (/ kg PV) (VILLATORO *et al.*, 2018) et 2×10^6 cellules / kg PV (PEREZ-MERINO *et al.*, 2015). KANG et PARK (2014) testent différents protocoles pour cette même voie : 2×10^6 et 2×10^7 cellules par individu, ou encore 2×10^6 cellules par individu, trois jours consécutifs. ENCISO *et al.* (2019) réalisent des injections intramusculaires de $0,5 \times 10^6$ cellules / kg PV, une fois par semaine pendant 6 semaines. Enfin, KIM *et al.* (2013) réalisent des injections intradermiques multiples avec des doses totales pour chaque plaie de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 et 1×10^7 CSM.

On constate une grande variabilité des posologies employées par les différents auteurs, alors que le choix de celle-ci, ainsi que du moment d'administration des CSM par rapport à l'évolution de la maladie, est d'autant plus important que les CSM persistent peu de temps chez l'organisme receveur (MADDENS *et al.*, 2018).

e) Principes de protocoles pour la thérapie acellulaire

L'attrait des scientifiques pour une thérapie utilisant uniquement le sécrétome des CSM a vu se mettre en place différents protocoles. Les protocoles suivants ont été mis en place avec des CSM humaines, les mêmes procédures sont, *a priori*, applicables à des CSM canines.

LOMBARDI *et al.* (2019) soulèvent le fait qu'il existe une très grande variabilité dans les méthodes d'obtention et utilisation de milieu conditionné. Le principe de culture des CSM est le même, il s'agit ensuite de récupérer le milieu de culture, contenant le sécrétome, afin de le centrifuger, puis d'éliminer les cellules grâce à un filtre de très petit calibre (0,22 µm par exemple). Le milieu conditionné ainsi obtenu peut être congelé à -20°C, pendant plusieurs mois, sans altération fonctionnelle (PHELPS *et al.*, 2018).

En ce qui concerne l'obtention des vésicules extracellulaires, deux techniques principales existent : l'ultracentrifugation et la précipitation (LOMBARDI *et al.*, 2019).

Enfin, pour l'administration du sécrétome, la plupart des études réalisent des injections intraveineuses de milieu conditionné ou de vésicules extracellulaires diluées dans du PBS (PHELPS *et al.*, 2018).

Ces techniques ne sont pas détaillées car les protocoles à base de sécrétome issu de la culture CSM sont encore à l'essai chez l'Homme, et manquent de documentation chez le chien.

Entre les différentes étapes d'obtention et d'utilisation de CSM viennent s'intercaler des procédures visant à évaluer la réussite d'un tel protocole.

2) Évaluation de la réussite d'un protocole thérapeutique à base de CSM

Lors de la réalisation d'un protocole d'obtention de CSM et de leur utilisation à des fins thérapeutiques, il est nécessaire de réaliser des contrôles ou tests à différentes étapes. La réussite d'un tel protocole dépend de deux facteurs principaux. Il est d'abord nécessaire de s'assurer de la composition de la préparation obtenue, pour ensuite évaluer les effets du traitement sur la pathologie concernée, suite à son administration.

a) Obtention de CSM en quantité et qualité suffisantes

A l'issue de l'ensemble des manipulations de culture des CSM, il est nécessaire de s'assurer que l'on est en possession du type de cellules désiré, ici des CSM. De plus, il est intéressant de calculer des indicateurs de croissance, afin d'anticiper le nombre de passages nécessaires à l'obtention de la quantité de CSM souhaitée.

i. Manipulations pour s'assurer de l'obtention de CSM

Afin de s'assurer que les cellules obtenues à la fin des différents passages sont bien des CSM, il est nécessaire de se rappeler de la définition des CSM, qui repose avant tout sur un ensemble de propriétés fonctionnelles. La Société Internationale pour la Thérapie Cellulaire (DOMINICI *et al.*, 2006) énonce que les cellules doivent être adhérentes au plastique dans des conditions de culture standards, elles doivent exprimer certains marqueurs de surface et être dépourvues d'autres, enfin, elles doivent être capables de différenciation en ostéoblastes, adipocytes et chondroblastes (HARMAN, 2013).

- Adhésion au plastique

La vérification de l'adhésion des cellules au plastique des flacons de culture est rarement évoquée dans les études. Cette observation peut être réalisée assez simplement lors des repiquages successifs, à l'aide d'un microscope.

- Analyse des marqueurs de surface

La majorité des chercheurs testent la présence ou absence des différents marqueurs extracellulaires par analyse par cytométrie de flux (VILLATORO *et al.*, 2018 ; PEREZ-MERINO *et al.*, 2015 ; KIM *et al.*, 2013 ; ENCISO *et al.*, 2019). Les résultats sont énoncés dans le tableau II et témoignent d'une certaine hétérogénéité.

Alors qu'un consensus existe uniquement pour les marqueurs exprimés à la surface des CSM humaines (DOMINICI *et al.*, 2006), VIEIRA *et al.* (2010) énoncent des possibles différences

d'expressions de tels marqueurs chez le chien. En effet, les marqueurs CD73 et CD105, exprimés par les CSM humaines, ne seraient pas détectés à la surface des CSM canines isolées. Ces données sont en contradiction avec les résultats de VILLATORO *et al.* (2018) qui obtiennent des cellules exprimant CD73.

Tableau II : Résultats obtenus lors de l'analyse de CSM par cytométrie de flux

	Marqueurs exprimés	Marqueurs non exprimés
Recommandation pour les CSM humaines (DOMINICI <i>et al.</i>, 2013)	CD73 CD90 CD105	CD14 ou CD11b ; CD19 ou CD79 α ; CD34 ; CD45
Marqueurs testés et résultats obtenus pour les CSM canines		
VIEIRA <i>et al.</i>, 2010	CD29 CD44 CD90	CD13 CD34 CD45 CD73 CD105 CD117
KIM <i>et al.</i>, 2013	CD9 CD44	CD34 CD45
VILLATORO <i>et al.</i>, 2018	CD29 CD44 CD73 CD90	CD11/18 CD34 CD45
ENCISO <i>et al.</i>, 2019	CD90 CD105	CD45
DE OLIVEIRA RAMOS <i>et al.</i>, 2020 (BIOCELL Laboratories)	CD29 CD44 CD90	CD34

Légende : CD = cluster de différenciation.

- Capacité de différenciation en trois lignées cellulaires précises

Bien que la différenciation des CSM ne soit pas un mécanisme prédominant *in vitro*, elle n'en demeure pas moins un des critères d'identification des CSM.

Une partie des cellules obtenues en fin de culture est prélevée et mise dans des conditions de cultures adéquates permettant la différenciation respectivement en ostéoblastes, adipocytes et chondroblastes (VILLATORO *et al.*, 2015 ; PEREZ-MERINO *et al.*, 2015 ; VILLATORO *et al.*, 2018).

Pour la différenciation en ostéoblastes, les cellules sont placées dans un milieu d'induction, constitué de DMEM additionné de 10% de FBS associés à de la dexaméthasone, de l'acide ascorbique et du β -glycérophosphate. Trois semaines plus tard, les cellules sont analysées à la recherche de dépôts de calcium, en évaluant l'activité pour la phosphatase alcaline et par coloration au rouge d'alizarine (VILLATORO *et al.*, 2015 ; PEREZ-MERINO *et al.*, 2015 ; VILLATORO *et al.*, 2018). Une coloration de Von Kossa peut également être utilisée (ENCISO *et al.*, 2020b).

Pour la différenciation en adipocytes, les cellules sont placées dans un milieu d'induction, constitué de DMEM additionné de 10% de FBS, de 15% de sérum de lapin, de dexaméthasone, de 3-Isobutyl-1-méthylxanthine, d'insuline bovine et d'indométacine. Trois semaines plus tard, les cellules sont ensuite incubées avec une solution de « O Red Oil » afin de visualiser les vacuoles lipidiques, alors colorées en rouge.

Pour la différenciation en chondroblastes, les cellules sont placées dans un troisième milieu d'induction, composé de DMEM-HG, additionné de dexaméthasone, d'acide ascorbique, de pyruvate de sodium, de TGF- β 1, ainsi que d'un pré-mélange de supplément de culture universel (insuline, transferrine humaine, acide sélénieux). Les cellules sont ensuite colorées au bleu de toluidine, qui va alors réagir avec le cartilage matriciel présent (VILLATORO *et al.*, 2015 ; PEREZ-MERINO *et al.*, 2015 ; VILLATORO *et al.*, 2018). L'utilisation de Bleu Alcian est également rapportée, mettant en évidence la synthèse de protéoglycanes par les chondroblastes (ENCISO *et al.*, 2020b).

ii. Caractérisation des performances de production

Certains chercheurs ajoutent à leur étude des mesures pour caractériser leur production de CSM. VILLATORO *et al.* (2015) évaluent par exemple le rendement cellulaire, le temps de doublement de la population et la prolifération cellulaire.

Ces mesures, non réalisées lors de tous les essais cliniques, peuvent s'avérer intéressantes afin d'anticiper le nombre de passages nécessaires pour l'obtention de la quantité de CSM souhaitées, ou encore pour ajuster au mieux les conditions de cultures, en quête de conditions de culture optimisées et standardisées.

iii. Analyse de la qualité des CSM

Une autre analyse, non réalisée en routine, mais permettant d'attester de l'intégrité des cellules obtenues est la réalisation de caryotypes à différentes étapes de la production (VIEIRA *et al.*, 2010 ; VILLATORO *et al.*, 2018). Des études ont cependant montré que les rares anomalies chromosomiques, parfois présentes, ne persistent pas et se dissipent lors des repiquages suivants (MADDENS *et al.*, 2018), rendant cette analyse non indispensable.

Certains auteurs s'intéressent également à l'expression de « marqueurs de multipotence ». Les facteurs OCT4 (ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020) et SOX2 (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020) sont respectivement recherchés par cytométrie de flux (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020) ou immunocytochimie (ENCISO *et al.*, 2019). L'utilisation de tels marqueurs n'est cependant pas unanime.

Après s'être assuré que les cellules obtenues correspondent à la définition de CSM et qu'elles sont en quantité et qualité souhaitées, il s'agit d'évaluer leur effet au sein du contexte pathologique dans lequel elles sont appliquées.

b) Évaluation du succès thérapeutique

i. Utilisation de données empiriques

Une première méthode d'évaluation de l'effet de l'administration de CSM sur la maladie traitée est l'analyse de données empiriques. Dans le cas de plaies cutanées, on peut simplement noter si la plaie a totalement cicatrisé ou non et si la plaie est apparemment infectée ou non (KIM *et al.*, 2013). Dans le cas d'affections chroniques, comme la dermatite atopique, cela passe d'abord par la réalisation d'un examen clinique et dermatologique complet. Ensuite, le ressenti et la satisfaction globale du propriétaire peuvent également être évalués (VILLATORO *et al.*, 2018).

ii. Utilisation d'indicateurs établis

Dans un second temps, des données mesurées, chiffrées, peuvent également être analysées. Dans le cas de plaies cutanées, de nombreux paramètres peuvent être évalués comme la distance entre les lèvres de la plaie ou encore le taux de dépôt de collagène (KIM *et al.*, 2013). Dans le cas de l'exemple de la dermatite atopique, des grilles et systèmes de notation préétablis et validés peuvent être utilisés, telle que le système CADESI (« Canine Atopic Dermatits Extent and Severity Index ») ou index de sévérité et extension des lésions des chiens souffrant de dermatite atopique (VILLATORO *et al.*, 2018), et le système CADLI (« Canine Atopic Dermatits Lesion Index ») ou index de lésions de dermatite atopique canine. L'index de prurit est également un paramètre mesurable (ENCISO *et al.*, 2019).

Parmi les quelques études utilisées ici pour illustrer des méthodes d'utilisation des CSM, les mêmes grandes étapes pour leur obtention et leur utilisation sont présentes. Celles-ci sont suivies d'auto-évaluations concernant la réussite globale du protocole : de l'obtention de CSM jusqu'à leur efficacité thérapeutique. Il apparaît cependant une absence d'unité, à l'origine d'interrogations demeurant sans réponse.

III) Défis et enjeux pour l'utilisation de CSM chez le chien

La réussite de la mise en place de thérapies à base de CSM chez le chien doit faire face à de nombreux défis et enjeux, sur les plans pratique, éthique et réglementaire.

1) Défis pratiques

D'abord, il convient de déterminer chez quel(s) individu(s) seront prélevées les CSM, dans quelles conditions, avec quelles garanties pour les potentiels patients receveurs.

a) Critères de sélection du donneur

Il apparaît d'abord évident que le donneur doit être en bonne santé. Au-delà de cela, afin de limiter le risque infectieux, un dépistage complet des maladies infectieuses chez ce dernier doit être réalisé (KANG and PARK, 2020). ENCISO *et al.* (2019) choisissent un donneur à jour pour les vaccins contre la maladie de Carré, la parvovirose, la leptospirose, le virus Parainfluenza, l'Adénovirus de type 2 et le Coronavirus canin. Un test issu du laboratoire Idexx (« SNAP 4Dx ») est également utilisé pour s'assurer que le donneur est indemne d'anaplasmose, de dirofilariose, d'ehrlichiose, de la maladie de Lyme.

L'âge du donneur est également un critère de choix. VILLATORO *et al.* (2015) expliquent le choisir jeune, car il a été montré que, dans le cas des CSM adipeuses, l'âge et les différentes maladies ont un impact négatif sur leurs propriétés angiogéniques et immunomodulatrices. Certains indiquent que le potentiel de prolifération (GUERCIO *et al.*, 2013 ; VILLATORO *et al.*, 2015 ; AYALA-CUELLAR *et al.*, 2019) et le potentiel de différenciation diminuent lorsque l'âge du donneur augmente (VILLATORO *et al.*, 2015). Cette dernière considération semble moins préoccupante lorsque l'on sait que ces mécanismes ne sont pas prédominants *in vitro* (BERGLUND *et al.* 2017 ; PHELPS *et al.*, 2018 ; MADDENS *et al.*, 2018). Le nombre de cellules par gramme de prélèvement est en revanche important, on ne démontre pas de variation significative de ce paramètre avec l'âge du donneur (GUERCIO *et al.*, 2013).

b) Choix du protocole

Ensuite, il convient de déterminer les conditions dans lesquelles les CSM vont être obtenues et utilisées.

i. Protocole pour une thérapie à base de CSM

Les différentes études évoquées dans la partie II ont révélé une grande hétérogénéité des protocoles mis en place, du prélèvement de tissu aux méthodes de cultures et identification de CSM.

De manière générale, une problématique majeure est le coût de production élevé d'un Médicament de Thérapie Innovante (MTI) à base de CSM par rapport aux traitements conventionnels (ALCAYAGA-MIRANDA *et al.*, 2017).

- Choix du type de CSM utilisées

Il est d'abord nécessaire de choisir le type de CSM employées, et donc le type de tissu à prélever. Les CSM néonatales semblent présenter le moins de risque, d'un point de vue infectieux et en ce qui concerne les risques obstructifs (plus petite taille) (MADDENS *et al.*, 2018). Le tissu adipeux a l'avantage, lui, d'être plus riche en CSM (MARTINELLO *et al.*, 2011). Les CSM néonatales, issues de tissu adipeux ou de moelle osseuse semblent cependant posséder des effets similaires.

- Choix de la méthode de prélèvement

La méthode de prélèvement doit ensuite être déterminée, et elle dépend du choix effectué à l'étape précédente. Les CSM néonatales peuvent être prélevées lors de césarienne (MADDENS *et al.*, 2018), bien que les femelles reproductrices ne représentent pas la majorité des individus femelles de l'espèce canine. SULTANA *et al.* (2018) proposent l'utilisation des organes reproducteurs lors des chirurgies de convenance, cependant des études supplémentaires sont nécessaires. Le tissu adipeux présente un accès facile et peut être obtenu à partir de procédures mini-invasives, en grande quantité (GUERCIO *et al.*, 2013). De nombreux paramètres sont à prendre en compte pour le choix de la méthode de prélèvement, et MAZINI *et al.* (2020) alertent sur un potentiel effet négatif des anesthésiques locaux, utilisés lors de biopsies, sur les CSM adipeuses.

Pour la mise en place d'un MTI à base de CSM, le tissu source choisi doit réunir de nombreux critères. En plus de son efficacité et son innocuité, il doit notamment pouvoir être prélevé le plus facilement possible. Les CSM néonatales demeurent donc les meilleures candidates (MADDENS *et al.*, 2018).

- Choix des conditions de culture

Pour toute la durée de la culture cellulaire et des différents passages, il est nécessaire de fixer différents paramètres comme les conditions du milieu (température, pourcentage d'humidité, pourcentage de CO₂). De nombreux auteurs semblent utiliser les mêmes valeurs : 37°C, 5% de CO₂, dans une atmosphère humide (% non précisé) (VIEIRA et al., 2010 ; KIM et al., 2013 ; PEREZ-MERINO et al., 2015 ; ENCISO et al., 2019). En revanche, chaque auteur semble utiliser un milieu de culture différent, ainsi que des variables différentes pour la ou les étapes de centrifugation et de filtration (cf. partie 2, II, tableau I). Le choix de ces paramètres est d'autant plus important que certaines conditions d'expansions pourraient parfois diminuer les capacités de « homing » (ou migration spécifique) des CSM, en modifiant l'expression des récepteurs membranaires (MADDENS et al., 2018).

Concernant le choix des réactifs, LOMBARDI *et al.* (2019) soulèvent le problème majeur de l'utilisation dans la plupart des études de sérum foetal bovin (FBS). L'utilisation d'un tel produit engendre des considérations à la fois éthiques et scientifiques. En effet, le prélèvement de sang sur un foetus vivant lors de l'abattage de sa mère dans les deux derniers tiers de gestation est largement remis en question. Ensuite, l'utilisation de FBS présente des inconvénients d'un point de vue scientifique puisque sa composition ne peut être précisément connue, et est susceptible de varier d'un lot à l'autre, sous l'influence de facteurs saisonniers et géographiques. Cette incertitude augmente alors les risques infectieux pour le personnel de laboratoire, ainsi que pour les futures patients receveurs de CSM. Le FBS possède un dernier défaut en ce qui concerne la commercialisation d'un potentiel MTI puisque qu'il est sujet à des pénuries mondiales d'approvisionnement et a déjà fait l'objet de fraudes (VAN DER VALK *et al.*, 2018). Une perspective d'alternative à l'utilisation de FBS serait celle de lysat de plaquettes humaines (PHELPS *et al.*, 2018 ; MAZINI *et al.*, 2020).

Enfin, les CSM peuvent être employées indifférenciées (VIEIRA et al., 2010 ; KIM et al., 2013 ; PEREZ-MERINO et al., 2015 ; VILLATORO et al., 2018 ; ENCISO et al., 2019) ou stimulées (DEVINE *et al.*, 2003), c'est-à-dire avec un potentiel augmenté grâce à certaines conditions de culture (MADDENS *et al.*, 2018), ou encore prédifférenciées en type cellulaires spécifiques (KANG and PARK, 2020). Cette dernière option semble peut pertinente étant donné qu'il a été montré que l'effet bénéfique des CSM ne fait pas intervenir leur différenciation en cellules cibles, de plus, l'immunogénicité de telles cellules seraient augmentée (MADDENS *et al.*, 2018).

- Choix des conditions de conservation

La commercialisation d'un MTI à base de CSM nécessite également de réfléchir à son conditionnement, son stockage et son transport. L'utilisation de cellules fraîches est alors peu appropriée. La seule méthode de conservation utilisée pour le moment est la cryoconservation. Elle ajoute donc la nécessité d'établir un milieu de conservation, ainsi que des protocoles de congélation et décongélation, pour lesquels il n'existe pas de consensus (cf. partie 2, II). Un nouveau défi apparaît alors puisque la congélation augmente l'effet pro coagulant des CSM et semble induire une réponse inflammatoire et pro coagulante précoce (ou IBIMR : instant blood mediated inflammatory reaction) (HOOGDUIJN *et al.*, 2016). Alors que certains auteurs conservent les CSM un an (MARTINELLO *et al.*, 2011), il est indispensable d'évaluer le temps de conservation maximal de celles-ci, au-delà duquel leurs effets thérapeutiques diminuent significativement.

- Choix de la posologie

La dernière étape consiste en le choix de la posologie et donc des dose, voie et fréquence d'administration. La partie II nous a permis de mettre en évidence une grande diversité de pratiques, et de constater l'absence de consensus.

ii. Protocole pour une thérapie acellulaire

Les mêmes considérations que celles pour l'obtention des CSM sont valables. À celles-ci s'ajoutent de nombreux défis pour l'utilisation du sécrétome ou milieu conditionné, puisque sa caractéristique phare, son dynamisme, engendre une probable variabilité en termes de composition. En effet, un point clé est également le moment et la méthode de collection du sécrétome (PHELPS *et al.*, 2018).

De plus, pour le développement de MTI à base de vésicules extracellulaires uniquement, il est d'abord nécessaire de comparer les deux méthodes d'obtention actuellement existantes : ultracentrifugation et précipitation (LOMBARDI *et al.*, 2019).

En ce qui concerne la posologie, certains auteurs mettent en garde sur le fait qu'une administration isolée de sécrétome ne permettrait pas d'obtenir les mêmes effets qu'en injectant les CSM car celles-ci réalisent une production active dans le temps, difficilement reproductible (MADDENS *et al.*, 2018). PHELPS *et al.* (2018) ajoutent à ceci que les molécules du milieu conditionné possèdent, après injection, une faible rétention, et que plusieurs administrations sont nécessaires pour aboutir à un traitement efficace.

On peut également raisonnablement supposer qu'un sécrétome, issu de conditions fixées *in vitro*, sera moins adapté que les molécules directement libérées par les CSM *in vivo*, puisque cette sécrétion est modulée par les paramètres du milieu.

Après avoir choisi un donneur et un protocole d'obtention de CSM, il est indispensable de contrôler la qualité de la solution obtenue.

c) Contrôles qualité des préparations à base de CSM

La thérapie par les CSM est aujourd'hui encore en plein développement, et, bien que les effets secondaires demeurent un sujet « contentieux » (KANG and PARK, 2014), il est important de ne pas s'y heurter, mais plutôt essayer d'adapter au mieux les protocoles, pour s'assurer de l'innocuité de la préparation administrée, notamment *via* la mise en place de procédures d'autocontrôles (LOMBARDI *et al.*, 2019). Il est possible de réaliser des caryotypes (VIEIRA *et al.*, 2010), un criblage par PCR (polymerase chain reaction) des échantillons à la recherche d'éléments microbiens, des contrôles microbiologiques des CSM et réactifs pour écarter de potentielles contaminations (GUERCIO *et al.*, 2013), ainsi que de s'assurer que la réalisation de manipulations standardisées soit effectuée par des techniciens habilités (MADDENS *et al.*, 2018).

En ce qui concerne l'utilisation des vésicules extracellulaires, aucun test fiable ne permet de s'assurer de l'intégrité des membranes, ce qui limite l'évaluation de l'efficacité et l'innocuité d'un potentiel traitement (PHELPS *et al.*, 2018).

L'utilisation des CSM en tant que MTI chez le chien doit encore relever de nombreux défis pratiques, notamment face à l'absence de consensus et méthodes standardisées. À ces différents enjeux s'ajoutent une dimension éthique majeure, puisque l'exploitation d'individus vivants est indispensable.

2) Enjeux éthiques

Le développement d'un MTI à base de CSM, voire la création de banques de CSM, implique la sélection de nombreux donneurs. L'idée d'une méthode de prélèvement nécessitant des manipulations individuelles dans le seul but d'obtenir des CSM paraît peu éthique. De même, l'élevage de chiens destinés uniquement à être donneurs de CSM n'est également pas très moral, surtout si cela doit être réalisé à une échelle industrielle. Deux possibilités s'offrent au laboratoire : l'utilisation de sous-produits, lors de mise bas ou de césarienne programmée, pour les CSM néonatales ou le prélèvement de quelques grammes d'omentum, lors de chirurgies de convenue, pour les CSM adipeuses.

La nécessité de trouver un remplaçant au FBS doit également être une priorité (LOMBARDI *et al.*, 2019).

Aux enjeux pratiques et éthiques s'ajoutent également une dimension réglementaire.

3) Limites réglementaires

Tant que les traitements proposés à base de CSM le sont dans le cadre d'essais cliniques, le vétérinaire engage sa responsabilité professionnelle. Il est indispensable qu'il fasse signer un consentement éclairé au propriétaire de l'animal receveur. Ceci est appliqué par VILLATORO *et al.* (2018) dans son étude incluant des chiens atteints de dermatite atopique, ainsi que par d'autres chercheurs (HALL *et al.*, 2010 ; ENCISO *et al.*, 2020a ; ENCISO *et al.*, 2020b).

D'un point de vue législatif, la commercialisation d'un MTI à base de CSM doit satisfaire le protocole de Nagoya. Celui-ci est appliqué depuis 2014 et concerne notamment l'accès aux ressources génétiques issues d'animaux domestiques. Il a pour but d'assurer un « partage juste et équitable » de l'exploitation de cette ressource (MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION).

En juillet 2016, l'agence européenne du médicament a créé une commission afin de réfléchir aux enjeux et questionnements posés par la mise en place de MTI chez l'animal (EUROPEAN MEDICINES AGENCY'S²). Le compte-rendu semble inaccessible à la consultation en ligne.

Deux ans plus tard, en juin 2018, le premier médicament vétérinaire à base de CSM, destiné à l'espèce équine, est recommandé en vue de son autorisation de mise sur le marché (AMM). Il s'agit de Arti-Cell Forte[®], une solution pour injection intra-articulaire, indiquée dans le traitement de boiterie légère à modérée, associée à une inflammation septique articulaire (EUROPEAN MEDICINES AGENCY'S¹).

L'obtention d'une AMM pour un MTI chez le cheval offre de belles perspectives pour le traitement d'affections dermatologiques du chien, avec la même technologie. Il reste toutefois à nuancer cela, car, pour les industriels pharmaceutiques, le marché des sports équestres est certainement beaucoup plus attractif que celui des animaux de compagnie.

