

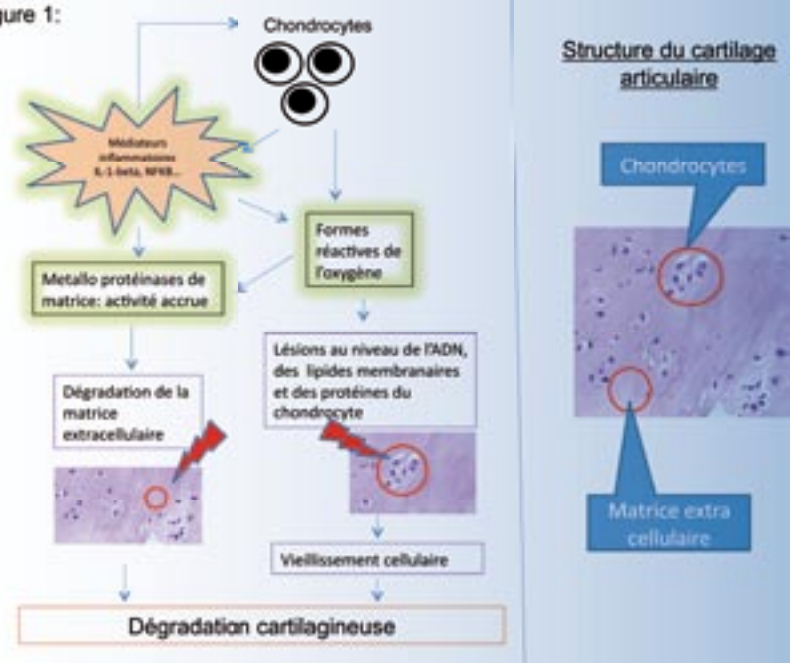
# EFFETS D'EXTRAITS DE COMPLÉMENTS ALIMENTAIRES SUR LA PROLIFÉRATION CHONDROCYTAIRE, UN TREMPLIN À LA RECONSTRUCTION TISSULAIRE

Marie Daix<sup>1</sup>, Briec de Moffarts<sup>2</sup>, Samuel Schulsse<sup>1</sup>, Nathalie Kirschvink<sup>1</sup>  
 ( <sup>1</sup> Physiologie animale, Département de Médecine Vétérinaire, Université de Namur, Namur, Belgique) ( <sup>2</sup> Pavesco AG-TWYDIL®, Suisse)

## INTRODUCTION

Les pathologies ostéo-articulaires représentent une cause majeure de boiterie dans l'espèce équine. C'est aussi la première cause de diminution des performances. Ces maladies se caractérisent par l'apparition de lésions du cartilage articulaire. Les lésions peuvent toucher les chondrocytes: unique type cellulaire dans le cartilage, ou la matrice extracellulaire. Cette matrice extracellulaire est une structure de soutien produite par les chondrocytes qui confère au cartilage ses propriétés de résistance et d'élasticité permettant d'amortir les chocs causés par la locomotion. Le processus pathologique aboutissant aux lésions cartilagineuses est complexe (figure 1). En effet, plusieurs facteurs sont impliqués dans cette destruction cartilagineuse. Les plus importants semblent être le stress oxydant, le stress enzymatique et les médiateurs inflammatoires, ces facteurs s'amplifient mutuellement pour aboutir à des lésions du cartilage.

Figure 1:



Le stress oxydant se définit comme une accumulation excessive de radicaux libres suite au métabolisme de l'oxygène. La production de radicaux libres dépasse alors les capacités de défense de l'organisme ce qui peut léser les cellules du cartilage [1] et induire notamment un vieillissement cellulaire pouvant être le point de départ de l'ostéoarthrose [2]. Il apparaît également

que les FRO sont impliquées dans le déclenchement de la cascade menant à la réaction inflammatoire et au stress enzymatique [1].

En effet, la réaction inflammatoire joue un rôle d'amplificateur et la cascade s'emballe aboutissant à une activité accrue des protéinases (notamment métalloprotéinases de matrice) qui dégradent la

matrice extracellulaire entourant les chondrocytes [3], il s'agit d'un phénomène appelé « stress enzymatique ».

Le résultat de cette cascade d'événements est un cartilage fragilisé au niveau cellulaire et au niveau de la matrice extracellulaire, compromettant ses fonctions principales: mobilité et amortissement.

Le traitement habituel des troubles articulaires repose sur l'administration d'anti-inflammatoires stéroïdiens ou non-stéroïdiens qui permettent de « couper » cette réaction en chaîne. Ces molécules sont difficilement utilisables dans un contexte de compétition car elles sont considérées comme dopantes, et de surcroît, elles peuvent induire des effets secondaires non négligeables.

Un autre aspect important est la reconstruction cartilagineuse après l'épisode pathologique. La matrice extracellulaire cartilagineuse, produite par les chondrocytes doit se reformer aux endroits lésés ce qui peut prendre du temps, en particulier si les chondrocytes ont subi des dommages cellulaires. Ceci s'applique d'ailleurs à la plupart des tissus, la réparation ou remodelage tissulaire est d'une importance primordiale pour que l'organe en question puisse assurer sa fonction. En effet, chaque tissu se trouve quotidiennement agressé, lésé, et les cellules le composant doivent faire face à différents facteurs de fragilité. Tout ceci induirait une diminution de l'efficacité fonctionnelle du tissu concerné si le remodelage tissulaire n'existait pas. Cette réparation permet en effet de « remettre à neuf » le tissu et de conserver un équilibre entre dégradation et reconstruction tissulaire. En condition pathologique, la réaction inflammatoire, le stress oxydant et bien souvent le



stress enzymatique perturbent cet équilibre ce qui peut mener à une dégradation tissulaire excessive.