4) Perspectives

La majorité des auteurs s'accordent pour dire qu'il existe un réel besoin de standardiser les méthodes d'exploitation des CSM (LOMBARDI *et al.*, 2019). Les études sont, en effet, trop peu nombreuses (BERGLUND *et al.*, 2017) et difficilement comparables entre elles (MAZINI *et al.*, 2020). Or, cela est indispensable face à des résultats cliniques qui restent parfois variables (PHELPS *et al.*, 2018). Ce n'est qu'en diminuant les facteurs de variabilité liés aux protocoles, qu'il sera possible d'assurer la meilleure innocuité et efficacité de tels traitements (KANG and PARK, 2020).

Une fois que des méthodes standardisées de préparation de MTI seront approuvées par les scientifiques, le rôle des industriels restera essentiel en ce qui concerne la « (pharmaco)-vigilance » (MADDENS *et al.*, 2018) car les CSM demeurent une matière première vivante, pouvant être altérées par des micro-changements de l'environnement (HOOGDUIJN *et al.*, 2016), et pour lesquelles des incertitudes persisteront, notamment quant à leur fonctionnement.

Cette deuxième partie nous a permis d'étudier l'intérêt de l'utilisation des CSM en dermatologie du chien, ainsi que les modalités variables de sa mise en pratique. Les vétérinaires doivent faire face à de nombreux défis, et l'on peut supposer que cela explique, en partie au moins, le faible nombre d'études mises en œuvre.

Les différents essais thérapeutiques réalisés chez le chien, en dermatologie, font l'objet de la partie qui suit.

PARTIE 3 : ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR L'UTILISATION DES CSM À DES FINS THÉRAPEUTIQUES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN

Cette partie a pour objectif de recenser les essais cliniques et études réalisés, chez le chien, utilisant des traitements à base de CSM, dans le cas d'affections cutanées. Pour chaque maladie, des rappels de la pathogenèse, des lésions et des signes cliniques, des éléments diagnostiques, des traitements et de leurs limites seront faits. Une mise en perspective concernant les essais cliniques réalisés chez l'Homme, pouvant être transposés au chien sera réalisée.

Il est très important de noter que l'interprétation et la comparaison des études qui suivent sont très limitées. En effet, celles-ci concernent, généralement, de faibles effectifs, sans groupe contrôle, et utilisent des préparations cellulaires et des protocoles différents. Il reste toutefois intéressant de les étudier, afin d'entrevoir de futures possibilités thérapeutiques.

I) Utilisation des CSM pour le traitement d'affections cutanées chez le chien

Les essais cliniques et études publiés, utilisant des traitements à base de CSM, en dermatologie de chien, concernent la prise en charge de plaies cutanées, de la dermatite atopique, du syndrome hépato-cutané, de fistules périanales et, enfin, du pemphigus foliacé.

1) Les plaies cutanées

a) Les différents types de plaies

Une plaie cutanée est une « solution de continuité de la peau » qui est, donc, par définition, ouverte et délimitée par deux lèvres ou berges. Il existe différents types de plaies et différentes classifications, basées sur les caractéristiques de la plaie, sur l'agent causal ou encore sur le degré de contamination. Chaque plaie est unique et peut être décrite par sa profondeur, sa forme, sa taille, ou sa multiplicité (HÉ, 2006).

i. Classification des plaies en fonction de leurs caractéristiques et de l'agent causal

La coupure, généralement linéaire, est provoquée par un objet tranchant, appliquant une pression en mouvement sur les tissus. Les lèvres de la plaie sont nettes, non dilacérées et les tissus ne sont pas écrasés. La perte de substance est faible (HÉ, 2006). Les plaies chirurgicales sont considérées comme des coupures. En ce qui concerne les coupures traumatiques, chez le chien, celles des coussinets sont fréquentes (CAROZZO, 2017).

Dans le cas d'une abrasion, la plaie est superficielle. Sa profondeur est limitée puisqu'elle ne concerne que l'épiderme et une portion plus ou moins importante du derme. Le traumatisme en cause est un frottement de la peau contre une surface plane, plus ou moins régulière et râpeuse, le bitume, par exemple, dans le cas d'un accident de la voie publique (HÉ, 2006).

La piqûre est provoquée par la pénétration d'un corps étranger pointu et vulnérant, à travers la barrière cutanée. Celui-ci peut rester dans la plaie ou ressortir, du même côté ou d'un autre côté, il y a, alors, perforation. Ces plaies sont souvent d'aspect ponctiforme, de petite taille. Une grande attention doit être portée à leur exploration, puisqu'elles masquent souvent des lésions beaucoup plus importantes en profondeur et sont à l'origine de l'inoculation d'agents pathogènes (HÉ, 2006). On peut prendre l'exemple d'une plaie par une défense de sanglier, au niveau de la cuisse, chez un chien de chasse : l'orifice d'entrée ne fait que quelques centimètres de diamètre, alors que les muscles sous-jacents sont délabrés et largement contaminés.

Une lacération s'apparente à une déchirure cutanée, provoquée par un objet coupant mais émoussé, comme des griffes. Il s'agit d'une plaie aux marges irrégulières, plus ou moins profonde. Dans le cas où les lésions sont plus importantes et où la peau et les tissus associés sont, cette fois, arrachés, on parle d'avulsion. La peau et le tissu sous-cutané sont, alors, partiellement ou complètement désolidarisés des tissus sous-jacents. La portion de tissu détachés, appelée lambeau demeure plus ou moins viable en fonction du degré d'avulsion, qui a des conséquences sur l'intégrité des vaisseaux sanguin (HÉ, 2006).

Lorsque l'effraction cutanée est associée à un écrasement des tissus, on parle de contusion ou de plaie contuse. Cette compression engendre une nécrose tissulaire plus ou moins importante. L'écrasement peut être bref et violent, lors d'un choc par exemple (accident de la voie publique, coup de pied de cheval...), mais il peut, aussi, être moins intense et chronique. Lorsqu'une même zone est soumise à une pression qui dure dans le temps, la plaie nécrotique associée est appelée escarre. On en observe, par exemple, au niveau des reliefs osseux, où le tissu conjonctif sous-cutané est pauvre, lors de décubitus prolongé (HÉ, 2006).

Un dernier type de plaie est la brûlure. Il s'agit d'une « lésion de la peau (...) provoquée par [son] exposition à une chaleur intense ou par [son] contact avec un agent physique ou chimique » (LAROUSSE¹). On classe les brûlures en degrés (1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} degrés), en fonction de la profondeur des lésions. La gestion d'une brûlure entre dans le cadre plus large de la gestion d'un animal brûlé, qui présente des spécificités intrinsèques à ce type d'atteinte (HÉ, 2006).

Enfin, il est intéressant de noter qu'une même plaie peut être complexe et regrouper différents types. Cela est particulièrement vrai dans le cas d'accidents de la voie publique, où la peau peut être à la fois contuse, abrasée, déchirée et lacérée. Un autre exemple est celui des plaies de morsure, dont les multiples composantes sont dues à l'action des différentes dents : les incisives provoquent des coupures, les canines des piqûres, tandis que les molaires vont broyer, lacérer et écraser les tissus (HÉ, 2006).

ii. Classification des plaies en fonction du degré de contamination

Dès lors qu'une effraction de la barrière cutanée s'est produite, il existe une possible contamination microbienne. Suivant l'évolution dans le temps de cette contamination, on distingue différents types de plaies.

Dans les six heures qui suivent le traumatisme, la plaie est dite contaminée mais non infectée. La contamination bactérienne est localisée, les bactéries sont quiescentes ou se multiplient faiblement.

Entre six et douze heures après la rupture de la barrière cutanée, la plaie est dite infectée. Le nombre des bactéries augmente très rapidement, cependant, celles-ci sont cantonnées aux tissus morts, un parage adapté, associé à une désinfection et des sutures, peuvent encore permettre une évolution favorable de la plaie.

Au-delà de douze heures, les bactéries se sont propagées aux tissus adjacents. La plaie est largement infectée et cette infection peut être cliniquement visible (présence de pus) (HÉ, 2006).

Ces données temporelles ne sont pas aussi marquées *in vivo* et servent, avant tout, d'indicateur à l'évaluation des plaies. Leur prise en charge est globale, associée à celle de l'animal traumatisé, dans le but de favoriser un mécanisme physiologique finement orchestré : la cicatrisation cutanée.

b) Le processus de cicatrisation cutanée

Comme évoqué précédemment (partie 1, IV, 2, a), la cicatrisation est un processus complexe, composés de trois étapes clés, faisant intervenir, de manière coordonnée, de nombreux mécanismes et acteurs, mais se superposant dans le temps (MÉDECINE SORBONNE UNIVERSITÉ). La cascade de cicatrisation commence par la phase initiale, pendant laquelle ont lieu l'hémostase et le dépôt d'un caillot de fibrine, suivie de la mise en place d'un environnement cellulaire inflammatoire. Se superpose à la fin de cette phase initiale le début de la phase proliférative, permettant la réparation des tissus, pour enfin donner lieu à une longue étape de remodelage (RIBEIRO *et al.*, 2014).

La phase vasculaire et inflammatoire commence par l'activation des plaquettes qui synthétisent des composants pour la mise en place du caillot de fibrine et permettent la restauration de l'hémostase locale. Le clou plaquettaire, associé à la fibrine, fait office de MEC provisoire pour la migration des cellules en provenance du sang. Dans un même temps, la lésion est le site d'une libération massive, par les plaquettes et les cellules lésées, de cytokines et de facteurs de croissance (tableaux III et IV), ce qui engendre l'attraction des leucocytes. Les premiers à arriver sur le site sont les polynucléaires neutrophiles. Leur rôle est pluriel puisqu'ils débrident les tissus nécrotiques et phagocytent les agents pathogènes, tout en libérant des cytokines pro-inflammatoires, attirant d'autres cellules du système immunitaire, et des facteurs de croissance, activant localement la prolifération des fibroblastes, des kératinocytes et des cellules endothéliales. Quelques jours plus tard, les macrophages migrent au sein du site lésé et poursuivent le débridement et la phagocytose initiés par les neutrophiles. Ils sécrètent, également, des cytokines et des facteurs de croissance (tableaux III et IV) permettant la coordination des étapes suivantes (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Tableau III : Principales cytokines impliquées dans la phase inflammatoire de la cicatrisation

Cytokine	Cellules sécrétrices	Effet biologique
<i>Cytokines pro-inflammatoires</i>		
IFN- γ	Macrophage, neutrophile, lymphocyte T	Activation des macrophages Diminution de la synthèse de collagène Synthèse de MMPs
IL- β 1	Macrophage, neutrophile, kératinocyte	Chimiotactisme des fibroblastes et kératinocytes Synthèse de MMPs
IL-6	Macrophage, neutrophiles, kératinocyte,	Chimiotactisme de macrophages et neutrophiles Prolifération des fibroblastes
IL-8	Macrophage, neutrophile, fibroblaste	Chimiotactisme de macrophages et neutrophiles Synthèse de collagène
TNF- α	Macrophage, neutrophile	Effet cytotoxique de macrophages et neutrophiles Synthèse de MMPs
<i>Cytokines anti-inflammatoires</i>		
IL-4	Lymphocyte T, basophiles, mastocyte	Diminution de TNF- α , IL- β 1 et IL-6 ; prolifération des fibroblastes ; Synthèse de collagène
IL-10	Lymphocyte T, macrophage, kératinocyte	Diminution de TNF- α , IL- β 1 et IL-6 ; inhibition des macrophages et des neutrophiles

(Traduit d'après GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Tableau IV : Facteurs de croissance impliqués dans la cicatrisation

Facteur de croissance	Cellules sécrétrices	Effets biologiques
EGF	Macrophage, kératinocyte	Prolifération des fibroblastes et des kératinocytes
FGF-2	Fibroblaste, cellule endothéliale	Prolifération des fibroblastes et des kératinocytes
IGF-1	Fibroblaste, cellule endothéliale, neutrophile	Prolifération et différenciation des fibroblastes, des kératinocytes et des cellules endothéliales
KGF	Fibroblaste	Prolifération et migration des kératinocytes
PDGF	Macrophage, plaquettes	Activation des neutrophiles et des fibroblastes, prolifération des fibroblastes et des cellules endothéliales
TGF- β 1	Macrophage, plaquettes, fibroblaste, kératinocyte, neutrophile, cellule endothéliale	Angiogenèse, remodelage de la MEC, différenciation des fibroblastes
VEGF	Neutrophile, cellule endothéliale, plaquettes	Angiogenèse

(Traduit d'après GUSHIKEN *et al.*, 2021).

La phase proliférative donne lieu à des migrations et à des proliférations cellulaires intenses, ainsi qu'à la synthèse du tissu de granulation, servant de MEC provisoire, support pour les cellules inflammatoires. Ces dernières sécrètent de nombreux facteurs de croissance (FGF, VEGF, EGF, TGF- β 1), qui stimulent la prolifération des fibroblastes, des kératinocytes et des cellules endothéliales. Les fibroblastes participent à l'élaboration de la MEC provisoire, en synthétisant du collagène de type III, des protéoglycanes et de la fibronectine, qui sert de support aux migrations cellulaires.

La restructuration de la vascularisation, initiée dès la formation de la plaie, a majoritairement lieu lors de la phase proliférative. Le VEGF et les angiopoïétines, présents au sein du site lésionnel, stimulent la prolifération des cellules endothéliales et la réparation des lésions vasculaires. La mise en place d'une vascularisation fonctionnelle est indispensable à la bonne évolution de la plaie, puisqu'elle permet l'apport d'oxygène et de nutriments nécessaires à la migration et à la prolifération des cellules.

La multiplication des cellules, notamment des kératinocytes, permet d'amorcer la ré-épithélialisation, ou épidermisation, afin de fermer la plaie et de restaurer la barrière cutanée. Les kératinocytes, sous l'effet des facteurs de croissance, se différencient et perdent leurs molécules d'adhésion, permettant leur migration des bords de la plaie vers son centre (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Enfin, pendant la phase de remodelage ou de maturation, la plus longue, le tissu de granulation va progressivement diminuer, la MEC provisoire va être remplacée et les cellules qui ont migré au sein de la zone lésée vont mourir par apoptose. La phase de contraction de la plaie commence alors, diminuant considérablement la surface de celle-ci. Les fibroblastes, en se différenciant en myofibroblastes, sont à l'origine de ce phénomène, par leurs nombreuses connexions avec les fibres de collagène. Simultanément, les protéines de la MEC sont dégradées par les MMP (métalloprotéases matricielles), sécrétées par les cellules locales. Enfin, la peau réparée gagne en résistance et élasticité grâce aux fibroblastes qui synthétisent du collagène de type I, de l'élastine et d'autres composés matriciels (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Bien que la cicatrisation soit un processus physiologique, le vétérinaire chirurgien peut intervenir de différentes manières pour favoriser son déroulement, le plus rapidement et efficacement possible.

c) Les différents types de cicatrisation et leur prise en charge

La prise en charge des plaies dépend de nombreux facteurs, dont la durée entre l'effraction cutanée et l'intervention, les conditions de formation de la plaie, ainsi que des caractéristiques propres à la plaie (type de plaie, lieu, étendue, etc.).

i. Cicatrisation par première intention

La cicatrisation peut se faire par première intention. Cette évolution n'est pas naturelle puisqu'elle requiert la mise en place de sutures par un chirurgien. Ce mode de cicatrisation n'est envisageable que dans des conditions bien particulières, qui doivent impérativement être toutes réunies. La plaie doit être aseptique, les tissus dévitalisés doivent être éliminés, la perte de substance ne doit pas être trop importante, l'hémostase doit être parfaite et les bords de la plaie doivent s'affronter bord à bord, sans tension et rester immobiles. La cicatrisation est, dans ce cas, très rapide (une douzaine de jours) puisqu'il y a très peu de vide à combler. On obtient, généralement, une cicatrice très peu visible (CAROZZO, 2017).

ii. Cicatrisation par seconde intention

Si une, ou plusieurs, de ces conditions ne sont pas respectées (plaie souillée, berges trop écartées ou mobiles, tissus dévitalisés lors de morsure, par exemple, présence de corps étranger, etc.), la cicatrisation se fait par seconde intention. Dans ce cas, la phase inflammatoire de détersion est longue et est suivie par une phase de suppuration, permettant d'éliminer les éventuels corps étrangers ou bactéries. Le tissu de granulation est, ensuite, largement visible puisque le lit de la plaie est vaste. La contraction de la plaie démarre entre le 5^{ème} et le 9^{ème} jour, chez le chien, et la progression de la ré-épithélialisation, centripète, est visible sous la forme du liseré épidermique. On obtient une zone glabre qui sera sujette à une rétraction secondaire, pendant plusieurs mois. La cicatrice est, généralement, peu esthétique et peu fonctionnelle car faiblement élastique (CAROZZO, 2017).

iii. Cicatrisation sous-croûte

Littéralement, il s'agit d'une cicatrisation qui se déroule sous une croûte. Elle concerne les plaies peu profondes, faiblement contaminées, avec une perte de substance limitée. La croûte, d'abord adhérente, fait office de pansement biologique, formée par les sérosités issues de la plaie. Elle a une fonction naturellement asséchante. Ensuite, la croûte se détache progressivement par ses bords, à mesure que l'épithélialisation progresse. Une fois l'épithélium entièrement reconstitué, la croûte est éliminée. Ce processus de cicatrisation est assez rare chez le chien (CAROZZO, 2017).

Les deux modes précédents de cicatrisation peuvent être associés. Lorsqu'un corps étranger est présent, la phase de suppuration a pour effet de détacher la croûte et la plaie cicatrise, alors, par seconde intention (CAROZZO, 2017).

iv. Cicatrisation par dessiccation

Lors de cicatrisation par dessiccation, ou cicatrisation intermédiaire, le vétérinaire laisse évoluer la plaie par bourgeonnement, tout en assurant une absorption continue des sécrétions. Il s'agit d'une cicatrisation par seconde intention, associée à un pansement protecteur absorbant (CAROZZO, 2017).

v. Cicatrisation par troisième intention

Enfin, la cicatrisation par troisième intention, aussi appelée cicatrisation par première intention retardée, consiste en un parage de la plaie, une fois que le tissu de granulation est complètement formé, et que l'épithélialisation commence. La plaie est alors bien vascularisée, et l'asepsie correcte. Le vétérinaire chirurgien réalise des sutures pour fermer la plaie, comme lors de cicatrisation par première intention. La cicatrisation est ainsi plus rapide et demande moins de soins que par seconde intention (CAROZZO, 2017).

vi. Traitements conventionnels des plaies

Le vétérinaire peut intervenir en tant que chirurgien pour la prise en charge des plaies, pour le parage ou la mise en place de sutures, mais il peut aussi réaliser des pansements. Le vétérinaire joue, également, son rôle de médecin, lors de la prescription de traitements médicamenteux.

- Traitements chirurgicaux

Les options chirurgicales sont multiples. La greffe de peau est la plus commune chez l'Homme, elle est moins souvent employée chez le chien, chez lequel on pratique plutôt des débridements chirurgicaux larges, afin d'éliminer les éventuels tissus dévitalisés. Des lambeaux cutanés (« flap ») peuvent également être pratiqués (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

- Traitements médicamenteux systémiques

En ce qui concerne les traitements employés par voie générale, les antibiotiques sont quasiment systématiques dans le cas de plaie chez le chien, pour prévenir le risque d'infection. Le choix de l'antibiotique dépend des caractéristiques de la plaie et des germes qu'elle est le plus susceptible d'héberger. On n'emploie pas, en effet, les mêmes molécules s'il s'agit d'une brûlure, d'une plaie chirurgicale ou d'une morsure de chien ou de chat (HÉ, 2006).

Parmi les médicaments les plus fréquemment administrés, figurent, également, les anti-inflammatoires.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont utilisés pour leurs propriétés antalgiques. Si certains auteurs énoncent qu'ils ont peu ou pas d'effet sur la cicatrisation (HÉ, 2006), d'autres dénoncent un impact négatif, freinant la prolifération des fibroblastes, diminuant la rétraction de la plaie et retardant l'angiogenèse (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, ou glucocorticoïdes, sont fortement déconseillés car ils altèrent la cicatrisation, notamment lorsqu'ils sont administrés à forte dose (>5 mg/kg) ou de façon prolongée. Leur impact est d'autant plus important qu'ils sont administrés lors de la phase inflammatoire, la cicatrisation étant significativement retardée. Ils agissent sur les phases précoces de la cicatrisation (inhibition du dépôt de fibrine, vasodilatation, afflux des phagocytes), mais possèdent également une influence néfaste sur l'angiogenèse, le nombre et la prolifération des fibroblastes, la production de collagène, le nombre de cellules épithéliales, ainsi que le remodelage de la plaie (HÉ, 2006).

- Traitements médicamenteux topiques

Les molécules administrées par voie systémique peuvent être utilisées par voie topique ou locale. En ce qui concerne les antibiotiques, la voie locale limite le risque de résistance bactérienne puisqu'elle permet d'obtenir des concentrations localement très élevées. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens topiques permettent d'améliorer la cicatrisation, tout en diminuant la douleur au point d'application (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

D'autres molécules peuvent être utilisées, tels que des antiseptiques (chlorhexidine, povidone iodée). Le but est de diminuer la charge bactérienne. Leur utilisation est à préférer diluée, car il s'agit de produits très irritants, pouvant endommager les tissus et ainsi compromettre la cicatrisation (HÉ, 2006).

Le Dexpanthénol est un analogue de l'acide pantothénique, disponible en émulsion ou pommade. Il favorise la cicatrisation en influençant l'activité des fibroblastes, la formation du tissu de granulation, et accélère l'épidermisation en modifiant l'activité des kératinocytes. Pour un effet optimal, son application doit avoir lieu lors de la phase proliférative (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Des préparations topiques peuvent également être employées afin de réaliser une détersion enzymatique de la plaie, comme des pommades à base de collagénase, une enzyme bactérienne dérivée de *Clostridium histolyticum* (GUSHIKEN *et al.*, 2021). La collagénase serait capable de digérer sélectivement les fibres de collagène altérées, détachant ainsi les débris nécrotiques associés en surface (HÉ, 2006).

De nombreuses autres pommades ou émulsions sont également disponibles. On dénombre des produits dits « naturels », à base de miel, d'*Aloe vera*, de chitine, de levure de bière (HÉ, 2006) ou de plantes et d'huiles essentielles. Le cuivre est, également, largement utilisé en tant que cofacteur intervenant dans la synthèse du collagène (HÉ, 2006).

Ces différents topiques peuvent, par exemple, être appliqués seuls ou sous des pansements.

- Pansements

Les pansements peuvent avoir différentes fonctions : protéger la plaie des agents extérieurs (agents pathogènes, traumatismes mécaniques), favoriser le débridement, réguler l'équilibre entre humidité et exsudation, apporter des substances diverses, etc. Ils diminuent les risques d'infection, et favorisent le processus de cicatrisation. Après avoir longtemps utilisé des pansements permettant d'assécher la plaie, la tendance est autre aujourd'hui. Un pansement doit en effet satisfaire les critères suivants : protéger la plaie, éliminer les

exsudats excessifs, permettre les échanges gazeux, et fournir un environnement humide aux tissus (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Il existe une grande variété de couches possibles pour la réalisation d'un pansement, le choix se fait en fonction des caractéristiques de la plaie, sa localisation, mais également de son avancée dans le processus de cicatrisation. D'abord, afin de favoriser mécaniquement la détersion, des pansements secs absorbants ou humides absorbants (« wet-to-dry ») ou encore humides réhydratants peuvent être utilisés. Ensuite, en début de granulation, le pansement doit être absorbant car la plaie produit encore des exsudats, mais également semi-occlusif, afin de conserver un milieu humide. Les pansements gras sont largement utilisés lors de cette phase de la cicatrisation, car cela limite l'adhérence du pansement à la plaie, et notamment au tissu de granulation qui doit être préservé. Enfin, lors de l'épithélialisation, le pansement doit demeurer non-adhérent, mais les corps gras à base de vaseline ou paraffine sont à écarter car ils représentent un frein à la mise en place du nouvel épithélium, très fragile (HÉ, 2006).

- Traitements innovants

Les moyens dont disposent le vétérinaire pour le traitement des plaies sont en constante évolution. Le laser est, par exemple, aujourd'hui, de plus en plus utilisé, pour stimuler la phase de granulation, ou gérer des plaies chroniques (HÉ, 2006).

Des substituts de peau, plus précisément d'épiderme, sont également en plein développement en médecine humaine. On décrit par exemple des supports tridimensionnels, conçus pour mimer la MEC et permettre l'adhésion puis multiplication, migration et différenciation des cellules présentes. Ces supports peuvent être à base de polymères tels qu'alginate, collagène, élastine, acide hyaluronique, etc. Certains substituts de peau peuvent également être enrichis en facteurs de croissance, favorisant ainsi la prolifération et la migration des cellules (fibroblastes, cellules endothéliales, kératinocytes). D'autres substituts de peau sont composés de cellules, favorisant le contrôle des différents mécanismes de cicatrisation (kératinocytes, fibroblastes, macrophages, etc.) (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Ces différents types de traitements (chirurgical, médicamenteux...) peuvent être utilisés conjointement, afin de permettre l'enchaînement parfait de toutes les étapes de la cicatrisation. Cependant, certaines plaies, vicieuses, ne guérissent pas, malgré des soins adaptés. La plaie devient alors chronique.

d) Plaie aiguë *versus* plaie chronique

La Haute Autorité de Santé définit une plaie chronique comme une « plaie dont le délai de cicatrisation est allongé ». Elle fixe ce délai d'évolution à 4 à 6 semaines. À l'inverse, une plaie est considérée comme aiguë en l'absence d'élément pouvant retarder la cicatrisation.

Il est évident qu'une plaie est d'abord aiguë avant de devenir chronique. La cicatrisation étant un processus nécessitant des interactions parfaites et coordonnées des nombreuses cellules et molécules, toute perturbation de celles-ci peut engendrer des erreurs dans son déroulement et aboutir à un défaut de cicatrisation (GUSHIKEN *et al.*, 2021). Une brèche d'importance variable persiste alors, ce qui diminue considérablement la qualité de vie, pouvant parfois être très invalidante, voire conduire à la mort (OWCZARCZYK-SACZONEK *et al.*, 2017).

i. Facteurs exerçant une influence négative sur la cicatrisation

De nombreux facteurs peuvent être délétères pour la cicatrisation. On dénombre l'hypoxie (GUSHIKEN *et al.*, 2021) et toute altération vasculaire (ischémie, hématome, collection liquidienne, etc.) (HÉ, 2006). Tout phénomène septique retardera également la cicatrisation. Des carences nutritionnelles empêchent le bon déroulement du processus, de même que toute maladie chronique (diabète, obésité). Certains traitements médicamenteux longs freinent la guérison, comme les anti-inflammatoires stéroïdiens ou les molécules de chimiothérapie (HÉ, 2006 ; GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Toute maladie cutanée peut également limiter la cicatrisation car la peau présente une fragilité locale antérieure à la formation de la plaie, par exemple un déséquilibre de la flore, la présence de parasites, un état séborrhéique... Tout prurit associé sera nocif pour la cicatrisation (HÉ, 2006). La peau peut également être anormale à cause d'une maladie génétique ou héréditaire telle que, par exemple, le syndrome d'Ehlers-Danlos, présente chez l'Homme (GUSHIKEN *et al.*, 2021) et le chien. La peau se déchire facilement en raison d'une anomalie du collagène de type I. La peau est très mobile et sujette à des déhiscences de sutures fréquentes (HÉ, 2006). Les épidermolyses bulleuses forment un groupe de maladies cutanées génétiques, existant chez l'Homme et le chien, caractérisées par une fragilité de la jonction dermo-épidermique, conduisant à la séparation de ces deux couches cutanées et prédisposant les individus atteints aux plaies chroniques (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

ii. Mécanismes associés à un défaut de cicatrisation

La cicatrisation peut être pathologique de différentes manières.

Un état inflammatoire chronique peut s'installer, causé par un déséquilibre entre les médiateurs pro-inflammatoires et anti-inflammatoires, provoquant un recrutement excessif des leucocytes, ainsi qu'une concentration démesurée de cytokines inflammatoires. Ces

dernières stimulent les MMPs et autres protéases, provoquant une destruction de la MEC. Les cellules inflammatoires libèrent également des espèces réactives de l'oxygène, provoquant d'importants dommages cellulaires, ainsi que la destruction des facteurs de croissance.

Il peut également exister un déséquilibre entre les facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques, retardant la néovascularisation, l'afflux sanguin et les mécanismes des phases proliférative et de remodelage qui en dépendent.

L'inflammation chronique, associée à une vascularisation réduite, va également différer l'épithélialisation, en induisant un état hyper prolifératif chez les kératinocytes des marges de la plaie.

Enfin, il arrive également que les cellules du lit de la plaie synthétisent une quantité excessive de MMPs et protéases, provoquant une dégradation de la MEC, empêchant alors la migration des cellules, nécessaires au remodelage de la plaie (GUSHIKEN *et al.*, 2021).

Cliniquement, malgré les avancées faites dans la compréhension des mécanismes de cicatrisation, et les nombreuses technologies à notre disposition, une plaie sur deux ne guérit pas (taux d'échec de 50%) (RIBEIRO *et al.*, 2014). De nouveaux outils sont alors constamment recherchés et les CSM en font partie, pour leur faible immunogénicité, et leur propriétés immunomodulatrices, ainsi que pour les facteurs solubles qu'elles libèrent.

e) Études rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement de plaies chez le chien

i. Plaies induites chirurgicalement

La littérature rapporte deux études décrivant l'utilisation de CSM ou dérivés, chez le chien, pour le traitement de plaies cutanées volontairement induites (à l'aide de trépan à biopsie). Il s'agit de modèles de plaies de pleine épaisseur, circulaires, respectivement de six (KIM *et al.*, 2013) et 20 mm de diamètre (EL-TOOKHY *et al.*, 2017). Les études sont toutes deux contrôlées, et testent les effets de CSM allogéniques issues de moelle osseuse (KIM *et al.*, 2013) ou de leur sécrétome (EL-TOOKHY *et al.*, 2017). Leur administration est réalisée *via* des injections locales dans chaque plaie, par voie intradermique dans une étude, par voie sous-cutanée dans l'autre. Ces deux études mettent en place les mêmes méthodes d'évaluation : mesures de la largeur de la plaie et examens histopathologiques et immunohistochimiques.

Le traitement de KIM *et al.* (2013) (figure 11) permet une fermeture accélérée des plaies. Elle met également en évidence une augmentation de la synthèse de collagène. L'analyse immunohistochimique pour les plaies traitées avec une dose de 10^7 CSM montre une mise en place plus précoce de l'angiogenèse (dès le jour 7), attestée par le nombre de vaisseaux positifs pour l' α -SMA (α -smooth muscle actin ou actine alpha des muscles lisses). Il n'existe, cependant, plus de différence de vascularisation au jour 14, entre les deux groupes de plaies (traitées et contrôle). Cette analyse permet, également, de montrer un effet positif du traitement sur la prolifération cellulaire, illustrée par le nombre supérieur de noyaux cellulaires positifs au PCNA (proliferating cell nuclear antigen). Enfin, l'analyse par RT-PCR des profils de cytokines et facteurs de croissance a permis de montrer un probable effet dépresseur du traitement sur l'inflammation locale, attestée par une diminution des concentrations d'IL-2 et de d'IFN- γ . Bien que ce protocole fournisse des résultats encourageants, il n'a pas permis de démontrer une concentration optimale efficace, puisqu'aucune différence significative des résultats n'est observée entre les différentes doses de CSM utilisées.

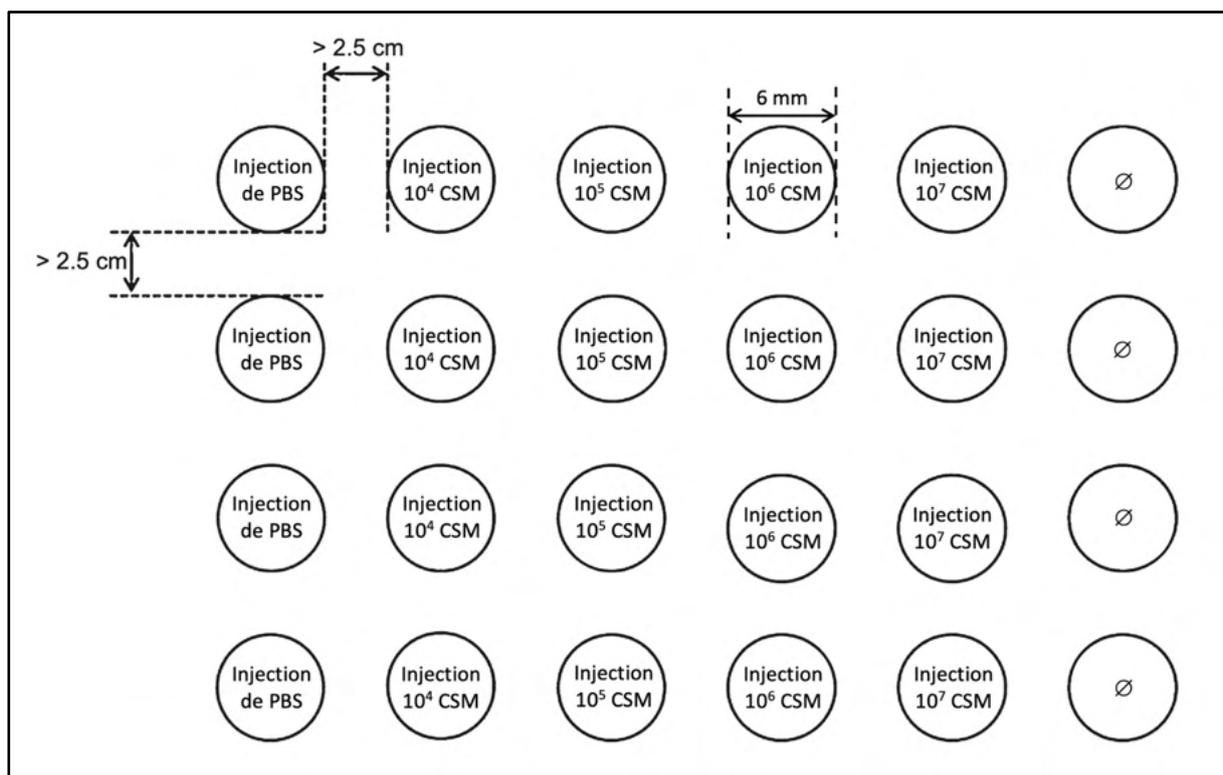


Figure 11 : Représentation schématique des plaies créées et protocole thérapeutique associé, pour l'étude de KIM *et al.* (2013)

Les injections sont réalisées par voie intradermique, 1/3 de la dose dans le lit de la plaie, 2/3 de la dose radialement autour de la plaie.

Légende : PBS : tampon phosphate salin ; CSM : cellules souches mésenchymateuses ; Ø : aucun traitement. (D'après KIM *et al.*, 2013).

L'utilisation des vésicules sécrétées par les CSM semblent également améliorer la cicatrisation de plaies créées à but expérimental (EL-TOOKHY *et al.*, 2017). Cette étude est d'autant plus intéressante que les plaies sont plus de deux fois plus étendues. Cependant, tout comme dans la première étude (KIM *et al.*, 2013), la dose d'exosomes employée, et donc la dose de CSM, est arbitrairement fixée.

Ces deux études (tableau V), conduisant à des résultats plutôt similaires, sont difficilement comparables du fait de méthodes et produits différents. Il est cependant intéressant de constater que les voies intradermique et sous-cutanée semblent toutes les deux efficaces, la voie sous-cutanée étant, sans doute, plus facile à mettre en œuvre en pratique, et moins douloureuse.

Tableau V : Études utilisant des CSM ou dérivés pour le traitement de plaies induites chirurgicalement chez le chien

Pathologie (Réf.)	Type D'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets 2 ^{ndaires}
Plaies de 6 mm de diamètre induites chirurgicalement (Kim <i>et al.</i> , 2013)	Deux observateurs aveugles Contrôlée	10 chiens, 24 plaies par chien. CSM (n=160), placebo (PBS, n=40), Ø (contrôle, n=40)	CSM-MO (aspiration au niveau crête iliaque)	Allogéniques ; injections intradermiques : 1/3 de la dose dans le lit de la plaie, 2/3 radialement autour de la plaie ; 10 ⁴ CSM (n=40) ou 10 ⁵ CSM (n=40) ou 10 ⁷ CSM (n=40)	35 jours	Taux d'épithélialisation (écart entre bords épithéliaux) à J7 ; Histopathologie, immunohistochimie, RT-PCR (biopsies cutanées à J7, 14, 21, 35)	Fermeture de la plaie plus rapide, augmentation de la synthèse de collagène, de la prolifération cellulaire et de l'angiogenèse. Suppression de l'inflammation locale. Pas de différence significative entre les concentrations des CSM.	Non
Plaies de 20 mm de diamètre induites chirurgicalement (El-Tookhy <i>et al.</i> , 2017)	Ouverte Contrôlée	6 chiens, 6 plaies par chien. Vésicules extracellulaires dérivées de CSM (n=9), sérum physiologique (contrôle, n=9)	Vésicules extracellulaires dérivées de CSM-MO (aspiration au niveau crête iliaque)	Allogéniques ; injections sous-cutanées en 4 points autour de la plaie ; dose d'exosomes par plaie = quantité d'exosomes produite par 2x10 ⁶ CSM	14 jours	Examens cliniques (taille plaie), histopathologiques et immunohistochimiques (J3, 7, 14)	Pourcentage de réduction de la taille de la plaie significativement augmenté par le traitement, augmentation du dépôt de collagène, accélération de la formation et de la maturation des vaisseaux sanguins	Non

Légende : n : nombre ; CSM-MO : CSM issues de moelle osseuse ; J : jour

ii. Plaies traumatiques récentes : exemple d'un cas de morsures de chien

Le cas clinique suivant (ENCISO *et al.*, 2020a) est celui d'un jeune chien de 2 ans, présentant des morsures infligées par un autre chien, à l'origine de plaies pénétrant le tissu sous-cutané, sans atteinte du muscle. Moins de douze heures plus tard, il est présenté en consultation et des plaies de petite taille sont identifiées au dos (2 plaies) et au cou (1 plaie), tandis qu'une plus grande plaie, non incluse dans l'étude, se situe à la poitrine.

Le traitement comprend d'abord des antibiotiques administrés par voie systémique (amoxicilline trihydrate 15 mg/kg IM q48h, enrofloxacin 5 mg/kg PO q24h) pendant 8 jours, ainsi que des anti-inflammatoires non stéroïdiens (meloxicam 0,2 puis 0,1 mg/kg IM q24h, 8 jours). Trois jours après le traumatisme, la thérapie cellulaire est mise en place. Les deux plaies du dos sont alors traitées avec une injection unique de CSM-TA, par voie intradermique, à équidistance des deux plaies. La plaie du cou, sensiblement identique, est, quant à elle, traitée conventionnellement et fait office de contrôle (figure 12).

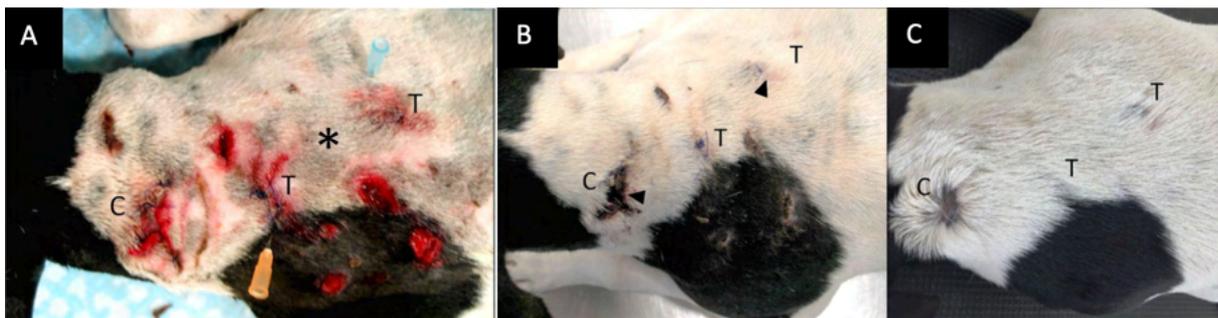


Figure 12 : Processus de cicatrisation des plaies traitées avec les CSM-TA et traitement conventionnel, protocole de ENCISO *et al.* (2020a)

*A : plaies du cou (c : contrôle) et plaies du dos (T : traitées avec les CSM-TA) au jour 1. L'injection de CSM-TA est réalisée équidistante des deux plaies du dos (astérisque). B : jour 7 : réalisation des biopsies au niveau de pointes de flèches. Meilleure cicatrisation des plaies traitées que de la plaie contrôle. C : apparence des plaies au jour 25 (source : ENCISO *et al.*, 2020a).*

L'évolution décrite est alors favorable pour les trois plaies étudiées, puisqu'une cicatrisation totale est observée sous 25 jours. ENCISO *et al.* (2020a) montrent que le processus de réparation est significativement plus précoce lors de traitement avec les CSM, par rapport au contrôle. La qualité de la nouvelle peau est également meilleure, puisque 25 jours après le traitement, elle est sensiblement normale et présente des poils, alors que la plaie-contrôle demeure glabre (tableau VI).

Tableau VI : Cas clinique utilisant des CSM pour le traitement de plaies de morsures récentes chez un chien

Pathologie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets 2 ^{ndaires}
Plaies de morsures (Enciso <i>et al.</i> , 2020a)	Ouverte Contrôlée	1 chien avec 3 plaies : CSM (n=2), pommade avec néomycine et extrait de <i>Centella asiatica</i> (contrôle, n=1)	CSM-TA (5g gras péritonéal provenant de l'omentum prélevés lors stérilisation de chiennes (Enciso <i>et al.</i> , 2018))	Allogéniques ; 1 injection intra- dermique, équidistante (\cong 3 cm) des 2 plaies traitées avec CSM ; 10 ⁷ CSM	25 jours	Examens photographiques à J7 et J25 ; histopathologie (biopsies cutanées à J7)	Guérison plus tôt et plus rapide pour les plaies traitées (dès 7 jours). Meilleure épithélialisation, infiltrat inflammatoire réduit.	Non

Légende : n : nombre ; CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; J : jour

Bien qu'il ne s'agisse que d'un cas clinique, la mise en place d'une thérapie à base de CSM semble avoir un impact positif sur la cicatrisation de plaies de morsures aiguës (moins de 4-6 semaines d'évolution).

iii. Plaies chroniques

D'autres cas cliniques rapportent l'utilisation de CSM pour la cicatrisation de larges plaies chroniques. Les lésions des quatre chiens suivants ont en effet mis plus de six semaines à se fermer.

Le premier cas est celui d'un chien diabétique de 11 ans, présenté avec une large plaie de morsure au niveau du membre pelvien gauche, concernant la cuisse, le tibia et les doigts, datant d'il y a 4 jours (NANJAPPA *et al.*, 2014). Le second chien est âgé de 2 ans et présente une plaie (23 cm²) par brûlure chimique, partiellement fermée, au niveau des parois thoracique et abdominale, n'ayant montré aucun signe d'évolution depuis 16 mois. Le troisième chien, âgé de 5 ans, présente une lésion similaire (30 cm²), d'origine inconnue, en région sacro-iliaque, et stable depuis 24 mois. Les lésions des chiens n°2 et n°3 sont toutes deux entourées d'une large zone fibreuse exubérante (RIBEIRO *et al.*, 2014). Le dernier chien (n°4, âge 1 an) présente, en plus de lésions arthrosquelettiques, une plaie d'avulsion de 10 dm² au niveau de la cuisse et de la base de la queue, causées par un choc avec un train, datant de moins de douze heures (ZUBIN *et al.*, 2015).

Les quatre animaux reçoivent des antibiotiques, à doses et molécules variables. Cependant, seuls certains reçoivent des anti-inflammatoires. Le chien n°1 (NANJAPPA *et al.*, 2014) reçoit des anti-inflammatoires stéroïdiens (non précisé) et non stéroïdiens (meloxicam 0,5 mg/kg IM une fois par jour). Les chiens n°2 et 3 (RIBEIRO *et al.*, 2014) reçoivent uniquement une injection de méthylprednisolone (1 mg/kg IV) au moment de l'injection des CSM, tandis que le chien n°4 (ZUBIN *et al.*, 2015) reçoit du carprofène (2 mg/kg PO une fois par jour) pendant un mois.

Pour le traitement de ces plaies, le choix d'un protocole à base de CSM a été fait pour des raisons proches. Pour le chien n°1, il s'agit d'un traitement s'ajoutant à un lambeau cutané, permettant de traiter la zone non recouverte, devant cicatriser par seconde intention. Il est instauré 12 jours après la greffe partielle de peau, et 23 jours après la création de la lésion (NANJAPPA *et al.*, 2014).

Pour les chiens n°2 et 3, les traitements conventionnels étant infructueux (pommades cicatrisantes, bandages avec hydrogel, bandage avec sucre) et les plaies non évolutives pendant respectivement 16 et 24 mois, les CSM sont mises en places (RIBEIRO *et al.*, 2014). Enfin, pour le chien n°4, la mauvaise évolution de la cicatrisation par seconde intention (nécrose) et l'abandon du lambeau cutané initialement prévu, ont justifié l'utilisation de

CSM, en association avec du PRP (plasma riche en plaquettes), pour le traitement de cette vaste plaie, cinq jours après l'accident (ZUBIN *et al.*, 2015).

Les trois protocoles mis en place, résumés dans le tableau VII, diffèrent en tous points, mais aboutissent à un résultat commun : la cicatrisation complète de plaies vastes, complexes, et parfois réfractaires à tout traitement, sans effet secondaire (annexes 1, 2, 3 et 4).

Il est intéressant de constater que les CSM semblent avoir un effet positif sur la cicatrisation de plaies chroniques, quelles que soient leur origine (moelle osseuse, tissu adipeux, cordon ombilical). De plus, les trois types de transplantation semblent efficaces (allogénique, xénogénique, autologue). Différentes voies d'administration semblent également envisageables, notamment l'application topique par pulvérisation, qui pourraient permettre aux propriétaires de chien de réaliser les soins eux-mêmes, et ainsi diminuer les visites chez le vétérinaire, et donc diminuer les frais.

Ces résultats restent toutefois à interpréter avec précaution face à la population d'étude très réduite. De plus, des traitements adjuvants sont parfois utilisés en parallèle des CSM. RIBEIRO *et al.* (2014) appliquent, par exemple pendant les 15 premiers jours, sur la plaie, une membrane hydrogel à base de PVA (alcool polyvinylique). ZUBIN *et al.* (2015) réalisent conjointement des applications de PRP, soit par pulvérisation, soit par injection dans la marge de la plaie, tous les 4 à 6 jours. Face à l'absence de groupe contrôle, il est d'autant plus difficile d'identifier le rôle joué par les CSM dans le processus de cicatrisation.

Il serait également intéressant de comparer, sur de plus grandes cohortes, les effets des CSM en fonction de leur source, de leur voie d'application ou de leur dose.

Ces cas cliniques n'en restent pas moins intéressants, puisqu'ils ouvrent des perspectives d'applications variées des CSM pour le traitement des plaies. L'étude de l'utilisation de CSM peut également être suggérée, en tant que traitement adjuvant, dans le cas de greffe de peau chez le chien, qui, dans le cas du chien n°1 présente une survie de 100% (NANJAPPA *et al.*, 2014).

Tableau VII : Études utilisant des CSM pour le traitement de plaies chroniques chez le chien

Pathologie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets secondaires
Plaie de morsure (Nanjappa <i>et al.</i> , 2014)	Ouverte Non-contrôlée	Lambeau épigastrique superficiel caudal à motif axial + CSM (n=1)	CSM-MO (non précisé)	Allogéniques ; injections (voie non précisée) le long marges plaie ; 5x10 ⁶ CSM, deux fois à 12 jours d'intervalle	50 jours	Examen clinique	Début d'épithélialisation dès 4 jours après thérapie cellulaire. Cicatrisation totale en 50 jours	Non
Plaies chroniques (Ribeiro <i>et al.</i> , 2014)	Ouverte Non-contrôlée	Membrane hydrogel PVA + hCSM-GW (n=2)	hCSM-GW commerciales (PromoCell)	Xénogéniques ; injections intradermiques au niveau marges de la plaie ; 10 ⁵ CSM / cm ² de lésion	2 mois	Examen clinique ; histopathologie (biopsies cutanées pré- (2/2) et post-cicatrisation (1/2))	Épithélialisation complète en 2 mois (2/2)	Non
Plaie traumatique (Zubin <i>et al.</i> , 2015)	Ouverte Non-contrôlée	CSM + PRP (n=1)	CSM-TA (3g prélevés le long de la plaie)	Autologues ; Pulvérisation à J11, 17, 23,31,41 ; dose non précisée	16 mois	Mesures de l'amplitude de la plaie	Fermeture complète des marges de la plaie 3 mois après le début de la thérapie	Non

Légende : n : nombre ; hCSM-GW : CSM humaines issues de Gelée de Wharton ; CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; J : jour ; PRP : plasma riche en plaquettes ; PVA : alcool polyvinylique.

iv. Comparaison de l'utilisation des CSM dans le cas de plaies aiguës et de plaies chroniques

Après un essai préclinique réalisé sur un seul chien présentant plusieurs plaies (ENCISO *et al.*, 2020a ; tableau VI), la même équipe a entrepris une étude plus vaste, contrôlée, regroupant 24 chiens (ENCISO *et al.*, 2020b). Les chiens sélectionnés ont entre un et 10 ans, appartiennent à différentes races, et présentent des plaies aiguës ou chroniques. Tous présentent des plaies de pleine épaisseur, c'est-à-dire impliquant le tissu sous-cutané, sans lésion des muscles sous-jacents. Les causes des plaies sont très variées (accident domestique, sportif...), seules les plaies de morsure sont exclues.

Tous les patients reçoivent un traitement à base d'antibiotiques par voie systémique, pendant huit jours (Amoxicilline trihydrate 15 mg/kg IM q48h, enrofloxacin 5 mg/kg PO q24h). Aucun traitement anti-inflammatoire n'est administré. Les 24 chiens sont ensuite divisés en 4 groupes, comme illustré dans le tableau VIII. On distingue les plaies aiguës (groupes I et II), des plaies chroniques évoluant respectivement depuis un à deux mois (groupe III) et deux à trois mois (groupe IV).

Pour chaque catégorie de plaie (aiguë ou chronique), un groupe sert de contrôle et est traité de manière conventionnelle (groupes I et III), et l'autre groupe reçoit un traitement à base de CSM allogéniques issues de tissu adipeux, par injections intradermiques autour de la plaie (groupes II et IV). Le traitement dit conventionnel appliqué aux groupes I et III est une pommade à base de néomycine et d'extrait de *Centella asiatica*, une plante utilisée en médecine chinoise. La thérapie cellulaire est commencée trois jours après le début du traitement antibiotiques. Elle consiste en deux administrations à une semaine d'intervalle, de CSM-TA allogéniques, grâce à de multiples injections par voie intradermique, dans une zone plus ou moins étendue autour de la plaie. La première application est réalisée autour de la plaie, sur une surface inférieure à 10 cm², avec une dose totale de 30 millions de CSM. La dose est ensuite doublée, une semaine plus tard, pour une surface supérieure à 10 cm².

L'analyse des résultats montre une surface cicatrisée plus importante pour les plaies traitées avec les CSM (groupes II et IV) que pour celles contrôles. Celle-ci est également plus grande à J (jour) 7 et J30 pour les plaies aiguës (groupe II), que pour les plaies chroniques (groupe II). Les valeurs sont ensuite statistiquement identiques à J90. Cela signifie que l'utilisation de CSM a un impact positif sur la cicatrisation et notamment l'épithélialisation de plaies chroniques et aiguës et que cet effet est plus précoce dans le cas des plaies aiguës. Cette constatation est particulièrement intéressante pour les plaies chroniques, puisque celles-ci ne présentent aucune évolution avec les traitements conventionnels (groupe III). Afin de valider ces résultats avec plus de certitude, il aurait été intéressant d'avoir également des groupes témoins, chez lesquels étaient réalisées des injections de PBS uniquement, utilisé comme diluant des CSM.

Tableau VIII : Étude comparative contrôlée pour l'utilisation de CSM pour le traitement de plaies aiguës et chroniques chez le chien

Pathologie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets secondaires
Plaies cutanées aiguës et chroniques (Enciso et al., 2020b)	Ouvverte	Groupe I Plaies aiguës : traitement conventionnel (n=6)	CSM-TA (5g gras péritonéal provenant de l'omentum prélevés lors stérilisation de chiennes (Enciso et al., 2018))	Aucun : Groupe contrôle	3 mois	Examens photographiques à J7, J30, J90 pour évaluer la ré-épithélialisation ; histopathologie (biopsies cutanées à J7) ; mesure de la surface de la plaie ;	Surface cicatrisée en fonction du temps : augmentée. Épithélialisation : accélérée à J7. Obtention d'une peau histologiquement normale à J7, poilue à J90	Non
		Allogéniques ; injections ID autour plaie ; J3 : 3x10 ⁷ CSM / cm ² ; J10 : 6x10 ⁷ CSM sur surface > 10 cm ²		Contrôle : cicatrice normale, peau glabre				
	Contrôlée	Groupe III Plaies chroniques : traitement conventionnel (n=4)		Aucun : Groupe contrôle		Examens photographiques à J7, J30, J90 pour évaluer la ré-épithélialisation ; mesure de la surface de la plaie	Surface cicatrisée en fonction du temps : augmentée. Épithélialisation : accélérée à J7. Présence de poils à J90.	
		Groupe IV Plaies chroniques : CSM-TA (n=4)		Allogéniques ; injections ID autour plaie ; J3 : 3x10 ⁷ CSM sur surface =< 10 cm ² ; J10 : 6x10 ⁷ CSM sur surface > 10 cm ²				

Légende : n : nombre ; CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; ID : intradermique ; J : jour.

La réalisation de biopsies pour les groupes I et II (plaies aiguës) a permis de montrer l'obtention d'une peau histologiquement normale à la suite du traitement avec les CSM (groupe II), tandis que le groupe contrôle (I) présente une peau cicatricielle. Le traitement des plaies avec des CSM, en plus de stimuler la cicatrisation cutanée, serait donc une hypothétique solution pour éviter les cicatrices souvent fragiles, peu fonctionnelles, et parfois invalidantes.

Dans la discussion, les auteurs font référence à l'étude de RIBEIRO *et al.* (2014). Ils expliquent que la cicatrice persistante dans cette dernière étude, contrairement à la leur, pourrait être expliquée par des doses trop faibles de CSM utilisées (1×10^5 CSM /cm² pour RIBEIRO *et al.*, 2014, contre 3×10^6 CSM /cm² pour ENCISO *et al.*, 2020b). Cette information est à nuancer puisque que les auteurs obtiennent effectivement une peau histologiquement normale dans le cas des plaies aiguës (groupe II), cependant l'étude structurelle de la peau pour les plaies chroniques n'est pas réalisée (groupe IV), et les photographies des lésions (annexe 5) semblent montrer une cicatrice également. Or RIBEIRO *et al.* (2014) ont réalisé leur étude sur des plaies chroniques et non aiguës. Il aurait donc été nécessaire de réaliser également des biopsies post-cicatrisation dans le groupe IV de ENCISO *et al.* (2020b). Ceci illustre de nouveau la difficulté de comparer les études publiées chez le chien.

Au terme de cette partie, il apparait évident que la cicatrisation de plaie cutanées peut parfois être insidieuse, difficile voire impossible à gérer à l'aide des méthodes conventionnelles. Les études et cas cliniques disponibles dans la littérature et présentés permettent de considérer les CSM comme un nouvel outil prometteur pour la cicatrisation des plaies, bien que de plus amples recherches soient nécessaires afin d'établir des protocoles optimaux.

2) [La dermatite atopique du chien](#)

a) Pathogénèse

La dermatite atopique (DA) est définie comme une dermatose, inflammatoire, prurigineuse, à prédisposition génétique, aux signes cliniques caractéristiques et associée à la présence d'anticorps de type IgE (immunoglobulines E), le plus souvent dirigés contre des allergènes environnementaux (HALLIWELL, 2006). Cette maladie concerne entre 10 et 15% de la population canine (GEDON and MUELLER, 2018).

La pathogénie de cette dermatose, partiellement élucidée, est liée à des anomalies génétiques, touchant la structure de la peau et sa fonction barrière, et au développement

d'une inflammation cutanée de type 2 (GEDON and MUELLER, 2018). La fonction barrière de la peau semble jouer un rôle majeur pour l'expression clinique de la DA (MARSELLA, 2021).

L'anomalie de l'épiderme des chiens atteints de DA permet la pénétration aisée et abondante des protéines de l'environnement ce que ne permet pas une peau saine. Il en résulte une réaction immune, innée et spécifique. Lors d'allergie, un contact ultérieur conduira à une inflammation allergique, médiée, dans le cas de la DA, par les lymphocytes T (LT). La réponse allergique aiguë provoque la libération de cytokines telles que l'IL-4 et l'IL-13, caractéristiques d'une réponse de type Th2, incluant la production d'IgE (GEDON and MUELLER, 2018), ainsi que l'afflux de polynucléaires éosinophiles, accompagné d'un phénomène de dégranulation des mastocytes (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). L'altération de la fonction barrière est aggravée et les LT CD4+ et CD8+, présents au site inflammatoire, stimulent la production de cytokines supplémentaires (IL-13, IL-22, IFN- γ). Le défaut de barrière prédispose également les chiens atopiques à des déséquilibres de la flore cutanée (dysbiose), marqués par une prolifération de staphylocoques coagulase positive, considérés comme un « facteur de poussée inflammatoire » (GEDON and MUELLER, 2018).

Les mécanismes responsables de l'altération de la barrière cutanée chez les chiens atteints de DA restent flous. Il semblerait que les kératinocytes soient impliqués, par la synthèse anormale de filaggrine, une protéine indispensable à la maturation de la couche cornée de l'épiderme. Des recherches concernant le rôle des jonctions serrées sont également en cours, en effet, une expression diminuée des protéines constituant ces liaisons (claudine et zonula occludens 1) est observée dans la peau saine et lésionnelle de chiens atteints de dermatite atopique (MARSELLA, 2021).

b) Lésions et signes cliniques

La dermatite atopique est un syndrome multiforme complexe (MARSELLA, 2021), aux signes cliniques non pathognomoniques (HENSEL *et al.*, 2015) mais au phénotype évocateur.

Les premières manifestations apparaissent, généralement, entre l'âge de quelques mois à trois ans. La lésion primaire est un érythème. Le prurit et l'inflammation de la DA peuvent induire une alopecie, des excoriations, une lichénification, une hyperpigmentation, ainsi que des infections secondaires (papules, pustules et croûtes) (GEDON and MUELLER, 2018).

Les lésions sont présentes aux plis des coudes, aux plis axillaires, aux plis inguinaux, à l'abdomen, aux extrémités des membres, aux pavillons auriculaires, aux paupières, aux lèvres, au périnée (figure 13). Une otite externe est présente chez un chien sur deux (GEDON and MUELLER, 2018). Cette répartition lésionnelle varie légèrement avec la race. Certaines races présentent également des sites additionnels, occasionnels, de lésions, comme, par exemple, la région dorso-lombaire chez le Shar-Pei et le West Highland White terrier (HENSEL *et al.*, 2015).

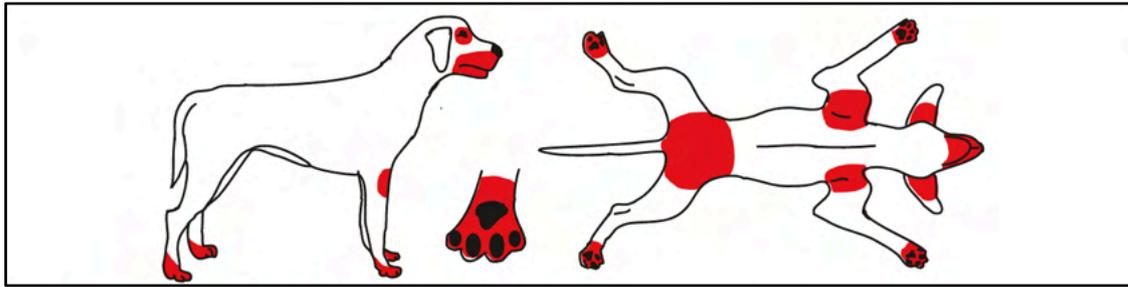


Figure 13 : Sites de prédilection des lésions et du prurit associé chez les chiens atteints de DA
(source : HENSEL *et al.*, 2015)

c) Diagnostic

Le diagnostic de DA est uniquement clinique. Il doit être basé sur l'historique, l'âge de déclenchement, la race et, surtout, les signes cliniques (GEDON and MUELLER, 2018). Il n'existe pas de marqueur spécifique de la DA (MARSELLA, 2021).

Le diagnostic de DA est parfois établi à tort, ce qui est souvent associé à une mauvaise réponse aux traitements mis en place. Certaines dermatoses ayant un phénotype similaire, le diagnostic d'une DA nécessite un diagnostic différentiel (tableau IX) (GEDON and MUELLER, 2018). Le premier élément à écarter est la gale sarcoptique. Il faut, de plus, protéger ces animaux contre tous les ectoparasites, en particulier les puces. Ensuite, les infections bactériennes ou fongiques doivent être recherchées (HENSEL *et al.*, 2015).

Afin d'aider le clinicien dans sa démarche, les « critères de Favrot » peuvent être utilisés. Il s'agit de deux jeux de critères, établis à la suite d'une analyse statistique complexe de nombreux cas, établissant un ensemble de caractéristiques cliniques ayant un lien maximal avec la DA. Selon le jeu de critères, la spécificité et la sensibilité du diagnostic varient. Certains critères sont positifs, par exemple l'apparition des signes cliniques avant l'âge de trois ans ou l'apparition d'un prurit primaire sans lésion associée, d'autres critères sont négatifs, comme l'absence d'atteinte de la zone dorso-lombaire (HENSEL *et al.*, 2015).

Tableau IX : Diagnostic différentiel des affections cutanées prurigineuses.

Diagnostic différentiel		Outils diagnostiques
Ectoparasitose cutanée	Pulicose	Peignage, mise en place systématique d'un programme efficace de contrôle des puces
	Gale	Examen microscopique de raclages cutanés
	Démodicie	Examen microscopique de raclages cutanés profonds, voire biopsies
	Cheyletiellose	Examen microscopique de brossages du pelage, scotch-test, raclages cutanés
	Pédiculose	Examen microscopique de brossages du pelage, scotch-test, raclages cutanés
	Otacariose	Examen microscopique de cérumen
	Thrombiculose	Examen microscopique de brossages du pelage, scotch-test, raclages cutanés
Infection cutanée microbienne	Pyodermite staphylococcique	Aspect macroscopique (lichénification, hyperpigmentation, squamosis, papules, pustules, collerettes épidermiques), examen microscopique de calques cutanés ou de pus colorés
	Prolifération de <i>Malassezia</i>	Examen microscopique de scotch-test coloré
Maladie cutanée allergique	DAPP	Peignage, programme efficace de contrôle des puces systémique
	DA	Anamnèse, race, signes cliniques, diagnostic d'exclusion
	Intolérance et allergie alimentaires (lors de troubles digestifs ou d'urticaire associés)	Régime d'éviction et épreuves de réintroduction
	Dermatite de contact	Anamnèse, commémoratifs, répartition des lésions
Maladie néoplasique	Lymphome cutané	Biopsie cutanée

Pour chaque hypothèse diagnostique, la répartition des lésions est également un outil clé.
(Inspiré de HENSEL *et al.*, 2015).

d) Traitements conventionnels

Une fois le diagnostic établi, commence alors une série d'essais thérapeutiques afin d'aboutir à une solution adaptée au couple chien-proprétaire.

i. Traitement des complications

Il est indispensable, dans un premier temps, de traiter toutes les complications infectieuses. Ceci a généralement lieu durant la démarche de diagnostic différentiel. Le traitement comprend des shampoings antiseptiques associés à des réhydratants cutanés et, si nécessaire, des antibiotiques et des antifongiques. La mise en place d'un traitement insecticide, efficace et rigoureux, pour tous les animaux du foyer, est également indispensable (PIN, 2018).

Lorsque les affections secondaires sont gérées, il est possible d'initier le traitement de la DA.

ii. Prise en charge de la DA

Deux approches complémentaires peuvent être mise en place pour prendre en charge ce syndrome complexe et restituer une qualité de vie adéquate aux chiens souffrant de DA.

- Traitement spécifique

En médecine vétérinaire, la désensibilisation est une option thérapeutique à la mode qui nécessite l'identification des allergènes en cause. L'immunothérapie allergénique (ou AIT : allergen immunotherapy) serait la seule méthode curative. Elle serait efficace dans 50 à 75% des cas mais jamais seule. Il est cependant recommandé de la maintenir tout au long de la vie de l'animal (GEDON and MUELLER, 2018).

- Traitement symptomatique

Le traitement spécifique n'étant jamais suffisant, il est donc nécessaire d'utiliser un traitement symptomatique pouvant regrouper l'utilisation de plusieurs molécules.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (glucocorticoïdes) sont utilisés depuis des années pour le traitement d'allergies chez les animaux de compagnie, car ils ont un faible coût mais également de nombreux effets secondaires (polyuropolydipsie, polyphagie, amyotrophie, infections cutanées secondaires, etc.). Il est conseillé de ne les utiliser que pour gérer les crises (GEDON and MUELLER, 2018).

La ciclosporine (Atopica®), molécule de référence, possède à la fois des effets anti-inflammatoires, antiprurigineux et immunomodulateurs. Elle exerce son action en inhibant l'activation des LT lors de stimulation antigénique, en empêchant la production de cytokines par les kératinocytes ainsi que la dégranulation des mastocytes (ANSES). Elle peut toutefois engendrer des effets secondaires gastro-intestinaux légers lors de premières administrations. Des cas d'hyperplasie gingivale, d'hypertrichose et de dermatite hyperplasique sont également rapportés. La diminution des doses suffit généralement à faire rétrocéder ces symptômes.

Ces deux derniers types de molécules peuvent également être utilisés par voie topique, cela n'est généralement pas suffisant pour la gestion des symptômes liés à la DA.

Deux molécules spécifiquement antiprurigineuses ont été développées. On distingue le lokivetmab (Cytopoint®), un anticorps monoclonal caninisé, anti-IL-31, permettant une réduction significative du prurit pendant quatre semaines, ainsi que l'ocloclitinib (Apoquel®), un inhibiteur préférentiel de la Janus Kinase 1, bloquant ainsi la transmission du message prurigineux.

L'ensemble de ces traitements a un taux de succès de 70 à 80%.

D'autres traitements, plus anecdotiques et dont l'efficacité n'a pas été prouvée, peuvent être mentionnés, comme les antihistaminiques ou les compléments alimentaires à base d'acides gras essentiels, les probiotiques ou les vitamines (GEDON and MUELLER, 2018).

La dermatite atopique est un syndrome complexe, nécessitant une prise en charge multimodale et, surtout, adaptée à chaque individu, puisque les symptômes et les facteurs de poussées peuvent légèrement différer d'un patient à un autre (MARSELLA, 2021). La gestion de la DA, de son diagnostic à son traitement, requiert de la patience, du temps et des efforts, de la part de l'équipe médicale ainsi que des propriétaires. Les fréquents rendez-vous chez le vétérinaire peuvent s'avérer trop coûteux, l'observance des traitements difficile et contraignante (exemple des shampoings), pour aboutir à des résultats parfois limités, voire entachés d'effets secondaires.

Face à une maladie dont la pathogénie s'exprime *via* l'intervention excessive ou anormale de cellules de l'immunité, ainsi que par la libération de nombreuses cytokines, les CSM et leurs capacités immunomodulatrices et restauratrices de l'homéostasie, semblent indiquées.

e) Études rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement de la dermatite atopique du chien

i. Protocoles

La littérature regroupe quatre études principales testant l'utilisation de CSM chez des chiens atteints de dermatite atopique. Toutes utilisent des CSM issues de tissu adipeux, la plupart mettent en place une greffe de type allogénique, sauf HALL *et al.* (2010) qui utilisent des CSM autologues.

Les critères d'inclusion des patients dans les études sont globalement similaires. Le diagnostic de DA est établi sur la base de l'anamnèse et des signes cliniques. Certains auteurs précisent avoir exclu les autres causes de prurit (HALL *et al.*, 2010 ; ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). La plupart se sont aidés d'une grille diagnostique, celle de Prélaud (HALL *et al.*, 2010) ou celle de Favrot (VILLATORO *et al.*, 2018 ; ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). Un régime d'éviction préalable est parfois mis en place (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). L'étude de VILLATORO *et al.* a la particularité de n'inclure que des chiens atteints de DA depuis plus d'un an, réfractaires aux traitements conventionnels.

Les traitements anti-inflammatoires et immunomodulateurs sont arrêtés à *minima* deux semaines avant la mise en place des quatre études, et pendant toute leur durée. Dans un cas (HALL *et al.*, 2010), la poursuite d'une immunothérapie spécifique d'allergène est autorisée, sous réserve qu'elle soit initiée depuis plus d'un an. La gestion des infections secondaires, par des antibiotiques ou antifongiques, est également permise (VILLATORO *et al.*, 2018), uniquement si elle n'induit pas de variation de l'intensité du prurit (HALL *et al.*, 2010).

La thérapie cellulaire consiste en une à plusieurs injections systémiques de CSM-TA, à des doses et par des voies différentes (tableau X).

Tableau X : Études utilisant des CSM pour le traitement de la dermatite atopique canine

Pathologie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets secondaires
DA non saisonnière (Hall et al., 2010)	Ouverte Non-contrôlée	CSM + traitements conventionnels (n=5)	CSM-TA, excision chirurgicale en région interscapulaire (2g), chez les 5 patients, via bloc anesthésique local	Autologues 1 injection IV 1,3 x 10 ⁶ CSM/kg	2 mois (2/5) 3 mois (3/5)	CADESI-03 ; Score de prurit visuel	Pas de changement significatif	Œdème au site du cathéter (2/5)
DA Réfractaire (Villatoro et al., 2018)	Ouverte Non-contrôlée	CSM (+/- antibiotiques ou antifongiques si nécessaires) (n=26)	CSM-TA, excision chirurgicale en région sous-cutanée au niveau muscles fessiers (5g), chez 3 donneurs, sous AG	Allogéniques 1 injection IV 1,5 x10 ⁶ CSM/kg	6 mois (22/26)	Examen clinique et dermatologique ; CADESI-04 ; score de prurit visuel ; satisfaction du propriétaire	Diminution prurit et CADESI-04. Stabilisation pendant les 6 mois de suivi.	Non
DA (Enciso et al., 2019)	Ouverte Non-contrôlée	CSM (n=12)	CSM-TA, excision chirurgicale (5g d'omentum), chez 1 donneur, sous AG	Allogéniques 1 injection IM par semaine pendant 6 semaines 0,5x10 ⁶ CSM/kg	6 semaines	CADLI ; score de prurit visuel	Élimination et/ou réduction des symptômes ainsi que des comorbidités. Amélioration significative des scores CADLI et de prurit.	Non
DA (de Oliveira Ramos et al., 2020)	Ouverte Non-contrôlée	CSM (n=16)	CSM-TA, excision chirurgicale (20g à la base de la queue), chez 3 donneurs, sous AG	Allogéniques 3 injections IV à 21 jours d'intervalle 2x10 ⁶ CSM/kg	31 jours (4/16) ; 82 jours (12/16)	CADESI-4 ; degré de prurit ; histopathologie (biopsie à J0 et J82)	Amélioration clinique, diminution CADESI-04 et prurit, amélioration de la structure de l'épiderme	Non

Légende : DA : dermatite atopique ; CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; IV : intraveineuse ; IM : intramusculaire ; AG : anesthésie générale ; J : jour.

ii. Critères d'évaluation

Les critères d'évaluation utilisés pour attester de la réussite ou non des protocoles sont un score de prurit visuel, ainsi que l'utilisation de systèmes de score ou index spécifiques à la DA.

- Score de prurit visuel

Tous les auteurs utilisent une échelle visuelle analogique, présentée au propriétaire, pour quantifier l'intensité du prurit de leur chien (figure 14). Cette échelle s'étend de « 0 : absence de prurit » à « 10 : prurit extrêmement marqué » (HALL *et al.*, 2010 ; VILLATORO *et al.*, 2018 ; ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

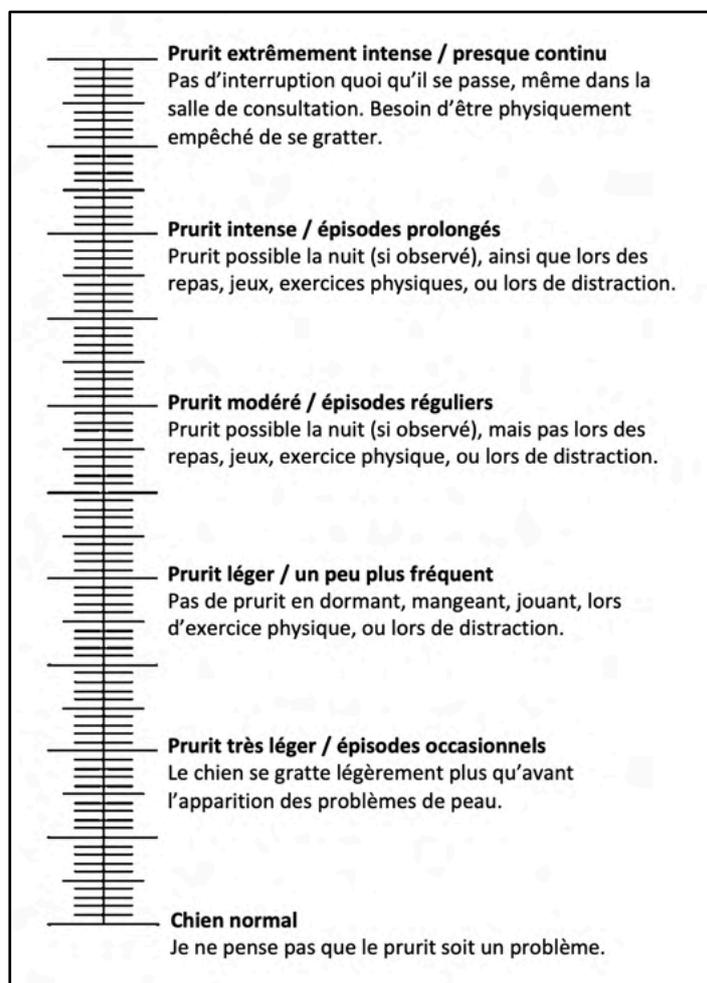


Figure 14 : Échelle visuelle analogique, destinée au propriétaire, et permettant d'établir le score de prurit visuel

*Le prurit inclut grattage, mordillements, léchage, mâchonnements et frottements. Cette échelle se lit du bas vers le haut, le propriétaire doit réaliser une marque au niveau auquel il estime le degré de prurit de son chien. (Traduit d'après HALL *et al.*, 2010).*

- Systèmes de score spécifiques à la DA

Des grilles de score, dédiées à la notation des chiens atteints de DA, sont utilisées.

HALL *et al.* (2010) utilise le système CADESI-03 (« Canine Atopic Dermatitis Extention and Severity Index » ou index de sévérité et d'extension des lésions des chiens souffrant de dermatite atopique). Il s'agit d'une grille basée sur l'évaluation de quatre types de lésions (érythème, excoriation, lichénification, alopecie auto-infligée), en 62 zones anatomiques référencées. Chaque lésion est notée sur une échelle de 0 (absent) à 5 (très marqué). Le score final alors obtenu peut atteindre jusqu'à 1240.

Deux autres études utilisent une version plus récente, simplifiée et à la réalisation plus rapide, de celui-ci : le CADESI-04 (VILLATORO *et al.*, 2018 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). Certaines lésions à évaluer ont été regroupées (excoriation et alopecie), et la qualification d'« auto-infligée » pour l'alopecie supprimée car trop laborieuse à mettre en évidence. Le nombre de régions anatomiques observées a également été considérablement diminué (de 62 à 20). L'échelle de gravité a également été remaniée : 0 (absent), 1 (léger), 2 (modéré), 3 (marqué ou sévère). Le score maximal possible est alors de 180 (OLIVRY *et al.*, 2014).

Enfin, le système CADLI (« Canine Atopic Dermatitis Lesion Index » ou index de lésions de dermatite atopique canine), de création chronologiquement intermédiaire entre les CADESI 3 et 4, est utilisé par ENCISO *et al.* (2019). Deux groupes de lésions sont évaluées, le premier comprend érythème, excoriation et érosion, le second comprend alopecie, lichénification et hyperpigmentation. Le degré des lésions est évalué sur une échelle s'étendant de 0 à 5. Il est nécessaire de réaliser ceci pour seulement cinq régions anatomiques différentes. La note finale maximale est alors de 50 (PLANT *et al.*, 2012).

Ces critères sont utilisés pour évaluer la réussite ou non de la thérapie cellulaire. DE OLIVEIRA RAMOS *et al.* (2020) s'en servent également pour diviser leur population d'étude en trois groupes différents, pour lesquels la DA est jugée légère (score CADESI entre 10 et 34), modérée (entre 35 et 59) ou marquée (au-delà de 60).

- Autres critères

La satisfaction du propriétaire, notée sur une échelle allant de 0 à 3, à chaque étape de contrôle, est également évaluée par certains scientifiques (VILLATORO *et al.*, 2018). D'autres pratiquent des biopsies cutanées afin d'examiner une éventuelle évolution de la structure histologie de la peau (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

iii. Résultats

Sur les quatre études recensées ici, toutes rapportent une bonne tolérance de l'administration de CSM par voie systémique, et trois attestent d'une diminution du niveau d'expression de la DA. En effet, l'étude la plus ancienne n'a pas permis de mettre en évidence de changement significatif (HALL *et al.*, 2010), tandis que les études suivantes démontrent une amélioration significative des scores de prurit et des scores spécifiques de la DA (CADLI ou CADESI) (VILLATORO *et al.*, 2018 ; ENCISO *et al.*, 2019 ; DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). Cette amélioration clinique est précoce (dès une semaine après l'administration de CSM en ce qui concerne le prurit) et pérennisée pendant au moins six mois (VILLATORO *et al.*, 2018). L'efficacité du traitement pour la rétrocession du prurit semble toutefois meilleure dans le cas de chiens faiblement ou modérément atteints, que pour ceux présentant des manifestations cliniques marquées (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

L'examen histopathologique de biopsies cutanées, avant et 82 jours après traitement, montre également un certain effet réparateur ou cicatrisant des CSM sur la peau de chiens atteints de DA. En effet, celle-ci révèle une diminution de l'hyperplasie et de l'œdème de l'épiderme, ainsi qu'une diminution de l'épaisseur de l'épiderme (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

iv. Discussion

Les études menées pour l'utilisation de CSM-TA en tant que traitement de la dermatite atopique canine sont prometteuses. Les voies IM et IV, par injections unique ou multiples, semblent toutes deux efficaces. L'étude réalisée par HALL *et al.* (2010), bien qu'infructueuse, ne remet pas réellement en question ces résultats. En effet, celle-ci était seulement réalisée sur cinq chiens, dont deux qui n'ont pas complété la totalité du suivi. De plus, l'emploi de CSM autologues rend la comparaison non valable.

Des chiens ont, parfois, été exclus précocement des études, par exemple pour recevoir des immunosuppresseurs (4 chiens sur 26, VILLATORO *et al.*, 2018), ou des antifongiques pour cause de dermatite à *Malassezia* (3 chiens sur 16, DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020). Un chien arthrosique a également dû être exclu afin de recevoir un traitement adapté (arthrose antérieure à l'étude) (DE OLIVEIRA RAMOS *et al.*, 2020).

La satisfaction des propriétaires quant à un tel traitement (VILLATORO *et al.*, 2018) reste toutefois difficile à évaluer. En effet, on imagine aisément qu'un propriétaire souhaite une disparition totale des signes cliniques de son animal, notamment le prurit, et qu'une diminution de celui-ci, considéré comme un résultat positif par les chercheurs et vétérinaires, ne le sera pas autant pour des personnes *lambda*.

Bien que ces études exposent des résultats encourageants quant à l'emploi des CSM pour la prise en charge de la DA canine, il existe un réel besoin de standardisation des protocoles, d'abord pour permettre des comparaisons valables, puis afin d'établir une utilisation de type « gold standard », notamment concernant les posologies d'administration.

3) Le syndrome hépato-cutané

Le syndrome hépato-cutané (SHC), aussi connu sous le nom de dermatite nécrolytique superficielle, érythème nécrolytique migrant ou nécrose épidermique métabolique est une dermatose rencontrée chez l'Homme et le chien (BORDEAU, 2005). Il s'agit d'une affection rare, sans prédisposition de race ni de sexe, concernant plutôt les chiens âgés (CADIERGUES *et al.*, 2000), mais pouvant se manifester dès l'âge de 4 ans (BORDEAU, 2005).

a) Pathogénèse

Le mécanisme pathologique à l'origine de ce syndrome est, dans la grande majorité des cas, une hépatopathie chronique, souvent vacuolaire (BORDEAU, 2005), généralement idiopathique. Quelques rares cas (<10%) résultent d'un glucagonome (tumeur pancréatique). La pathogénèse est la même chez l'Homme, mais dans des proportions totalement inversées (CADIERGUES *et al.*, 2000).

La pathogénie de ce syndrome demeure incomplètement élucidée. L'existence de carences nutritionnelles (acides aminés cutanés, albumine, biotine, acides gras essentiels, zinc) est suspectée. Celles-ci pourraient résulter d'une hyperglucagonémie, secondaire à l'anomalie de fonctionnement hépatique ou primaire, lors de tumeur sécrétante. Ces carences pourraient expliquer les anomalies épidermiques observées (œdème), dues à la présence de kératinocytes dégénérés (BORDEAU, 2005).

b) Lésions et signes cliniques

Cliniquement, le SHC est une dermatose symétrique ou bilatérale. Les lésions observées sont des croûtes, des érosions ou ulcères, ainsi qu'un érythème. La localisation des atteintes se situe principalement au niveau des jonctions cutanéomuqueuses (truffe, paupières, babines, anus), ainsi qu'au niveau des points de pression (coude). C'est pourquoi les coussinets sont très fréquemment atteints, présentant un épaissement ou une hyperkératose, et des fissures (non systématiques) (CADIERGUES *et al.*, 2000 ; BORDEAU, 2005).

Des lésions secondaires peuvent s'ajouter lors de surinfections bactériennes ou fongiques (BORDEAU, 2005).

Ce syndrome a un impact négatif important sur la qualité de vie des chiens atteints. Ils peuvent manifester du prurit (BORDEAU, 2005), nombreux sont ceux présentant douleur, boiterie, et léthargie (CADIERGUES *et al.*, 2000, NAM *et al.*, 2017).

c) Diagnostic

Le diagnostic de SHC est basé sur l'anamnèse, les commémoratifs, la présence de lésions cutanées compatibles, associées à des symptômes généraux, ainsi que sur les résultats de nombreux examens complémentaires (BORDEAU, 2005).

La numération formule sanguine peut montrer une anémie, arégénérative normochrome normocytaire. Les analyses biochimiques indiquent généralement une hyperglycémie, ainsi qu'une élévation des enzymes hépatiques (BORDEAU, 2005 ; NAM *et al.*, 2017), notamment des phosphatases alcalines et de l'alanine amino-transférase (CADIERGUES *et al.*, 2000 ; BORDEAU, 2005). Dans certains cas, la glycémie n'est pas modifiée (CADIERGUES *et al.*, 2000). Des concentrations faibles en albumine et acides aminés sont parfois présentes (BORDEAU, 2005). Il est important de noter qu'une concentration élevée en glucagon, lorsqu'elle est présente, n'est pas spécifique d'un glucagonome (CADIERGUES *et al.*, 2000 ; BORDEAU, 2005).

Des examens d'imagerie peuvent déceler, dans la majorité des cas, une hépatomégalie à la radiographie (NAM *et al.*, 2017), ainsi que des modifications échographiques de la structure du parenchyme hépatique. Il s'agit notamment d'un aspect caractéristique en « gruyère » (BORDEAU, 2005) ou « nid d'abeille » (NAM *et al.*, 2017).

Enfin, l'observation de prélèvements permet souvent de conclure au diagnostic de SHC. Des cytologiques hépatiques identifient alors l'existence d'une fibrose, voire de foyers de nécrose hépatocellulaire (NAM *et al.*, 2017). L'examen de biopsies cutanées montre un épaissement cutané, provoqué par une hyperkératose parakératosique, ainsi qu'un œdème cellulaire de l'épiderme (BORDEAU, 2005 ; NAM *et al.*, 2017). Ces deux dernières anomalies sont en proportions variables suivant le stade de la maladie (BORDEAU, 2005). En effet, il est possible d'observer un profil caractéristique de l'épiderme dit « bleu, blanc, rose » : l'hyperkératose apparaît en rose, l'œdème superficiel de l'épiderme en blanc, et l'hyperplasie des couches inférieures en bleu (CADIERGUES *et al.*, 2000).

d) Traitement

Aucun traitement spécifique du SHC n'existe chez le chien, sauf lors de tumeur pancréatique (rare) pouvant alors être retirée chirurgicalement (CADIERGUES *et al.*, 2000).

Des traitements de soutien peuvent être mis en place, tels qu'une supplémentation en acides aminés (*per os* et intraveineuse), en zinc et en acides gras essentiels (CADIERGUES *et*

al., 2000 ; BORDEAU, 2005). La corticothérapie, bien que susceptible d'améliorer transitoirement les lésions cutanées, présente des risques d'aggravation de l'atteinte hépatique (CADIERGUES *et al.*, 2000).

Le pronostic pour les chiens atteints de SHC est très sombre. La survie est de l'ordre de quelques mois, l'animal décède d'insuffisance hépatique ou est euthanasié pour raison médicale (CADIERGUES *et al.*, 2000 ; BORDEAU, 2005).

Face à l'absence de traitement curatif, et du fait des hypothétiques capacités régénératrices des CSM, et surtout leurs propriétés immunomodulatrices et antiapoptotiques, l'utilisation de celles-ci a été proposée lors d'un essai thérapeutique.

e) Cas clinique rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement du SHC chez le chien

La littérature recense un cas clinique de chien atteint de SHC traité, entre autres, avec des CSM (NAM *et al.*, 2017). Il s'agit d'un Bichon Maltais de 10 ans, d'abord référé en centre hospitalier pour diabète et dermatite allergique non contrôlés. Compte-tenu de ses signes cliniques, ainsi que des résultats de nombreux examens complémentaires (examen dermatologique, analyses hématologique, biochimique et urinaire, radiographies et échographie abdominales, cytologie hépatique et biopsies cutanées), un diagnostic de SHC est établi.

Un traitement initial, systémique à base d'hépatoprotecteurs (sylimarine, dicarboxylate de biphényle diméthyle, S-adénosylméthionine), d'antibiotiques (céfalexine, amoxicilline et acide clavulanique) et de compléments alimentaires (oméga 3, vitamines B et E), et topique (shampooing antiseptique antifongique et après-shampooing), est d'abord mis en place. L'administration d'acides aminés à chaîne ramifiée est également réalisée, une fois par semaine, par voie intraveineuse. Le diabète sucré est géré sans difficulté à l'aide d'insuline par voie sous-cutanée (insuline isophane humaine).

Étant donné les faibles chances de survie (moins de six mois) assurées par ce traitement, la thérapie à base de CSM est mise en place dès trois semaines après le diagnostic de SHC (tableau XI). Des CSM allogéniques issues de tissu adipeux sont utilisées. Lors des quatre premiers mois, le chien reçoit six injections intraveineuses, espacées de deux à cinq semaines, contenant chacune 50 millions de CSM. La thérapie cellulaire est ensuite temporairement arrêtée, avant d'être renouvelée six mois plus tard. Le chien reçoit alors 40 injections, de la même dose que précédemment, chacune espacée de deux à trois semaines, et dont les huit premières sont réalisées directement dans le parenchyme hépatique, sous contrôle échographique.

Tableau XI : Cas clinique rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement de SHC chez le chien

Maladie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets 2 nd aires
SHC (Nam <i>et al.</i> , 2017)	Ouverte Non-contrôlée	CSM + antioxydants + hépatoprotecteurs + acides aminés (n=1)	CSM-TA Issues de gras sous-cutané de chiens Beagle (Technique d'obtention non précisée)	Allogéniques 8 inj intra-hépatiques + 32 inj IV en 10 mois 1 inj = 5 x 10 ⁷ CSM	32 mois	Examen clinique Dosage des enzymes hépatiques	Survie de 32 mois Possibles amélioration des lésions cutanées et augmentation de l'espérance de vie	Non

Légende : n : nombre ; CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; inj : injection ; IV : intraveineuse.

Le suivi du cas consiste alors principalement en des examens cliniques et des analyses biochimiques réguliers.

Les premiers résultats apparaissent dès deux semaines après la première injection intraveineuse de CSM. Les concentrations en enzymes hépatiques diminuent progressivement, tandis que le chien retrouve de l'appétit et de la vitalité. L'état général se stabilise ensuite, et la thérapie cellulaire est suspendue. Six mois plus tard, celle-ci est initiée à nouveau (cause non précisée). Après les huit injections hépatiques, les lésions cutanées sont considérablement améliorées puisque que le chien présente un aspect macroscopiquement normal (figures 15 et 16). Cet état reste stable pendant les 22 mois suivants, durant lesquels les injections intraveineuses sont réalisées. Une certaine tendance à la dégradation des lésions cutanées est décrite, justifiant des administrations de CSM plus rapprochées.



Figure 15 : Lésions cutanées observées lors du premier examen au centre hospitalier
Présence d'oedème, érosions et pustules autour des doigts (A) ; présence de croûtes, oedème, érosions et érythème au niveau des coussinets et espaces interdigités (B) (source : NAM et al., 2017).



Figure 16 : Amélioration significative de l'état général et cutané, après l'administration de CSM directement dans le parenchyme hépatique
Vue de face (A) et de profil (B) (source : NAM et al., 2017).

Trente mois après le début du traitement, l'état général du chien se dégrade. Il est anorexique et présente des troubles digestifs. Des examens complémentaires révèlent une azotémie associée à une anémie. Les différents traitements ne permettant aucune amélioration, l'euthanasie est alors recommandée. L'examen nécropsique met en évidence la présence de lésions cutanées (croûtes et ulcérations), ainsi que des lésions compatibles avec une insuffisance hépatique.

Ce cas clinique permet de supposer un effet positif des CSM chez un chien atteint de SHC. Il est probable que celles-ci soient, en partie au moins, responsables d'une augmentation de l'espérance de vie ainsi que de l'amélioration des lésions cutanées. Il est toutefois impossible d'établir des conclusions quant à l'efficacité d'une voie par rapport à l'autre puisque des données sont manquantes, notamment l'état des lésions cutanées après les six premières administrations par voie intraveineuse. Nous pouvons également nous interroger sur le choix de la voie intrahépatique en seconde intention, puisque la voie intraveineuse semblait offrir des résultats satisfaisants. De plus, le poids du chien n'est pas mentionné ici, il n'est pas possible de connaître la dose de CSM administrées en fonction de celui-ci. L'emploi concomitant d'autres traitements complique également l'interprétation. Des études supplémentaires sont donc nécessaires, afin d'évaluer précisément l'efficacité des CSM chez des chiens atteints de SHC, et de déterminer des protocoles optimaux.

4) Les fistules périanales chez le chien

Les fistules périanales chez le chien sont définies comme l'existence d'ulcères ou trajets sinusaux (ou fistuleux), d'apparition spontanée au niveau de la peau qui entoure l'anus. Il s'agit d'une affection très douloureuse. Il existe une prédisposition raciale à cette pathologie, puisque les Bergers Allemands représentent plus de 80% des chiens atteints. Le développement de cette affection chez des canidés appartenant à d'autres races, voire chez des chiens issus de croisements, reste toutefois rapportée. La furonculose anale se déclare chez des chiens adultes d'âge moyen, mais cela est cependant très variable, du jeune adulte au sénior (CAIN, 2019).

a) Pathogenèse

La formation de fistules périanales a longtemps été considérée comme liée à une certaine conformation anatomique. Aujourd'hui, bien que la pathogenèse ne soit que partiellement connue, les scientifiques s'accordent pour attribuer une origine à médiation immune pour cette affection. En effet, les fistules se développeraient à la suite d'une inflammation locale orchestrée par les lymphocytes T. Cette hypothèse est en accord avec d'autres études

observant des amas de LT CD3+, ainsi que la présence de (l'ARNm de) cytokines associées au LT auxiliaires de type 1, au niveau des lésions cutanées de chiens atteints. Une activation anormale des macrophages est également évoquée, ainsi qu'un défaut d'initiation du processus de cicatrisation cutanée. La possibilité d'une intolérance alimentaire est aussi suggérée (CAIN, 2019).

Une étiologie génétique est très probable étant donné le fait que la plupart des chiens atteints sont des Bergers allemands. De nombreux gènes sont suggérés en tant que support génétique, notamment HLA-DRB1, ADAMTS16 et CTNND2 (CAIN, 2019).

b) Lésions et signes cliniques

Les lésions peuvent légèrement varier d'un chien à l'autre. On regroupe effectivement les ulcères, ainsi que les trajets fistuleux. Ils peuvent être simples ou multiples. Les ulcères peuvent être plutôt superficiels, ou encore étendus et profonds, parfois cratériformes. Bien que le terme de « fistule » soit largement utilisé, les trajets sinusaux cutanés ne sont pas systématiquement en communication avec la lumière de l'ampoule rectale. Il s'agit ici d'une différence avec le cas des fistules anales chez les patients humains atteints de la maladie de Crohn, pour lesquelles cet abouchement est toujours présent (CAIN, 2019).

Ces lésions ne sont pas toujours observées par le propriétaire, soit parce qu'il ne pense pas à regarder sous la queue de son animal, soit parce que ce dernier ne se laisse pas examiner cette zone douloureuse. Les signes cliniques généralement rapportés sont un léchage, du ténesme, une hématochézie, ou encore un écoulement mucopurulent, associé à une mauvaise odeur. Certains chiens présentent également des troubles intestinaux (colite, diarrhée...) (CAIN, 2019).

c) Diagnostic

Le diagnostic est principalement clinique, puisque les lésions sont visibles à l'œil nu (figure 17). La confrontation de l'examen clinique avec la race de l'animal est généralement suffisante (CAIN, 2019).



Figure 17 : Présentation clinique de fistules périanales

À gauche : ulcères et trajets fistuleux chez un chien American Staffordshire terrier.

À droite : trajets fistuleux multiples autour de l'anus d'un chien Berger Allemand.

(Source : CAIN, 2019).

Le diagnostic différentiel comprend les tumeurs périanales ulcérées (adénome ou adénocarcinome périanal) ou encore le lupus érythémateux mucocutané. Ce dernier s'exprime par des ulcères aux contours beaucoup moins nets, souvent confluent (CAIN, 2019).

En cas de doute persistant, l'examen histopathologique de biopsies cutanées, bien que rarement mis en place, peut permettre d'obtenir un diagnostic de certitude (CAIN, 2019).

d) Traitements

i. Traitement chirurgical

La prise en charge chirurgicale des fistules périanales a longtemps été employée, en lien avec l'ancienne hypothèse de leur origine anatomique. De nombreuses excisions en bloc ont ainsi été réalisées, associées à des sacculéctomies anales, l'emploi de laser ou de cryochirurgie, voire des caudectomies. L'émergence d'une pathogenèse à composante immune a eu pour conséquence une évolution des soins à apporter aux patients, avec une tendance au traitement médical (CAIN, 2019).

ii. Traitement médical

Différentes molécules peuvent être utilisées pour la gestion médicale des chiens atteints de fistules périanales, souvent en association pour certaines, afin d'obtenir la meilleure réponse thérapeutique possible.

- Antibiotiques

Les antibiotiques, utilisés seuls, ne permettent pas de faire régresser les lésions. Ils sont cependant nécessaires dans le cas d'infections bactériennes secondaires. Le métronidazole, en tant que molécule adjuvante, est parfois utilisé pour son spectre d'action (actif contre les bactéries anaérobies et les protozoaires), mais également pour de potentiels effets anti-inflammatoires, en favorisant l'action de LT régulateurs (CAIN, 2019).

- Immunomodulateurs

La prednisone, anti-inflammatoire stéroïdien, peut être utilisée par voie orale, à doses immunosuppressives. Son efficacité n'est pas très bonne, et son administration à long terme, indispensable dans le cas de fistules périanales, n'est pas recommandée en raison de ses nombreux effets secondaires (CAIN, 2019).

Les inhibiteurs de calcineurine, ciclosporine et tacrolimus, sont les molécules ayant la meilleure efficacité à ce jour. Leur action inhibitrice empêche la synthèse de cytokines proinflammatoires (IL-2) par les LT activés, en s'opposant à la déphosphorylation d'un facteur nucléaire. Il en résulte un cercle vertueux puisque la diminution du niveau d'IL-2 régule à la baisse les LT, notamment leur croissance et activation. Des doses variables de ciclosporine ont été expérimentées, et une corrélation positive entre la dose et l'amélioration des lésions semble exister. Certaines études tendent à montrer une biodisponibilité augmentée de la ciclosporine lors d'administration conjointe à celle de kétoconazole. Ces médicaments doivent être administrés à vie, car des cas de rechutes lors d'arrêt du traitement ont été décrits. Il est alors question de trouver la dose minimale nécessaire au maintien de la rémission.

L'emploi de tacrolimus pourrait également être utile. Sa présentation topique le destine plutôt à une utilisation en phase de rémission, lorsque les lésions sont moins importantes (CAIN, 2019), et également moins douloureuses.

- Gestion de la douleur et autres traitements

La douleur est une composante importante à prendre en charge. De nombreux analgésiques sont disponibles sur le marché. Les opioïdes sont toutefois à utiliser avec précaution puisqu'ils ont tendance à induire une constipation, augmentant alors la douleur lors de la défécation. Les émoullients fécaux font, pour cette raison entre autres, généralement partie du plan thérapeutique (CAIN 2019).

Bien que la ciclosporine ait plutôt une bonne efficacité (85%) pour le traitement des fistules périanales, son coût, d'autant plus élevé pour des chiens souvent de grand gabarit (CAIN, 2019), ainsi que la nécessité d'une administration quotidienne à vie, incitent les chercheurs à proposer de nouveaux traitements.

Face à une pathologie à médiation immune, lymphocytaire, associée un défaut de cicatrisation, les CSM et leurs propriétés immunomodulatrices et pro-cicatrisantes sont suggérées en tant que candidates à la prise en charge d'une telle affection.

e) Étude rapportant l'utilisation des CSM pour le traitement des fistules périanales chez le chien

La littérature récente une seule étude ouverte concernant l'utilisation de CSM pour la prise en charge de fistules périanales chez six chiens (FERRER *et al.*, 2016). Les critères pour l'inclusion des chiens dans cette étude sont un diagnostic clinique établi de fistules anales et la présence de trajets fistuleux ouverts ou d'ulcères. Il s'agit également de chiens n'ayant pas subi de tentative de traitement chirurgical, et qui présentent une cicatrisation incomplète des lésions, ou des phases de rechute fréquentes, malgré un traitement à base de ciclosporine initié depuis plus de six mois.

La thérapie cellulaire mise en œuvre (tableau XII) utilise des CSM dérivées de CS embryonnaires humaines (CSM-hCSE). Il s'agit donc d'une transplantation xénogénique. Chaque chien est tranquilisé et reçoit une administration unique de 20 millions de CSM. Cette quantité de cellules est répartie entre les différentes lésions, et injectée dans la lumière des fistules, ainsi que par voies intradermique et sous-cutanée autour des lésions. Après l'injection intraluminale, les fistules sont fermées à l'aide de colle chirurgicale.

Les critères d'évaluation de la réussite du traitement sont le nombre, la surface et de la profondeur des lésions, ainsi que la possible diminution ou non des doses de ciclosporine perçue. Des mesures de concentrations sériques de certaines cytokines sont également effectuée avant et 30 jours après le traitement, chez quatre chiens sur six.

Tableau XII : Étude rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement de fistules périanales chez le chien

Maladie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus d'obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets secondaires
Fistules périanales (FERRER <i>et al.</i> , 2016)	Ouverte Non-contrôlée	CSM-hCSE + ciclosporine A (n=6)	Préparation commerciale	Xénogéniques 1 administration unique via des injections intralésionnelles (intraluminales) et périphériques (ID et SC) 2 x 10 ⁷ CSM / chien	6 mois	Nombre, extension et profondeur des fistules + dose minimale nécessaire de ciclosporine pour le maintien en rémission	Guérison totale 3 mois post-administration (6/6) Rechute 6 mois post-administration (2/6)	Faible érythème périanales résolu en 24h (1/6)

Légende : CSM-hCSE : CSM dérivées de CS embryonnaires humaines ; ID : intradermique ; SC : sous-cutanée.

Les injections de CSM sont bien tolérées chez les différents patients de l'étude. Seul un chien a développé un érythème périanal léger, spontanément résolu. Les premiers résultats sont observés dès une semaine après l'injection, chez un chien dont la fistule est alors presque fermée (figure 18). Un mois après l'initiation du traitement, les lésions sont en voie d'amélioration chez tous les chiens, voire complètement cicatrisées pour la moitié de la population (figure 19). Les analyses sanguines révèlent également une diminution significative des concentrations en cytokines pro-inflammatoires IL-2 et IL-6. Trois mois après l'injection de CSM, aucune fistule ni aucun ulcère n'est observé parmi les six chiens. À partir du premier mois post-traitement, les doses de ciclosporine administrées ont pu être progressivement diminuées (sauf chez un chien souffrant de dermatite atopique), pour atteindre une différence significative deux mois plus tard. Six mois post-traitement, deux chiens sur six présentent chacun une petite fistule, inférieure à 3 mm de profondeur. La diminution des doses de ciclosporine a pu être poursuivie pour deux chiens sur six, tandis qu'une augmentation des doses a été prescrite pour un individu, par un vétérinaire extérieur à l'étude, afin de gérer de petites fistules apparues entre les contrôles des troisième et sixième mois.



Figure 18 : Évolution lésionnelle chez le chien numéro 6

Une fistule ouverte ventralement à droite de l'anus (A) ; celle-ci est presque complètement fermée une semaine après l'injection de CSM. (Source : FERRER et al., 2016).

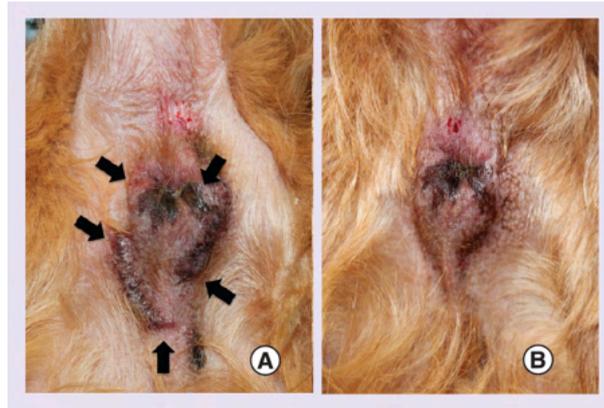


Figure 19 : Évolution lésionnelle chez le chien numéro 3

Six petits ulcères ou fistules sont présents, entourés par un important tissu cicatriciel hyperpigmenté (A) ; un mois après l'injection de CSM, les ulcères ont disparus et le tissu cicatriciel a nettement régressé (B). (Source : FERRER et al., 2016).

Cette étude permet de montrer qu'une transplantation de CSM en région périanale est bien tolérée, même dans le cas d'une greffe xénogénique. En effet, le seul effet secondaire rapporté est un érythème rétrocédaire seul, et il n'est également pas exclu que celui-ci soit dû à la préparation effectuée (tonte, désinfection) (FERRER *et al.*, 2016), ou encore à la colle chirurgicale appliquée. Bien qu'il n'existe pas de groupe contrôle, il est possible de conclure à un très probable rôle cicatriciel et curatif des CSM, chez des chiens atteints de furonculose anale, réfractaire à la ciclosporine. Ce protocole est plutôt simple à mettre en œuvre, puisque chaque chien peut être déposé le matin chez le vétérinaire, puis de retour chez son propriétaire le soir. De plus, bien que des études supplémentaires soient nécessaires, on peut supposer qu'une seule administration tous les trois mois pourrait être suffisante. Bien que les chiens semblaient ne présenter aucune amélioration sous traitement immunosuppresseur depuis au moins six mois, il n'est pas possible de savoir qu'elle est l'influence de la ciclosporine dans le processus de guérison. On ne peut également pas écarter une influence de la colle chirurgicale. Alors que ces résultats sont encourageants, il est indispensable de réaliser des études randomisées, en double-aveugle et avec des groupes contrôles (FERRER *et al.*, 2016).

5) Le pemphigus foliacé

Le pemphigus foliacé est une dermatose auto-immune, c'est-à-dire une maladie auto-immune dont la cible est la peau. La famille des pemphigus regroupe des maladies auto-immunes caractérisées par la formation de bulles ou pustules au niveau de l'épiderme, due au phénomène d'acantholyse, qui est un défaut d'adhésion entre les cellules qui le composent (OLIVRY, 2006).

Bien que cette affection soit rare, le pemphigus foliacé est la dermatose auto-immune la plus fréquente chez le chien (CRAIG, 2015). L'élément déclencheur de cette réaction est inconnu, mais certaines races semblent prédisposées génétiquement, telles que Chow-Chow et Akita. L'association de ces deux races n'est pas étonnante puisqu'il s'agit de chiens à la phylogénie proche (OLIVRY, 2006). Il n'existe pas de prédilection de sexe ni d'âge (OLIVRY, 2006 ; CRAIG, 2015), la maladie se déclenche cependant en général vers quatre ans (CRAIG, 2015).

a) Pathogenèse

Les pemphigus sont des dermatoses auto-immunes médiées par des anticorps dirigés contre les protéines d'adhésion épidermique composant les desmosomes. Contrairement aux croyances passées, dans le cas du pemphigus foliacé canin, les auto-anticorps ne sont pas dirigés, comme chez l'Homme, contre la desmoglécine 1 (OLIVRY, 2006), mais contre une autre protéine des jonctions intercellulaires : la desmocolline 1 (LAFFORT, 2012). Cette attaque du système immunitaire contre les desmosomes entraîne une destruction de ceux-ci, résultant en un phénomène de clivage épidermique, à l'origine de lésions cutanées (CRAIG, 2015).

Il s'agit d'une pathologie idiopathique. Certains facteurs environnementaux sont suspectés d'induire des poussées de pemphigus foliacé, comme l'exposition au soleil (rayons ultraviolets) (OLIVRY, 2006). La présence antérieure d'une maladie cutanée chronique (dermatite atopique, dermatite par allergie aux piqûres de puces), en tant que facteur favorisant, est également mentionnée mais non prouvée. De même, l'existence d'une acantholyse pharmacologique ou toxique est suspectée (OLIVRY, 2006 ; CRAIG, 2015).

b) Lésions et signes cliniques

Le pemphigus foliacé est aussi qualifié de superficiel car la rupture des liaisons entre les kératinocytes a lieu en position sous-cornée, causant alors des lésions superficielles. Les lésions primaires sont des pustules, qui évoluent rapidement en érosions et croûtes. Lorsque les chiens sont présentés chez le vétérinaire, c'est cette dernière lésion qui est le plus souvent observée. Les pustules sont souvent larges et confluentes. Plusieurs poils peuvent y faire protrusion, ce qui permet de les distinguer des lésions présentes lors de folliculite.

Une présentation plus rare existe lorsque les différentes lésions sont regroupées en un motif polycyclique (OLIVRY, 2006).

Les lésions sont d'abord plutôt concentrées au niveau de la face (chanfrein dorsal, oreilles, zone péri-oculaire, truffe), avec une répartition bilatérale et symétrique. Les muqueuses sont rarement concernées. Une atteinte des coussinets est également possible, mais non systématique (un tiers des cas). Les lésions progressent en trois à douze mois, et sont alors généralisées (en moyenne en 6 mois (CRAIG, 2015)) à l'ensemble de la surface du corps (OLIVRY, 2006) (figure 20).



Figure 20 : Présentations cliniques lésionnelles du pemphigus foliacé canin

À gauche : chien croisé Chow-Chow présentant des érosions et croûtes, distribuées de manière symétrique et bilatérale, au niveau du chanfrein, de la truffe et du contour des yeux (source : OLIVRY, 2006).

À droite : distribution généralisée des lésions (croûtes) et alopecie au niveau de l'abdomen ventral d'un chien Jack Russel terrier. (Source : CRAIG, 2015).

Un prurit accompagne souvent ces lésions (un quart à la moitié des cas) (OLIVRY, 2006). Les chiens atteints de pemphigus foliacé, notamment lors de formes généralisées, expriment des signes cliniques généraux, tels qu'un état dépressif, une anorexie et une hyperthermie (OLIVRY, 2006 ; CRAIG, 2015).

c) Diagnostic

OLIVRY (2006) suggère de baser le diagnostic de pemphigus foliacé canin essentiellement sur des éléments cliniques et histopathologiques.

D'abord, la chronologie d'apparition des lésions et leur évolution, ainsi que leur répartition, sont des données clés (CRAIG, 2015). Un examen clinique complet et précis est donc nécessaire pour déterminer la nature de toutes les lésions présentes (OLIVRY, 2006).

La démarche diagnostique se poursuit ensuite nécessairement par des examens complémentaires. L'examen cytologique de pus d'une pustule intacte permet de mettre en évidence de nombreux kératinocytes acantholysés, des polynucléaires neutrophiles non dégénérés, ainsi que de rares polynucléaires éosinophiles. L'examen histopathologique de biopsies cutanées, en prenant bien soin de prélever de la croûte, révèle des résultats similaires (OLIVRY, 2006).

Il convient enfin d'écarter toutes les autres causes de dermatite pustulo-croûteuse, telles que diverses pyodermites, dermatophytoses, le lupus cutané chronique, ainsi que la leishmaniose ou encore le syndrome hépato-cutané (OLIVRY, 2006 ; CRAIG, 2015).

d) Traitement

Afin d'espérer une bonne réponse au traitement du pemphigus foliacé canin, il est d'abord essentiel de réaliser une tonte des zones lésées, ainsi que des shampoings antiseptiques associés à un réhydratant cutané en cas d'infection bactérienne secondaire (PIN, 2019).

Le traitement est ensuite basé sur l'utilisation d'immunosuppresseurs, principalement par voie systémique (orale) (OLIVRY, 2006). Les glucocorticoïdes, notamment la prednisolone, sont largement employés, surtout pour leur disponibilité et leur faible coût. L'administration conjointe de glucocorticoïdes et d'azathioprine est conseillée. Elle permet en effet, une fois que les lésions sont contrôlées et stables, de diminuer progressivement les doses de prednisolone, suivi, si possible, de la diminution progressive de l'azathioprine (CRAIG, 2015). Certains auteurs évoquent cependant une fréquence augmentée des effets secondaires lors de l'utilisation combinée de ces deux molécules (OLIVRY, 2006), notamment concernant la formation d'ulcères gastriques (HAN *et al.*, 2015). À l'heure actuelle, la ciclosporine est considérée comme inefficace pour le traitement du pemphigus foliacé canin (CRAIG, 2015). La voie topique peut également être employée dans le cas d'atteinte faible ou de lésions très localisées (application de glucocorticoïdes) (CRAIG, 2015).

Le pronostic et la réponse au traitement sont variables. Une rémission à long terme, même après l'arrêt de tout traitement est rare mais possible. Dans la majorité des cas, il s'agit d'un traitement long et contraignant pour le propriétaire (OLIVRY, 2006). L'espérance de vie demeure faible puisqu'environ un cas sur deux survit moins d'un an après le diagnostic (HAN *et al.*, 2015). Les vétérinaires font face à des impasses thérapeutiques chez 10% des chiens atteints de pemphigus foliacés, qui sont alors euthanasiés (CRAIG, 2015).

Le pemphigus foliacé canin est une maladie auto-immune à médiation humorale, dont les facteurs déclenchants ne sont pas identifiés. Un traitement étiologique n'est donc pas envisageable. Les traitements utilisés en routine possèdent de nombreux risques d'effets secondaires et sont parfois inefficaces. Le nombre de décès au cours de l'année suivant le diagnostic reste élevé. C'est pourquoi, un groupe de scientifiques, à la recherche de solutions thérapeutiques plus adaptées, s'est intéressé à l'emploi des CSM chez un chien atteint de pemphigus foliacé, en tant que cellules immunomodulatrices, capables d'interagir avec les lymphocytes B, en inhibant leur prolifération et leur production d'anticorps (HAN *et al.*, 2015).

e) Étude rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement du pemphigus foliacé canin

La littérature recense un seul cas clinique de chien atteint de pemphigus foliacé traité, entre autres, avec des CSM (HAN *et al.*, 2015). Il s'agit d'un chien Shih Tzu de 10 ans, pour lequel le diagnostic a été établi sept mois auparavant, ne répondant ni au traitement à base de prednisolone (4,4 mg/kg/jour), ni à son association avec de la ciclosporine (5 mg/kg/jour) et de l'azathioprine (2mg/kg/jour). Ce chien reçoit également des antibiotiques (céfalexine 60mg/kg/jour), afin de prévenir toute surinfection. Des protecteurs hépatiques, ainsi que de l'acide ursodésoxycholique, sont également administrés car le traitement de longue durée à base de glucocorticoïdes a entraîné une élévation des enzymes hépatiques.

En l'absence d'amélioration clinique après plus d'un mois de traitement, un protocole à base de CSM et CSM-surexprimant l'antigène 4 des LT cytotoxiques (CSM-CTLA4) est mis en place, avec l'accord du propriétaire. Les CSM utilisées sont directement fournies par un laboratoire, et celles-ci sont issues de tissu adipeux canin. Une fraction des CSM dites naïves est conservée pour les injections à venir, et la fraction restante est manipulée par l'équipe scientifique dans le but d'augmenter leur potentiel immunomodulateur. En effet, le choix est fait de réaliser la transduction du gène canin codant pour l'antigène 4 des LT cytotoxiques (CTLA4) au sein des CSM. Cela est réalisé par le biais d'un système d'expression lentiviral. Les auteurs ont montré, *in vitro*, une capacité supérieure des CSM-CTLA4 à supprimer la prolifération des cellules mononuclées du sang, par rapport aux CSM « naïves ». Ce choix est effectivement justifié comme étant une modification permettant d'augmenter les propriétés immunosuppressives des CSM puisque le CTL4A est connu pour avoir un effet inhibiteur des LT. De plus, la surexpression de CTLA4 pour les CSM permettrait de diminuer les concentrations plasmatiques en anticorps.

Les administrations de CSM se font par voie intraveineuse, toutes les deux à huit semaines d'intervalle, sur une durée totale de 20 mois. Les trois premières injections contiennent uniquement des CSM-CTLA4, les trois injections suivantes sont composées des deux types de CSM. Les 15 dernières injections ne sont composées que de CSM « naïves » (tableau XIII).

Tableau XIII : Cas clinique rapportant l'utilisation de CSM pour le traitement d'un chien souffrant de pemphigus foliacé

Maladie (Réf.)	Type d'étude	Bras d'étude	Source CSM et processus obtention	Modalités d'intervention	Suivi	Méthodes d'évaluation	Résultats	Effets secondaires
Pemphigus foliacé (Han <i>et al.</i> , 2015)	Ouverte Non contrôlée	Prednisolone à doses dégressives + CSM-TA et/ou CSM-TA surexprimant CTLA4 (n=1)	CSM-TA fournies par K-STEMCELL Co. Ltd. (Seoul, Korea) Puis potentialisation d'une partie des CSM par transduction du gène canin CTLA4 par un système d'expression lentiviral	Allogéniques Inj IV pendant 20 mois q2-8 semaines CSM-TA : 1x10 ⁷ CSM/kg (18 inj) CSM-TA surexprimant CTLA4 : 2x10 ⁶ CSM/kg (6 inj) Prednisolone : 4,4 mg/kg PO SID Diminuée progressivement à 0,25 mg/kg PO SID	32 mois	Examen clinique	Pendant les 20 mois de traitement : Régression totale des lésions sans récurrence Pendant les 12 mois suivant la dernière inj : Présence légère de croûtes gérée avec dose faible de prednisolone (0,25 mg/kg PO SID)	Non

Légende : CSM-TA : CSM issues de tissu adipeux ; CTLA4 : antigène 4 des LT cytotoxiques ; inj : injection ; IV : intraveineuse ; q : quaque ; PO : per os ; SID : single in day : une fois par jour.

Bien que le diagnostic ait été au préalable confirmé par l'examen histopathologique de biopsies cutanées, le seul critère de réussite du traitement est basé sur l'observation macroscopique des lésions.

Les premiers résultats sont visibles dès la première administration de CSM, puisque le prurit est diminué et les lésions, jusqu'alors non-évolutives, ont montré des signes d'amélioration. La guérison progressive des lésions de pemphigus a permis de diminuer progressivement les doses de prednisolone dès trois mois après le début de la thérapie cellulaire. L'administration de cyclosporine a été totalement arrêtée au début du deuxième mois, et le onzième mois en ce qui concerne l'azathioprine. À la fin des 20 mois de traitement, le chien est en rémission, stabilisée grâce à des doses faibles de prednisolone (figures 21 et 22). Cette diminution notable a également permis une normalisation des concentrations en enzymes hépatiques. Le bon état général de ce mâle Shih Tzu s'est prolongé pendant toute l'année ayant suivi, avec pour seules et rares lésions quelques légères croûtes. Le suivi a ensuite malheureusement pris fin car le chien est décédé d'œdème pulmonaire.

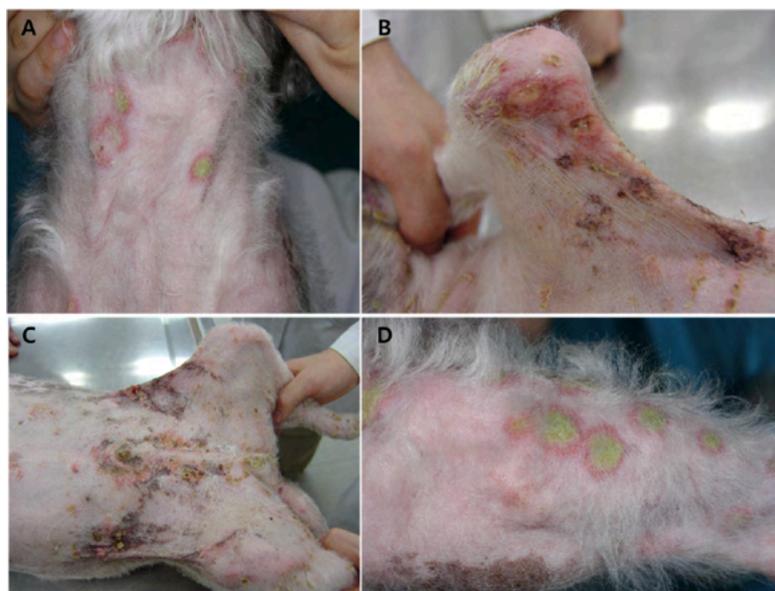


Figure 21 : Examen clinique initial du chien atteint de pemphigus foliacé
Observation d'érythème, papules, pustules, croûtes, lichénification et érosions au niveau du cou (A), des coudes et aisselles (B), de l'abdomen et de la région inguinale (C), et au niveau du dos (source : HAN et al., 2015)



Figure 22 : Examen clinique final, après administration de la thérapie cellulaire
Absence de lésion au niveau du cou (A), de l'abdomen et de la région inguinale (B) et du dos (C) (source : HAN et al., 2015).

Bien qu'il ne s'agisse ici que d'un cas clinique isolé, on peut conclure qu'il existe un effet très probable des CSM sur la guérison des lésions cutanées d'un chien atteint de pemphigus foliacé, préalablement réfractaires à tout traitement immunosuppresseur. Les CSM seraient alors utilisables en tant que traitement synergique voire potentialisant des corticoïdes, permettant ensuite le maintien en rémission avec seulement de faibles doses de ces derniers. Il s'agirait là d'un bon compromis à long terme, puisqu'ils sont peu coûteux et faciles d'administration, et des faibles doses permettent de minimiser leurs effets indésirables.

L'intérêt de l'utilisation de CSM surexprimant CTL4A est discutable et incertain, puisqu'il n'existe ici pas de groupe contrôle. Des études supplémentaires sont nécessaires pour établir la nécessité ou non d'utiliser des CSM potentialisées plutôt que des CSM naïves, ainsi que pour déterminer les doses et fréquences d'administration optimales.

Au terme de cette partie recensant et analysant les études et cas cliniques publiés rapportant l'utilisation de CSM en dermatologie du chien, force est de constater que les résultats énoncés sont globalement en faveur d'un impact positif des CSM. Il existe une réelle diversité des pathologies pour lesquelles l'administration de CSM peut être profitable, au chien, au vétérinaire et au propriétaire. Les CSM sont capables de rétablir des mécanismes physiologiques tels que la cicatrisation de plaies, et apportent des perspectives de traitements pour de nombreuses maladies auto-immunes, ou plus globalement pour des maladies multifactorielles complexes.

Les conclusions émanant de ces études sont à interpréter avec précaution, et de plus amples recherches sont nécessaires pour réellement caractériser les possibilités offertes par les CSM, ainsi que pour élaborer des protocoles d'application standardisés et optimisés. Un travail commun entre médecines humaine et vétérinaire, pourrait permettre de simplifier et accélérer ces démarches.

II) Perspectives : contribution de la médecine vétérinaire à la médecine humaine et réciproquement

1) Le chien, un modèle idéal pour l'étude d'affections dermatologiques humaines

Beaucoup d'essais précliniques sont réalisés sur des rongeurs, espèce de choix pour tout type de manipulation. Cependant, le chien semble être un modèle de recherche idéal, de grande taille, notamment dans le cas d'affection dermatologique. En effet, homme et chien sont soumis au même environnement. Il apparaît également de nombreuses similarités entre les systèmes immunitaires de ces deux espèces. Enfin, ils développent des maladies aux caractéristiques communes (ENCISO *et al.*, 2020b). Concernant ces pathologies analogues, et notamment celles à support génétique, ils existent des homologies au niveau de séquences de gènes bien plus vastes entre chien et homme, qu'entre rongeur et homme (HOFFMAN and DOW, 2016).

En plus de présenter ces similitudes, les animaux de compagnie et notamment les chiens représentent une population très importante, puisque les États-Unis comptent environ 70 millions de chiens et la France en compte environ 8 millions. Lorsqu'ils sont suivis par un vétérinaire, cette population est alors facilement accessible, et l'historique d'évolution des lésions est globalement bien documenté dans la majorité des cas (HOFFMAN and DOW, 2016).

L'ensemble de ces éléments font du chien un modèle plus qu'intéressant pour la mise en place de programmes de recherche, afin de développer des traitements chez le chien, dans le but de les appliquer chez l'Homme. Réciproquement, les moyens humains et financiers étant souvent plus importants en médecine humaine, et les chiens étant pathologiquement proches de l'Homme, il serait possible d'utiliser des traitements initialement commercialisés pour l'Homme, en dermatologie vétérinaire.

2) Analogies entre différentes pathologies communes à l'Homme et au chien, et utilisation des CSM

a) Les plaies cutanées

Le traitement des plaies peut parfois être un réel défi, tant en médecine humaine que vétérinaire. Chez l'Homme, les plaies chroniques sont fréquentes, et souvent associées à des facteurs favorisants, tel que le diabète, des défauts veineux, ou encore l'existence d'une pression continue dans le cas de personnes alitées. Une non-cicatrisation de plaie peut avoir un réel impact négatif sur la qualité de vie des patients, mener à une certaine invalidité, voir

à la mort en cas d'infections secondaires (OWCZARCZYK-SACZONEK *et al.*, 2017). Ces derniers propos sont également valables pour le chien.

Comme décrit dans la partie précédente, plusieurs études sont publiées concernant l'utilisation des CSM pour la prise en charge de plaies aiguës ou chroniques chez le chien, avec des résultats très encourageants (tableaux V, VI, VII, VIII).

Parallèlement, des études sont également réalisées chez l'Homme. De nombreuses méthodes d'administration des CSM, ou des leurs dérivés, sont également employées, telles que l'application topique, injectable (artériographie), la voie intraveineuse, ou encore *via* des supports adaptés. En effet, les chercheurs tentent d'élaborer des matériaux spécifiques, physiologiquement proches de la niche dont sont issues les CSM, afin d'optimiser leur culture puis d'améliorer la rétention cellulaire après application (OWCZARCZYK-SACZONEK *et al.*, 2017).

Ces recherches ont lieu en parallèle, et il n'est pas possible de savoir si les futures avancées prédomineront en médecine humaine ou en médecine vétérinaire. Quoi qu'il en soit, toute découverte semble potentiellement applicable à l'une ou l'autre de ces espèces. Afin que cela soit profitable au plus grand nombre de patients, HOFFMAN et DOW (2016) appellent à une approche plus multidisciplinaire concernant les publications et l'accès à la littérature.

b) La dermatite atopique

La dermatite atopique est également une affection pour laquelle le chien a été suggéré en tant que modèle pour l'Homme. Bien que la présentation clinique ne soit pas exactement identique, celle-ci résulte, dans les deux cas, d'une réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T, d'un défaut de la barrière cutanée, ainsi que d'un phénomène allergique (GEDON and MUELLER, 2018).

Des études évaluant l'efficacité des CSM pour le traitement de la DA canine ont été publiées (tableau X), et la majorité énonce des résultats satisfaisants.

Des recherches en médecine humaine sont menées dans le même temps, et force est de constater qu'il s'agit en grande majorité de l'application des CSM sur des modèles expérimentaux murins. À ce jour, il existe seulement un essai clinique (phase I/IIa) publié chez l'Homme, limité par une petite population, et l'absence de groupe placebo ou contrôle (DALTRO *et al.*, 2020).

Il apparaît alors évident que l'utilisation du chien en tant que modèle, dans le cadre de l'utilisation de CSM, représente un intérêt majeur pour l'avancée des recherches concernant la DA humaine.

c) Les pemphigus

La famille des pemphigus humains regroupe des dermatoses auto-immunes bulleuses, résultant d'un phénomène d'acantholyse. Cette classification est la même pour les chiens (OLIVRY, 2006). La présentation clinique est légèrement différente puisque les lésions primaires sont, chez le chien, des pustules évoluant en érosions, tandis qu'il s'agit de vésicules évoluant en ulcères chez l'Homme. Cela s'explique par une variation de la pathogenèse, entraînant une variation de la profondeur de la ligne de clivage au niveau de l'épiderme. Chez l'Homme, le pemphigus vulgaire est le plus fréquent, et les auto-anticorps sont dirigés contre la desmogléine 1. Chez le chien, le pemphigus foliacé est le plus fréquent, et les auto-anticorps sont dirigés contre la desmocolline 1 (LAFFORT, 2012).

La littérature recense un cas clinique décrivant le succès de l'utilisation des CSM dans le cas d'un pemphigus foliacé canin (tableau XIII), aucune en ce qui concerne l'Homme. Bien que la cible des auto-anticorps ne soit pas la même, les CSM influencent, *a priori*, la réponse immunitaire globale ainsi que la population de LB. Il serait donc intéressant de mener d'autres études d'administration de CSM pour le traitement d'individus atteints de pemphigus, par exemple en utilisant le chien comme modèle.

d) Les fistules périanales et la maladie de Crohn

La maladie de Crohn est une maladie chronique inflammatoire des intestins (FERRER *et al.*, 2016). Environ un tiers des patients atteints développent des fistules cutanées ou recto-cutanées en région périanales. Cet aspect de la maladie ressemble grandement aux fistules périanales décrites chez le chien, en ce qui concerne les symptômes, l'immunopathologie, et également la gestion difficile à l'aide des traitements actuels, souvent associée à des défauts de cicatrisation ou des rechutes fréquentes (HOFFMAN and DOW, 2016). En ce qui concerne la prédisposition génétique, il se trouve que le gène CTNND2 a été identifié comme étant associé à la maladie de Crohn chez l'Homme, ainsi qu'aux fistules périanales chez le chien (CAIN, 2019).

Une étude publiée chez le chien (tableau XII) rapporte des résultats encourageants à la suite de l'utilisation de CSM chez six chiens atteints de fistules périanales. Alors que ces données auraient pu encourager les chercheurs à utiliser le chien en tant que modèle expérimental, l'évolution rapide de l'étude des CSM a permis d'aboutir à la mise sur le marché, en 2020, d'un traitement spécifique pour les fistules associées à la maladie de Crohn chez l'Homme : le darvadstrocel ou Alofisel®. Ce médicament se présente sous la forme d'une préparation injectable, permettant de traiter jusqu'à trois fistules à la fois, par injection intra-lésionnelle, avec une dose totale de 120 millions de CSM. Les CSM sont d'origine adipeuse, obtenues par liposuction de tissu subdermal humain (MENG and BAUMGART, 2020).

Il serait alors intéressant, dans le cadre de la « cascade », d'étudier l'utilisation d'un tel produit pour le traitement des fistules périanales chez le chien.

e) L'épidermolyse bulleuse

L'épidermolyse bulleuse est un groupe de génotodermatoses affectant environ 500 000 personnes dans le monde. Des mutations au niveau de gènes codant pour des protéines de la membrane basale ont pour effet un défaut au niveau de la jonction dermo-épidermique, à l'origine de la formation de bulles, voire de plaies chroniques qui ne guérissent pas. Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun traitement permettant de restaurer l'intégrité fonctionnelle et morphologique de la peau, ce qui a un impact majeur sur la qualité de vie des patients (RYUMINA *et al.*, 2021). L'épidermolyse bulleuse dystrophique est due à une mutation au niveau d'un gène codant pour le collagène de type VII, chez l'Homme (LEE *et al.*, 2021), mais également chez le chien. En effet, le chien, et plus particulièrement le Golden Retriever, est un modèle spontané de cette maladie pour l'Homme (GACHE *et al.*, 2011).

De nombreuses études sont décrites chez l'Homme concernant principalement l'administration de CSM issues de moelle osseuse, ou plus récemment de CSM issues du sang de cordon ombilical (LEE *et al.*, 2021). Aucune étude n'est publiée à ce jour chez le chien, mais il est intéressant de savoir que celui-ci peut servir de modèle pertinent, éventuellement pour la mise en place de phases de test de futures formulations, plus facilement réalisables chez le chien que chez l'Homme.

f) Le lupus érythémateux systémique

Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune chronique, à l'origine de lésions sur différents organes. Des facteurs génétiques et environnementaux sont évoqués comme possiblement à l'origine d'une perte d'auto-tolérance et d'une activation excessive du système immunitaire (XU, 2018). Cette pathologie, rare, est également décrite chez le chien, exprimant diverses lésions d'organes, dont une dermatite cutanéomuqueuse érythémateuse et photosensible (PIN, 2019). Comme pour de nombreuses autres maladies auto-immunes, les traitements actuels présentent de multiples effets secondaires, et demeurent parfois inefficaces (XU, 2018).

Face à de tels enjeux, plusieurs chercheurs ont publié des études rapportant l'utilisation, avec succès, de CSM chez des patients (humains) atteints de lupus érythémateux systémique. Bien que de nombreuses questions demeurent sans réponse, les CSM apparaissent comme un outil prometteur pour la prise en charge de cette maladie (XU, 2018), et on peut raisonnablement espérer bénéficier des avancées futures dans ce domaine, en médecine vétérinaire, pour le traitement de chiens.

g) Autres maladies esthétiques

D'autres maladies, chez l'Homme, présentent de bonnes chances de voir se développer un traitement à base de CSM dans les années à venir. Cela concerne par exemple le vitiligo, ou encore l'alopecie (OWCZARCZYK-SACZONEK *et al.*, 2017). Ces pathologies sont également rencontrées chez le chien (*alopecia areata* et vitiligo). Il ne s'agit cependant que de maladies esthétiques rares, sans impact majeur pour cette espèce (PIN, 2019).

La mise en perspective de maladies dermatologiques communes à l'Homme et au chien, vis-à-vis de l'utilisation des CSM en tant que traitement, permet de constater que chaque médecine, humaine ou vétérinaire, peut être profitable à l'autre. En effet, le chien est un modèle expérimental de choix, pouvant considérablement contribuer au développement de futurs protocoles thérapeutiques à base de CSM, tandis que le développement de médicaments chez l'Homme, représentant un marché plus attractif pour les laboratoires, peut s'avérer adaptable chez le chien, dans le cadre de la « cascade de prescription ».

CONCLUSION

Le but de ce travail, bibliographique, était de savoir si les cellules souches mésenchymateuses (CSM), déjà utilisées dans certains domaines de la médecine vétérinaire, pouvaient avoir un intérêt thérapeutique en dermatologie du chien et s'il existait des études publiées à ce sujet.

Nous avons, d'abord, rappelé les caractéristiques des CSM, ainsi que leur rôle, clé, de chef d'orchestre de la physiologie et de l'homéostasie cutanée.

Nous nous sommes, ensuite, intéressés aux méthodes de transplantation des CSM chez le chien, non sans nous interroger sur leur faisabilité, leur innocuité et les nombreux défis que cette utilisation soulève. Nous avons constaté qu'il est plutôt aisé d'obtenir des CSM à partir de différents tissus. De plus, les CSM sont des cellules bien tolérées par l'individu auquel elles sont administrées, capables de communiquer et d'interagir avec les cellules de leur nouvel hôte, notamment, avec le système immunitaire. Leurs propriétés immunomodulatrices étant, effectivement, leur principal intérêt thérapeutique, en particulier dans les affections cutanées du chien.

Les études et les cas cliniques publiés, relatant l'utilisation de CSM en dermatologie, sont en faible nombre, ont été réalisés sur des individus isolés ou de petites populations et selon des protocoles multiples. Ces éléments rendent les comparaisons des études difficiles, voire impossibles, et empêchent d'en tirer des conclusions. Cependant, nous avons constaté la grande diversité des affections auxquelles les CSM peuvent être destinées, comme la cicatrisation des plaies, la dermatite atopique, le syndrome hépato-cutané, la furonculose anale ou le pemphigus foliacé. Autant d'affections dont l'étiologie est souvent complexe, méconnue ou pour lesquelles les vétérinaires se heurtent à des impasses thérapeutiques ou de trop nombreux effets indésirables des traitements conventionnels.

Bien que des études supplémentaires soient nécessaires, les CSM apparaissent, bel et bien, comme une solution unique à de multiples maladies. De plus, en raison du grand nombre d'affections cutanées communes au chien et à l'Homme, il ne fait aucun doute que les futures avancées de cette thérapie innovante, seront profitables à la fois à la médecine vétérinaire et à la médecine humaine, illustrant alors parfaitement le concept de « One Health », une seule santé.

BIBLIOGRAPHIE

ABOU-KHALIL, R., PARTRIDGE, T. et CHAZAUD, B. (2010). Les cellules du muscle chantant en chœur une berceuse pour cellules souches [en ligne]. *Médecine/sciences n°5*, volume 26, 454-456.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/medsci/2010265454> [consulté le 25 mars 2021].

ALBERTS, B., BRAY, D., HOPKIN, K., JOHNSON, A., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. et WALTER, P. (2012). *L'essentiel de la biologie cellulaire (3ème édition)*. Flammarion médecine sciences. 107-115.

ALCAYAGA-MIRANDA, F., CUENCA, J. and KHOURY, M. (2017). Antimicrobial Activity of Mesenchymal Stem Cells: Current Status and New Perspectives of Antimicrobial Peptide-Based Therapies [en ligne]. *Frontiers in Immunology*, volume 8, article 339.

Disponible sur : <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00339> [consulté le 17 septembre 2021].

ALONSO, L. and FUCHS, E. (2003). Stem cells of the skin epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 100, supplement 1, 11830-11835.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1073/pnas.1734203100> [consulté le 8 mars 2021].

ANSES. *Résumé des caractéristiques du produit: Atopica 50 mg* [en ligne]. URL : <http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=ATOPICA+50+MG> [consulté le 7 octobre 2021].

AYALA-CUELLAR, A. P., KANG, J-H., JEUNG, E-B. and CHOIE, K-C. (2019). Roles of mesenchymal stem cells in tissue regeneration and immunomodulation [en ligne]. *Biomolecules & Therapeutics*, volume 27, number 1, 25-33.

Disponible sur : <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.260> [consulté le 8 mars 2021].

BAHAMONDES, F., FLORES, E., CATTANEO, G., BRUNA, F. and CONGET, P. (2017). Omental adipose tissue is a more suitable source of canine Mesenchymal stem cells [en ligne]. *BMC Veterinary Research*, volume 13, article number 166.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1053-0> [consulté le 31 août 2021].

BEN-AMI, E., BERRIH-AKNIN, S. and MILLER, A. (2011). Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases [en ligne]. *Autoimmunity Reviews*, volume 10, issue 7, 410-415.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.01.005> [consulté le 5 juillet 2021].

BERGLUND, A.K., FORTIER, L.A., ANTCZAK, D.F. and SCHNABEL, L.V. (2017). Immunoprivileged no more: measuring the immunogenicity of allogeneic adult mesenchymal stem cells [en ligne]. *Stem Cell Research & Therapy*, volume 8, issue 1, article 288.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0742-8> [consulté le 24 juillet 2021].

BLANPAIN, C. (2007). Importance de la voie de signalisation Wnt/b-caténine dans l'identité, l'activation et la différenciation des cellules souches épidermiques [en ligne]. *Medecine/sciences n°1*, volume 23, 34-36.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/medsci/200723134> [consulté le 10 avril 2021].

BLANPAIN, C. and FUCHS, E. (2009). Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin [en ligne]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, volume 10, number 3, 207–217.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1038/nrm2636> [consulté le 8 mars 2021].

BORDEAU, W. (2005). Un cas de dermatite nécrolytique superficielle [en ligne]. *Le Point Vétérinaire*, numéro 255.

Disponible sur : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-255/un-cas-de-dermatite-necrolytique-superficielle.html> [consulté le 6 octobre 2021].

CADIERGUES, M.C., DELVERDIER, M., DIQUELOU, A., DOSSIN, O. et FRANC, M. (2000). Le syndrome hépato-cutané : étude d'un cas et synthèse des données actuelles chez le chien. *Revue de Médecine Vétérinaire*, volume 151, numéro 11, 1047-1052.

CAIN, C.L. (2019). Canine Perianal Fistulas: Clinical Presentation, Pathogenesis, and Management [en ligne]. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, volume 49, issue 1, 53-65.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.08.006> [consulté le 8 octobre 2021].

CAPLAN, A.I. (2017). Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! [en ligne]. *Stem Cells Translational Medicine*, volume 6, issue 6, 1445-1451.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0051> [consulté le 16 septembre 2021].

CAROZZO, C. (2017). Les plaies. *Cours de propédeutique et chirurgie générale*, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon.

CHARBORD, P. et CASTEILLA, L. (2011). La biologie des cellules souches mésenchymateuses d'origine humaine [en ligne]. *Médecine/sciences*, volume 27, numéro 3, 261-267.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/medsci/2011273261> [consulté le 8 février 2021].

CHEN, C.L., HUANG, W.Y., WANG, E.H.C., TAI, K.Y. and LIN, S.J. (2020). Functional complexity of hair follicle stem cell niche and therapeutic targeting of niche dysfunction for hair regeneration [en ligne]. *Journal of Biomedical Science*, volume 27, article number 43.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s12929-020-0624-8> [consulté le 19 octobre 2021].

CHENAU, J., MICHELLAND, S. et SEVE, M. (2008). Le sécrétome : définitions et intérêt biomédical [en ligne]. *La Revue de Médecine Interne*, volume 29, numéro 7, 606-608.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2007.12.011> [consulté le 18 mai 2021].

CRAIG, M. (2013). Disease facts: pemphigus foliaceus in the dog and cat [en ligne]. *Companion Animal*, volume 18, issue 8, 374 - 377.
Disponible sur : <https://doi.org/10.12968/coan.2013.18.8.374> [consulté le 8 octobre 2021].

DALTRO, S.R.T., MEIRA, C.S., SANTOS, I.P., RIBEIRO DOS SANTOS, R. and SOARES, M.B.P. (2020). Mesenchymal Stem Cells and Atopic Dermatitis: A Review [en ligne]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, volume 8, article 326.
Disponible sur : <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00326> [consulté le 11 octobre 2021].

DE OLIVEIRA RAMOS, F., MALARD, P.F., BRUNEL, H.D.S.S., PALUDO, G.R., DE CASTRO, M.B., DA SILVA, P.H.S. and DA CUNHA BARRETO-VIANNA, A.R. (2020). Canine atopic dermatitis attenuated by mesenchymal stem cells [en ligne]. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, volume 7, issue 3, 554-565.
Disponible sur : <http://doi.org/10.5455/javar.2020.g453> [consulté le 26 septembre 2021].

DEREURE, O. (2012). Cellules souches en dermatologie : concepts, identification et intérêt [en ligne]. *Annales de dermatologie et de vénéréologie* 139, 568-578.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.annder.2012.03.018> [consulté le 8 mars 2021].

DEVINE, S.M., COBBS, C., JENNINGS, M., BARTHOLOMEW, A. and HOFFMAN, R. (2003). Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates [en ligne]. *Blood*, volume 101, number 8, 2999-3001.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1182/blood-2002-06-1830> [consulté le 17 septembre 2021].

DIAS, I.E., PINTO, P.O., BARROS, L.C., VIEGAS, C.A., RIBEIRO DIAS, I. and CARVALHO, P.P. (2019). Mesenchymal stem cells therapy in companion animals: useful for immune-mediated diseases? [en ligne]. *BMC Veterinary Research*, 15:358.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2087-2> [consulté le 5 juillet 2021].

DINULOVIC, I., FURRER, R. and HANDSCHIN, C. BIRBRAIR Alexander (Ed.) Chapter 8 Plasticity of the Muscle Stem Cell Microenvironment. In: IRUN R. COHEN, I.R., LAMBRIS, J.D., PAOLETTI, R., REZAEI, N (dir.) (2017). *Stem Cell Microenvironments and Beyond, Advances in Experimental Medicine and Biology 1041*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG, 141-169.

DOMINICI, M., LE BLANC, K., MUELLER, I., SLAPER-CORTENBACH, I., MARINI, F.C., KRAUSE, D.S., DEANS, R.J., KEATING, A., PROCKOP, D.J. and HORWITZ, E.M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [en ligne]. *Cytotherapy n°4*, volume 8, 315-317.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1080/14653240600855905> [consulté le 8 mars 2021].

EL-TOOKHY, O.S., SHAMAA, A.A., SHEHAB, G.G., ABDALLAH, A.N. and AZZAM, O.M. Histological Evaluation of Experimentally Induced Critical Size Defect Skin Wounds Using Exosomal Solution of Mesenchymal Stem Cells Derived Microvesicles [en ligne]. *International Journal of Stem Cells*, volume 10, number 2, 144-153.

Disponible sur : <https://doi.org/10.15283/ijsc17043> [consulté le 3 octobre 2021].

ENCISO, N., AMIEL, J., PANDO, J. and ENCISO, J. (2019). Multidose intramuscular allogeneic adipose stem cells decrease the severity of canine atopic dermatitis: A pilot study [en ligne]. *Veterinary World*, volume 12, number 11, 1747-1754.

Disponible sur : <https://www.doi.org/10.14202/vetworld.2019.1747-1754> [consulté le 23 août 2021].

ENCISO, N., AVEDILLO, L., FERMIN, M.L., FRAGIO, C. and TEJERO, C. (2020a). Regenerative potential of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal cells in canine cutaneous wounds [en ligne]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, volume 62, issue 1, article number 13.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13028-020-0511-z> [consulté le 27 septembre 2021].

ENCISO, N., AVEDILLO, L., FERMIN, M.L., FRAGIO, C. and TEJERO, C. (2020b). Cutaneous wound healing: canine allogeneic ASC therapy [en ligne]. *Stem Cell Research & Therapy*, volume 11, issue 1, article number 261.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01778-5> [consulté le 30 septembre 2021].

ENCISO, N., OSTRONOFF, L.L.K., MEJIAS, G., LEON, L.G., FERMIN, M.L., MERINO, E., FRAGIO, C., AVEDILLO, L. and TEJERO, C. Stem cell factor supports migration in canine mesenchymal stem cells [en ligne]. *Veterinary Research Communications*, volume 42, issue 1, 29-38. Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9705-x> [consulté le 27 septembre 2021].

EUROPEAN MEDICINES AGENCY'S¹. *First stem cell-based veterinary medicine recommended for marketing authorization* [en ligne]. URL : <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-stem-cell-based-veterinary-medicine-recommended-marketing-authorisation> [consulté le 23 septembre 2021].

EUROPEAN MEDICINES AGENCY'S². Stem cell-based products for veterinary use: specific questions on target animal safety to be addressed by the Ad Hoc Expert Group on Veterinary Novel Therapies (ADVENT) [en ligne]. URL : <https://www.ema.europa.eu/en/stem-cell-based-products-veterinary-use-specific-questions-target-animal-safety-be-addressed-ad-hoc> [consulté le 22 septembre 2021].

FERNANDES, K.J.L., MCKENZIE, I.A., MILL, P., SMITH, K.M., AKHAVAN, M., BARNABE-HEIDER, F., BIERNASKIE, J., JUNEK, A., KOBAYASHI, N.R., TOMA, J.G., KAPLAN, D.R., LABOSKY, P.A., RAFUSE, V., HUI C.C. and MILLER, F.D. (2004). A dermal niche for multipotent adult skin-derived precursor cells [en ligne]. *Nature cell biology*, volume 6, numéro 11. Disponible sur : <https://doi.org/10.1038/ncb1181> [consulté le 8 mars 2021].

FERRER, L., KIMBREL, E.A., LAM, A., FALK, E.B., ZEWE, C., JUOPPERI, T., LANZA, R. and HOFFMAN, A. (2016). Treatment of perianal fistulas with human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells: a canine model of human fistulizing Crohn's disease [en ligne]. *Regenerative Medicine*, volume 11, number 1, 33-43. Disponible sur : <https://doi.org/10.2217/rme.15.69> [consulté le 23 septembre 2021].

FORTUNEL, N.O. et MARTIN, M.T. (2008). Cellules souches de l'épiderme interfolliculaire humain : phénotypes et potentialités [en ligne]. *Journal de la société de biologie*, volume 202, numéro 1, 55-65. Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/jbio:2008007> [consulté le 11 mars 2021].

GACHE, Y., PIN, D., GAGNOUX-PALACIOS, L., CAROZZO, C. and MENEGUZZI, G. (2011). Correction of dog dystrophic epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal autografts [en ligne]. *Journal of Investigative Dermatology*, volume 131, issue 10, 2069-2078. Disponible sur : <https://doi.org/10.1038/jid.2011.172> [consulté le 27 septembre 2021].

GEDON, N.K.Y. and MUELLER, R.S. (2018). Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners [en ligne]. *Clinical and Translational Allergy*, volume 8, article number 41.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13601-018-0228-5> [consulté le 5 octobre 2021].

GUASCH, G. et BLANPAIN, C. (2004). Les cellules souches organisent leur niche [en ligne]. *Médecine/sciences n°3*, volume 20, 265-267.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/medsci/2004203265> [consulté le 8 mars 2021].

GUERCIO, A., DI BELLA, S., CASELLA, S., DI MARCO, P., RUSSO, C. and PICCIONE, G. (2013). Canine mesenchymal stem cells (MSCs): characterization in relation to donor age and adipose tissue-harvesting site [en ligne]. *Cell Biology International*, volume 37, issue 8, 789-798.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/cbin.10090> [consulté le 1 août 2021].

GUSHIKEN, L.F.S., BESERRA, F.P., BASTOS, J.K., JACKSON, C.J. and PELLIZZON, C.H. (2021). Cutaneous Wound Healing: An Update from Physiopathology to Current Therapies [en ligne]. *Life*, volume 11, issue 7, article 665.

Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/life11070665> [consulté le 1 octobre 2021].

HAKKI, S.S., TURAC, G., BOZKURT, S.B., KAYIS, S.A., HAKKI, E.E., SAHIN, E., SUBASI, C. and KARAOZ, E. (2017). Comparison of Different Sources of Mesenchymal Stem Cells: Palatal versus Lipoaspirated Adipose Tissue [en ligne]. *Cells Tissues Organs*, volume 204, number 5-6, 228-240.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1159/000478998> [consulté le 31 août 2021].

HALL, M.N., ROSENKRANTZ, W.S., HONG, J.H., GRIFFIN, C.E. and MENDELSON, C.M. (2010). Evaluation of the potential use of adipose-derived mesenchymal stromal cells in the treatment of canine atopic dermatitis: a pilot study [en ligne]. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, volume 11, issue 2, E1-14.

Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20957613/> [consulté le 24 septembre 2021].

HALLIWELL, R. (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy [en ligne]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, volume 114, issues 3-4, 207-208.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.08.013> [consulté le 5 octobre 2021].

HAN, S.M., KIM, H.T., KIM, K.W., JEON, K.O., SEO, K.W., CHOI, E.W. and YOU, H.Y. (2015). CTLA4 overexpressing adipose tissue-derived mesenchymal stem cell therapy in a dog with steroid-refractory pemphigus foliaceus [en ligne]. *BMC Veterinary Research*, volume 11, article number 49 (2015).

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0371-3> [consulté le 26 septembre 2021].

HARMAN, R. J. (2013). Stem cells in veterinary dermatology [en ligne]. *Veterinary dermatology*, volume 24, issue 1, 101-107.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/vde.12000> [consulté le 8 mars 2021].

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ. *Les pansements : Indications et utilisations recommandées - Fiche BUTS* [en ligne]. URL : https://www.has-sante.fr/jcms/r_1438004/fr/les-pansements-indications-et-utilisations-recommandees-fiche-buts [consulté le 3 octobre 2021].

HÉ, D. (2006). *Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat*. Thèse de doctorat vétérinaire. Toulouse : Université Paul Sabatier, 234 p.

HENSEL, P., SANTORO, D., FAVROT, C., HILL, P. and GRIFFIN, C. (2015). Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification [en ligne]. *BMC Veterinary Research*, volume 11, article number 196.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0515-5> [consulté le 6 octobre 2021].

HOFFMAN, A.M., and DOW, S.W. (2016). Concise Review: Stem Cell Trials Using Companion Animal Disease Models [en ligne]. *Stem Cells*, volume 34, issue 7, 1709-1729.

Disponible sur : <http://dx.doi.org/10.1002/stem.2377> [consulté le 17 juin 2021].

HOOGDUIJN, M.J., DE WITTE, S.F.H., LUK, F., VAN DEN HOUT-VAN VROONHOVEN, M.C.G.N., IGNATOWICZ, L., CATAR, R., STRINI, T., KOREVAAR, S.S., VAN IJCKEN, W.F.J., BETJES, M.G.H., FRANQUESA, M., MOLL, G. and BAAN, C.C. (2016). Effects of Freeze-Thawing and Intravenous Infusion on Mesenchymal Stromal Cell Gene Expression [en ligne]. *Stem Cells and Development*, volume 25, number 8, 586-597.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1089/scd.2015.0329> [consulté le 17 septembre 2021].

KANG M.H. and PARK, H.M. (2014). Evaluation of adverse reactions in dogs following intravenous mesenchymal stem cell transplantation [en ligne]. *Acta Veterinaria Scandinavica*, volume 56, issue 1, article 16, 1-8.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/1751-0147-56-16> [consulté le 13 août 2021].

KANG M.H. and PARK, H.M. (2020). Challenges of stem cell therapies in companion animal practice [en ligne]. *Journal of Veterinary Science*, volume 21, number 3, article 42.
Disponible sur : <https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e42> [consulté le 17 juin 2021].

KHAN, I.U., YOON, Y., CHOI, K.U., JO, K.R., KIM, N., LEE, E., KIM, W.H. and KWEON, O.K. (2019). Therapeutic Effects of Intravenous Injection of Fresh and Frozen Thawed HO-1-Overexpressed Ad-MSCs in Dogs with Acute Spinal Cord Injury [en ligne]. *Stem Cells International*, volume 2019, article ID 8537541.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2019/8537541> [consulté 19 septembre 2021].

KIM, J.W., LEE, J.H., LYOO, Y.S., JUNG, D.I. and PARK, H.M. (2013). The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds [en ligne]. *Veterinary dermatology*, volume 24, issue 2, 242-253.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/vde.12011> [consulté le 22 juin 2021].

LAFFORT, C. (2012). La desmocolline 1, un auto-allergène majeur du pemphigus foliacé canin ? [en ligne]. *Le Point Vétérinaire expert canin*, numéro 329.
Disponible sur : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article-canin/n-329/la-desmocolline-1-un-auto-allergene-majeur-du-pemphigus-foliace-canin.html> [consulté le 10 octobre 2021].

LAROUSSE¹. *Brûlure* [en ligne].
URL : <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/br%C3%BBlure/11689> [consulté le 1 octobre 2021].

LAROUSSE². *Mésenchyme* [en ligne].
URL : <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/m%C3%A9senchyme/14515> [consulté le 15 mars 2021].

LAVKER, R.M. and SUN, T.T. (2000). Epidermal stem cells: properties, markers, and location. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 97, number 25, 13473-13475.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1073/pnas.250380097> [consulté le 8 mars 2021].

LEE, S.E., LEE, S.J., KIM, S.E., KIM, K., CHO, B., ROH, K. and KIM, S.C. (2021). Intravenous allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell therapy in recessive dystrophic epidermolysis bullosa patients [en ligne]. *The Journal of Clinical Investigation*, volume 6, issue 2, e143606.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1172/jci.insight.143606> [consulté le 25 septembre 2021].

LE GALL, J.Y. et ARDAILLOU, R. (2010). Cellules souches et perspectives thérapeutiques [en ligne]. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, tome 194, numéro 8, 1601-1609. Disponible sur : <https://www.academie-medecine.fr/10-12-cellules-souches-et-perspectives-therapeutiques/> [consulté le 9 avril 2021].

LEIBACHER, J. and HENSCHLER, R. (2016). Biodistribution, migration and homing of systemically applied mesenchymal stem/stromal cells [en ligne]. *Stem Cell Research & Therapy*, volume 7, issue 7, 1-12. Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0271-2> [consulté le 8 août 2021].

LOMBARDI, F., PALUMBO, P., AUGELLO, F.R., CIFONE, M.G., CINQUE, B., GIULIANI, M. (2019). Secretome of Adipose Tissue-Derived Stem Cells (ASCs) as a Novel Trend in Chronic Non-Healing Wounds: An Overview of Experimental In Vitro and In Vivo Studies and Methodological Variables [en ligne]. *International Journal of Molecular Sciences*, volume 20, issue 15, article number 3721. Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/ijms20153721> [consulté le 22 mars 2021].

MADDENS, S., VIGUIER, E. et CADORE, J.L. (2018). Les cellules stromales mésenchymateuses : 2001-2018 - état des lieux d'une innovation thérapeutique en santé animale et point de vue de l'industrie [en ligne]. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, tome 171, numéro 3, 202-215. Disponible sur : <https://doi.org/10.4267/2042/69830> [consulté le 7 septembre 2021].

MARSELLA, R. (2021). Advances in our understanding of canine atopic dermatitis [en ligne]. *Veterinary Dermatology*. Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/vde.12965> [consulté le 5 octobre 2021].

MARTINELLO, T., BRONZINI, I., MACCATROZZO, L., MOLLO, A., SAMPAOLESI, M., MASCARELLO, F., DECAMINADA, M., PATRUNO, M. (2011). Canine adipose-derived-mesenchymal stem cells do not lose stem features after a long-term cryopreservation [en ligne]. *Research in Veterinary Science*, volume 91, issue 1, 18-24. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.07.024> [consulté le 4 septembre].

MAZINI, L., ROCHETTE, L., ADMOU, B., AMAL, S. and MALKA, G. (2020). Hopes and Limits of Adipose-Derived Stem Cells (ADSCs) and Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in Wound Healing [en ligne]. *International Journal of Molecular Sciences*, volume 21, issue 4, 1306-1324. Disponible sur : <https://doi.org/10.3390/ijms21041306> [consulté le 26 décembre 2020].

MÉDECINE SORBONNE UNIVERSITÉ. *Chapitre 19 – La cicatrisation* [en ligne]. URL : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/orthopedie/polyortho/POLY.Chp.19.html#:~:text=Ce%20ph%C3%A9nom%C3%A8ne%20de%20r%C3%A9paration%20tissulaire,cutan%C3%A9%20se%20envisag%C3%A9%20ci%20d%20dessous> [consulté le 29 avril 2021].

MENG, Z.W. and BAUMGART, D.C. (2020). Darvadstrocel for the treatment of perianal fistulas in Crohn's disease [en ligne]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, volume 14, issue 6, 405-410.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1080/17474124.2020.1764349> [consulté le 25 septembre 2021].

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION. Ressources génétiques : l'application du protocole de Nagoya en France [en ligne]. URL : <https://agriculture.gouv.fr/ressources-genetiques-lapplication-du-protocole-de-nagoya-en-france> [consulté le 22 septembre 2021].

MITCHELL, A., RIVAS, K.A, SMITH, R. and WATT, A.E. (2015). Cryopreservation of equine mesenchymal stem cells in 95% autologous serum and 5% DMSO does not alter post-thaw growth or morphology *in vitro* compared to fetal bovine serum or allogeneic serum at 20 or 95% and DMSO at 10 or 5 [en ligne]. *Stem Cell Research and Therapy*, volume 6, issue 1, article 231.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0230-y> [consulté le 18 septembre 2021].

MOORE, K.A. and LEMISCHKA, I.R. (2006). Stem cells and their niches [en ligne]. *Science*, volume 311, issue 5769, 1880-1885.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1126/science.1110542> [consulté le 16 mars 2021].

MORGAN, B.A. (2014). The Dermal Papilla: An Instructive Niche for Epithelial Stem and Progenitor Cells in Development and Regeneration of the Hair Follicle [en ligne]. *Cold Spring Harbour Perspectives in Medicine*, volume 4, issue 7, number 015180.

Disponible sur : <https://dx.doi.org/10.1101%2Fcshperspect.a015180> [consulté le 11 mars 2021].

MÜLLER, S., KULENKAMPPF, E. and WOLFRUM, C. (2016). Adipose tissue stem cells [en ligne]. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 251-263.

Disponible sur : https://doi.org/10.1007/164_2015_13 [consulté le 9 mars 2021].

NAM, A., HAN, S.M., GO, D.M., KIM, D.Y., SEO, K.W. and YOUN, H.Y. (2017). Long-Term Management with Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells and Conventional Treatment in a Dog with Hepatocutaneous Syndrome [en ligne]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, volume 31, issue 5, 1514-1519.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/jvim.14798> [consulté le 25 septembre 2021].

NANJAPPA, M.D., AHMAD, R.A., AMARPAL, GUGJOO, M.B., PAWDE, A.M., KINJAVEDKAR, P., AITHAL, H.P., ANSARI, M., CHANDRA, V. and SHARMA, G.T. (2014). Caudal superficial epigastric axil pattern flap and stem cell therapy for the management of large wound on medial aspect of thigh in a dog [en ligne]. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, volume 2, issue 3, 188 - 191.

NIEZGODA, A., NIEZDODA, P., NOWOWIEJSKA, L., BIALECKA, A., MECINSKA-JUNDZILL, K., ADAMSKA, U. and CZAJKOWSKI, R. (2017). Properties of skin stem cells and their potential clinical applications in modern dermatology [en ligne]. *European Journal of Dermatology*, volume 27, issue 3, 227-236.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1684/ejd.2017.2988> [consulté le 18 mai 2021].

NISHIMURA, E.K. (2011). Melanocyte stem cells: a melanocyte reservoir in hair follicles for hair and skin pigmentation [en ligne]. *Pigment Cell and Melanoma Research*, volume 24, issue 3, 401-410.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1755-148x.2011.00855.x> [consulté le 19 octobre 2021].

OLIVRY, T. (2006). A review of autoimmune skin diseases in domestic animals: I - superficial pemphigus [en ligne]. *Veterinary Dermatology*, volume 17, issue 5, 291-305.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2006.00540.x> [consulté le 9 octobre 2021].

OLIVRY, T., SARIDOMICHELAKIS, M., NUTTAL, T., BENSIGNOR, E., GRIFFIN, C.E. and HILL, P.B. (2014). Validation of the Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI)-4, a simplified severity scale for assessing skin lesions of atopic dermatitis in dogs [en ligne]. *Veterinary Dermatology*, volume 25, issue 2, 77-85.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/vde.12107> [consulté le 7 octobre 2021].

OWCZARCZYK-SACZONEK, A., WOCIOR, A., PLACEK, W., MAKSYMOWICZ, W. and WOJTKIEWICZ, J. (2017). The Use of Adipose-Derived Stem Cells in Selected Skin Diseases (Vitiligo, Alopecia, and Nonhealing Wounds) [en ligne]. *Stem Cells International*, volume 2017, article ID 4740709,1-11.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2017/4740709> [consulté le 27 septembre 2021].

PANTELEYEV, A.A. (2018). Functional anatomy of the hair follicle: The Secondary Hair Germ [en ligne]. *Experimental Dermatology*, volume 27, 701–720.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/exd.13666> [consulté le 9 avril].

PEREZ-MERINO, E.M., USON-CASAUS, J.M., ZARAGOZA-BAYLE, C., DUQUE-CARRASCO, J., MARINAS-PARDOS, L., HERMIDO-PRieto, M., BARRERA-CHACON, R. and GUALTIERI, M. (2015). Safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for treatment of dogs with inflammatory bowel disease: Clinical and laboratory outcomes [en ligne]. *The Veterinary Journal*, volume 206, issue 3, 385-390.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.003> [consulté le 22 juin 2021].

PHELPS, J., SANATI-NEZHAD, A., UNGRIN, M., DUNCAN, N.A. and SEN, A. (2018). Bioprocessing of Mesenchymal Stem Cells and Their Derivatives: Toward Cell-Free Therapeutics [en ligne]. *Stem Cells International*, volume 2018, 1-23.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2018/9415367> [consulté le 22 mars 2021].

PIN, D. (2018). Les dermatoses par hypersensibilité du chien. *Cours de dermatologie*, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon.

PIN, D. (2019). Les principales dermatoses auto-immunes du chien, du chat et du cheval. *Cours de dermatologie*, VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon.

PLANT, J.D., GORTEL, K., KOVALIK, M., POLISSAR, N.L. and NERADILEK, M.B. (2012). Development and validation of the Canine Atopic Dermatitis Lesion Index, a scale for the rapid scoring of lesion severity in canine atopic dermatitis [en ligne]. *Veterinary Dermatology*, volume 23, issue 6, 515-e103.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01113.x> [consulté le 7 octobre 2021].

PROST-SQUARCIONI, C. (2006). Histologie de la peau et des follicules pileux [en ligne]. *Médecine/sciences n°2*, volume 22, 131-137.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1051/medsci/2006222131> [consulté le 8 mars 2021].

QUATRESOOZ, P., PIERARD-FRANCHIMONT, C. et PIERARD, G.E. (2012). Les mille et un visages des cellules souches multipotentes de la peau. L'avenir a trouvé de nouvelles racines [en ligne]. *Revue Médicale de Liège*, volume 67, issue 3, 143-146.

Disponible sur : <http://hdl.handle.net/2268/127847> [consulté le 8 mars].

RIBEIRO, J., PEREIRA, T., AMORIM, I., CASEIRO, A.R., LOPES, M.A., LIMA, J., GARTNER, A., SANTOS, J.D., BARTOLO, P.J., RODRIGUES, J.M., MAURICIO, A.C. and LUIS, A.L. (2014). Cell therapy with human MSCs isolated from the umbilical cord Wharton jelly associated to a PVA membrane in the treatment of chronic skin wounds [en ligne]. *International Journal of Medical Sciences*, volume 11, issue 10, 979-987.

RYUMINA, I.I., GORYUNOV, K.V., SILACHEV, D.N., SHEVTSOVA, Y.A., BABENKO, V.A., MARYCHEVA, N.M., KOTALEVSKAYA, Y.Y., ZUBKOV, V.V. and ZUBKOV, G.T. (2021). Pathogenetic Therapy of Epidermolysis Bullosa: Current State and Prospects [en ligne]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, volume 171, issue 1, 109–121.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05182-8> [consulté le 27 septembre 2021].

SENOO, M., PINTO, F., CRUM, C.P. and MCKEON, F. (2007). p63 Is Essential for the Proliferative Potential of Stem Cells in Stratified Epithelia [en ligne]. *Cell*, volume 129, issue 3, 524-536.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.045> [consulté le 27 avril 2021].

SHAPOURI-MOGHADDAM, A., MOHAMMADIAN, S., VAZINI, H., TAGHADOSI, M., ESMAEILI, S-A., MARDANI, F., SEIFI, B., MOHAMMADI, A., TAVAKOL AFSHARI, J. and SAHEBKAR, A. (2018). Macrophage plasticity, polarization and function in health and disease [en ligne]. *Journal of Cellular Physiology*, volume 233, issue 9, 6425-6440.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/jcp.26429> [consulté le 29 avril 2021].

SULTANA, T., LEE, S., YOON, H.Y. and LEE, J.I. (2018). Current status of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in veterinary medicine [en ligne]. *Stem Cells International*, volume 2018, article ID 8329174, 1-14.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2018/8329174> [consulté le 8 mars].

USAS, A. and HUARD, J. (2007). Muscle-derived stem cells for tissue engineering and regenerative therapy [en ligne]. *Biomaterials*, volume 28, issue 36, 5401-5406.
Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.09.008> [consulté le 25 mars 2021].

VAN DER VALK, J., BIEBACK, K., BUTA, C., COCHRANE, B., DIRKS, W.G., FU, J., KICKMANN, J.J., HOHENSEE, C., KOLAR, R., LIEBSCH, M., PISTOLLATO, F., SCHULZ, M., THIEME, D., WEBER, T., WIEST, J., WINKLER, S. and GSTRANTHALER, G. (2018). Fetal Bovine Serum (FBS): Past - Present – Future [en ligne]. *ALTEX - Alternatives to animal experimentation*, volume 35, number 1, 99-118.
Disponible sur : <https://doi.org/10.14573/altex.1705101> [consulté le 22 septembre 2021].

VIEIRA, N.M., BRANDALISE, V., ZUCCONI, E., SECCO, M., STRAUSS, B.E., ZATZ, M. (2010). Isolation, characterization, and differentiation potential of canine adipose-derived stem cells [en ligne]. *Cell Transplantation*, volume 19, issue 3, 279–289.

Disponible sur : <https://doi.org/10.3727/096368909x481764> [consulté le 5 septembre 2021].

VILLATORO, A.J., FERNANDEZ, V., CLAROS, S., RICO-LLANOS, G.A., BECERRA, J. and ANDRADES, J.A. (2015). Use of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in Keratoconjunctivitis Sicca in a Canine Model [en ligne]. *BioMed Research International*, volume 2015, article ID 527926, 1-10.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2015/527926> [consulté le 22 juin 2021].

VILLATORO, A.J., HERMIDA-PRIETO, M., FERNANDEZ, V., FARINAS, F., ALCOHOLADO, C., RODRIGUEZ-GARCIA, M.I., MARINAS-PARDO L. and BECERRA, J. (2018). Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis: clinical efficacy and safety [en ligne]. *Veterinary Record*, volume 183, issue 21, 654.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1136/vr.104867> [consulté le 17 juin 2021].

VON BAHR, L., BATSIS, I., MOLL, G., HÄGG, M., SZAKOS, A., SUNDBERG, B., UZUNEL, M., RINGDEN, O. and LE BLANC, K. (2012). Analysis of Tissues Following Mesenchymal Stromal Cell Therapy in Humans Indicates Limited Long-Term Engraftment and No Ectopic Tissue Formation [en ligne]. *Stem Cells*, volume 30, issue 7, 1575-1578.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/stem.1118> [consulté le 16 septembre 2021].

VOOG, J. and JONES, D.L. (2010). Stem Cells and the Niche: A Dynamic Duo [en ligne]. *Cell Stem Cell*, volume 6, issue 2, 103-115.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.01.011> [consulté le 1 mai 2021].

WANG, G., JACQUET, L., KARAMARITI, E. and XU, Q. (2015). Origin and differentiation of vascular smooth muscle cells [en ligne]. *The Journal of Physiology*, volume 593, issue 14, 3013-3030.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1113/JP270033> [consulté le 23 mars 2021].

WATT, F.M. (2002). The stem cell compartment in human interfollicular epidermis [en ligne]. *Journal of Dermatological Science*, volume 28, n°3, 173-180.

Disponible sur : [https://doi.org/10.1016/s0923-1811\(02\)00003-8](https://doi.org/10.1016/s0923-1811(02)00003-8) [consulté le 8 mars].

XU, J. Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cells for Systemic Lupus Erythematosus [en ligne]. In: Turksen K. (eds) (2018). *Cell Biology and Translational Medicine, Volume 2. Advances in Experimental Medicine and Biology*, volume 1089. Springer, Cham.

Disponible sur : https://doi.org/10.1007/5584_2018_212 [consulté le 11 octobre 2021].

ZUBIN, E., CONTI, V., LEONARDI, F., ZANICHELLI, S., RAMONI, R. and GROLLI, S. (2015). Regenerative therapy for the management of a large skin wound in a dog [en ligne]. *Clinical Case Reports*, volume 3, issue 7, 598–603.

Disponible sur : <https://doi.org/10.1002/ccr3.253> [consulté le 23 septembre 2021].

ANNEXES

ANNEXE 1 : Évolution d'une plaie de morsure, chronique, soumise à un traitement à base de CSM, après la réalisation d'un lambeau cutané partiel, par NANJAPPA *et al.* (2014).



12^{ème} jour après la chirurgie : injections de CSM le long de marges de la plaie.



16^{ème} jour post-chirurgie : début d'épithélialisation au niveau des marges de la plaie, soit 4 jours post-injections de CSM.



23^{ème} jour post-chirurgie : seconde injection de CSM, soit 12 jours après la première.

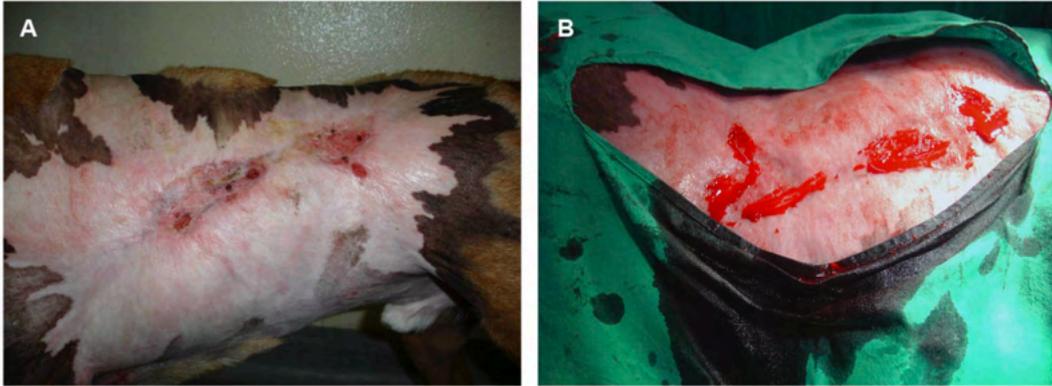


38^{ème} jour post-chirurgie : seule une petite plaie persiste au niveau de la face médiale du jarret.



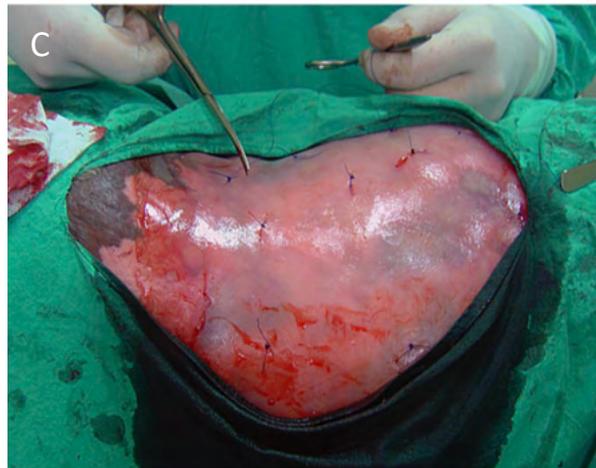
50^{ème} jour post-chirurgie : cicatrisation complète de la plaie, apparition de poils à la surface de la peau, soit 39 jours après le début de la thérapie cellulaire.

ANNEXE 2 : Cas d'un chien présentant une plaie de brûlure chimique étendue, chronique, traitée à l'aide de CSM par RIBEIRO *et al.* (2014).



A : Plaie initiale en région thoracique, constituée de deux ulcères centraux (7x2 cm et 3x3 cm) entourés d'une vaste cicatrice fibreuse.

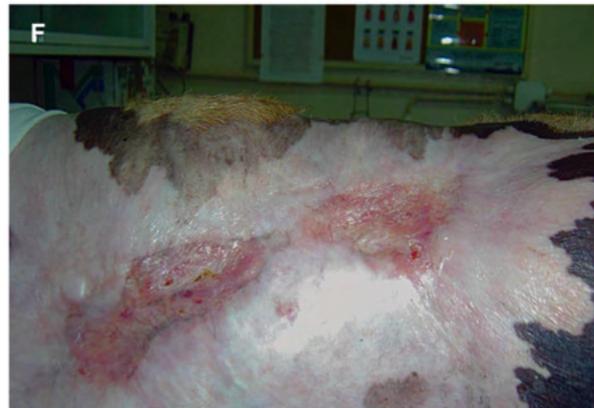
B : Biopsies cutanées et débridement chirurgical de la plaie.



C : Application d'une membrane hydrogel PVA après injections intradermiques de CSM.

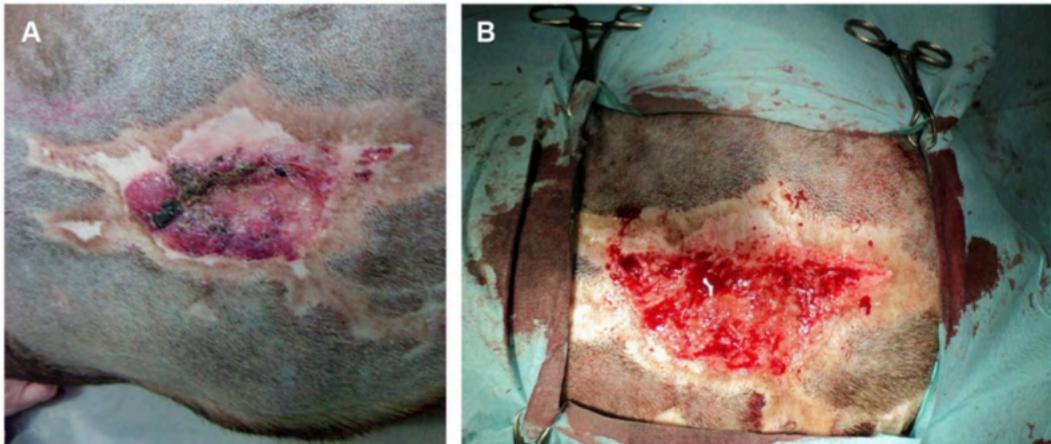


D et E : Réalisation d'un pansement humide afin de prévenir la dessiccation de la plaie.



F : Cicatrisation complète deux mois après l'application des CSM.

ANNEXE 3 : Cas d'un chien présentant une plaie chronique, de cause inconnue, traitée à l'aide de CSM par RIBEIRO *et al.* (2014).



A : Plaie initiale en région sacro-iliaque (6x5 cm) composée d'un ulcère central, entouré de fibrose.

B : Biopsies cutanées et débridement chirurgical de la plaie.



C : Injections intradermiques de CSM.

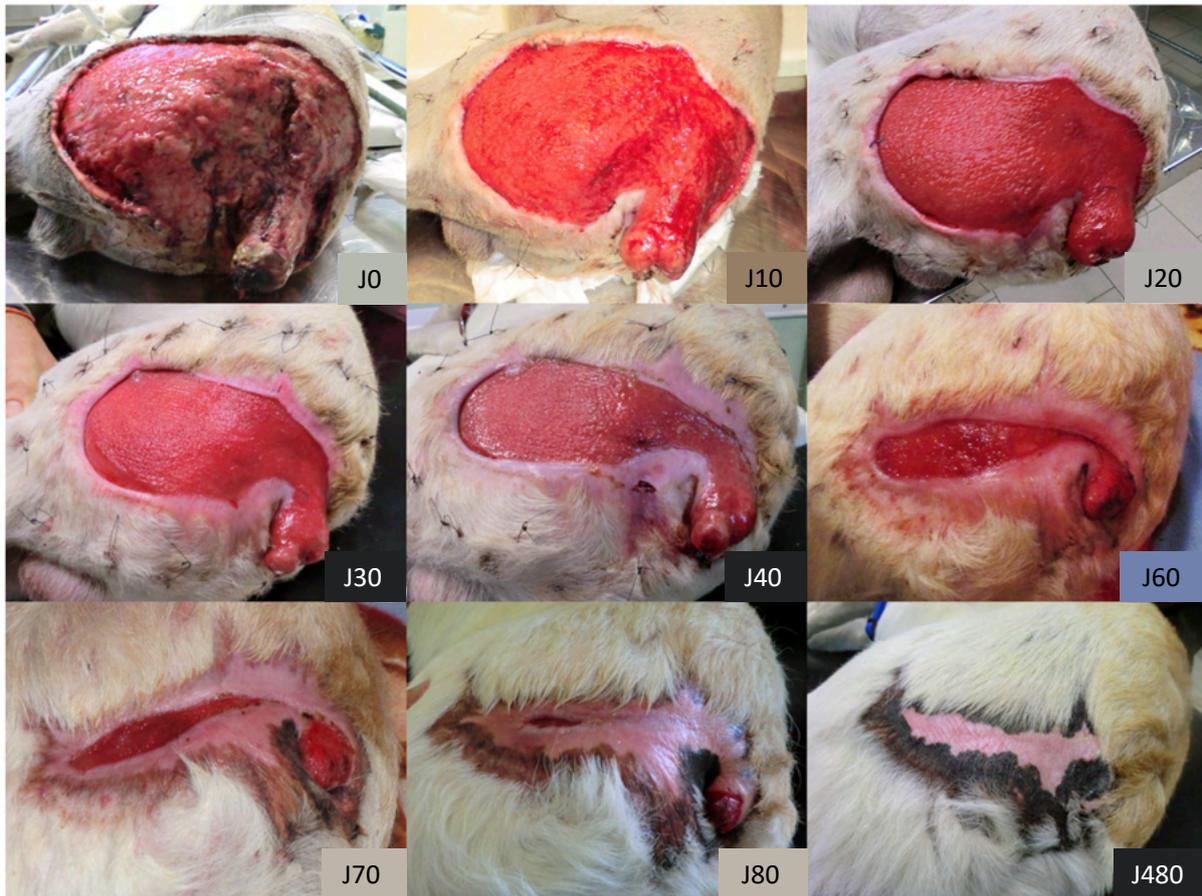


D et E : Réalisation d'un pansement humide afin de prévenir la dessiccation de la plaie.



F : Cicatrisation complète deux mois après l'application des CSM.

ANNEXE 4 : Évolution d'une plaie traumatique, chronique, traitée à l'aide de CSM et PRP par ZUBIN *et al.* (2015).



Application de CSM par pulvérisation à J11, J17, J23, J31 et J41. La plaie est totalement fermée trois mois après le début de la thérapie cellulaire.

Légende : J : jour.

ANNEXE 5 : Évolution de plaies aiguës et chroniques, prise en charge de manière conventionnelle ou *via* une thérapie à base de CSM, par ENCISO *et al.* (2020b).



Plaies aiguës, recevant un traitement conventionnel (1,2,3) ou un traitement à base de CSM (4,5,6), respectivement aux jours 0, 7 et 90.



Plaies chroniques, recevant un traitement conventionnel (1,2,3) ou un traitement à base de CSM (4,5,6), respectivement aux jours 0, 7 et 90.

UTILISATION DES CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMATEUSES EN DERMATOLOGIE DU CHIEN

Auteur

TRAXER DE GRIVEL Nell

Résumé

Les cellules souches mésenchymateuses (CSM), indispensables au maintien de l'homéostasie cutanée et, notamment, au renouvellement de l'épiderme, ont d'abord été caractérisées par la Société Internationale pour la Thérapie Cellulaire par leur capacité de différenciation en trois lignées cellulaires distinctes. Bien que cela permette, en partie, de les identifier après prélèvement et mise en culture, les effets thérapeutiques qu'on leur attribue n'ont, en réalité, pas de lien avec cette aptitude. En effet, bien qu'elles ne persistent que peu de temps après administration, elles exercent leurs effets bénéfiques grâce à des interactions avec les cellules de l'hôte, ainsi que *via* un large panel de molécules sécrétées.

La commercialisation de médicaments à base de CSM à visée dermatologique chez le chien n'est pas d'actualité et nécessite la mise en place de protocoles standardisés, permettant d'assurer innocuité et efficacité de ce type de traitements. De nombreux facteurs restent également à déterminer (source, donneur, méthode de prélèvement, etc.) afin de répondre au mieux aux questionnements pratiques et éthiques soulevés par une telle utilisation.

Dans l'attente qu'un tel type de produit soit à notre disposition, le vétérinaire ne peut que réaliser des essais cliniques qui engagent considérablement sa responsabilité. Ceux-ci sont de plus en plus nombreux et ont des résultats très encourageants, notamment en ce qui concerne la gestion de plaies ou la prise en charge de la dermatite atopique du chien. D'autres auteurs décrivent également les effets bénéfiques des CSM, chez des individus isolés, dans des cas de syndrome hépato-cutané, de fistules anales ou de pemphigus foliacé.

Des études supplémentaires, basées sur de grandes cohortes, employant des protocoles similaires, sont nécessaires afin d'établir de réelles conclusions, et espérer utiliser les CSM en routine en dermatologie du chien.

Mots-clés

Chien, dermatologie vétérinaire, peau, cellules souches, cellules stromales mésenchymateuses

Jury

Président du jury : Pr **NICOLAS Jean-François**
Directeur de thèse : Pr **PIN Didier**
Assesseur : Pr **CADORÉ Jean-Luc**