### OBJECTIFS ET PRÉSENTATION DE L'ÉTUDE

Le but de cette étude était d'investiguer l'effet d'extraits de compléments alimentaires sur la prolifération de chondrocytes équins *in vitro*.

Du cartilage articulaire a été prélevé sur des membres de chevaux provenant d'un abattoir. Les articulations du boulet ont été ouvertes et le cartilage a été prélevé au

scalpel, ensuite découpé en tous petits morceaux et soumis à une digestion enzymatique permettant d'isoler les chondrocytes.

Les chondrocytes ont été cultivés pendant 7 jours en plaques 12 puits avec un milieu de culture additionné ou non (contrôle) d'extraits de compléments alimentaires à base de glucosamine sulfate de chondroïtine (G/CS), hydroxyapatite (Hx) ou encore d'un complexe minéral (CM) à base de carbonate, phosphate et gluconate de calcium et de sels marins. La prolifération chondrocytaire a été évaluée par un comp-

tage cellulaire au bleu trypan tous les 2 jours. Chaque puit a été cultivé et mesuré en quadruple.

### RÉSULTATS OBTENUS

Les résultats de comptage cellulaire montrent que l'extrait de complément Hx a un effet stimulateur sur la prolifération chondrocytaire au 3<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> jour de la culture (figure 2). L'extrait G/CS quant à lui montre un effet stimulateur au 3<sup>e</sup> jour. Au 7<sup>e</sup> jour de culture, on n'observe plus de différence entre les cultures avec extraits de compléments et les cultures contrôles. Ces résultats très intéressants soulignent l'effet possible des nutraceutiques testés sur la réparation tissulaire via une stimulation de la prolifération cellulaire.

Figure 2:

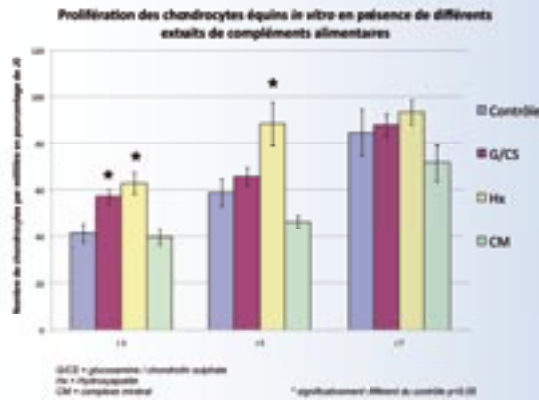
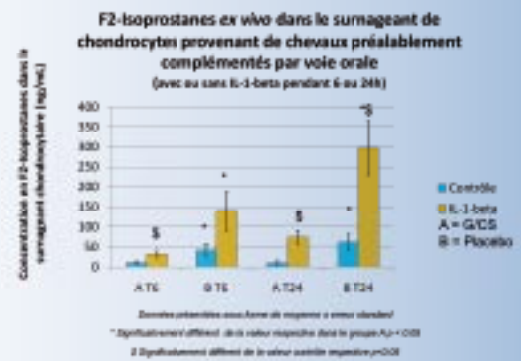


Figure 3:



D'autres résultats d'une précédente étude portant sur des cultures de chondrocytes provenant de chevaux préalablement complémentés par voie orale, montrent que le complément G/CS induit une diminution des F2-Isoprostanes (marqueurs du stress oxydant) dans le surnageant de chondrocytes et ce, même après une stimulation avec de l'interleukine-1 $\beta$  pendant 6 ou 24h, ce qui mime un phénomène inflammatoire dans l'articulation (figure 3). Il semble donc que le complément administré par voie orale aux chevaux confère aux chondrocytes une certaine protection contre le stress oxydant.

De plus, *in vivo*, un effet modulateur du complément G/CS sur le stress enzymatique avait été observé après 6 semaines d'administration orale de ce complément [5]. En effet une diminution de l'activité MMP9 (métalloprotéase matricielle de type 9 ; figure 4), enzyme impliquée dans la dégradation du cartilage, avait été observée ainsi qu'une tendance à l'augmentation de l'activité MMP2 (métalloprotéase matricielle de type 2), enzyme apparemment plus impliquée dans la réparation cartilagineuse que dans la destruction de ce tissu [4]. Cet effet sur la MMP2 a également été observé dans une étude *in vitro* ultérieure où des chondrocytes provenant de chevaux précédemment complémentés par voie orale ont été cultivés et soumis à de l'interleukine-1 $\beta$  comme stimulant inflammatoire (figure 5).

Au vu de l'ensemble de ces résultats, il semble que le complément G/CS soit capable de moduler le stress oxydant et enzymatique et de stimuler la prolifération des chondrocytes. Cette approche pourrait donc aider à deux niveaux dans le cadre des pathologies articulaires : diminuer la destruction cartilagineuse et stimuler sa reconstruction. Il serait très intéressant d'étudier également l'effet de ces

nutraceutiques au niveau du tissu tendineux. En effet, les pathologies tendineuses sont très fréquentes et souvent la cause de boiterie importante et d'arrêt prolongé de l'entraînement. Dans les pathologies tendineuses, on constate que c'est la réparation tissulaire qui cause le plus de problèmes. En effet, un tendon contient peu de cellules par rapport à la matrice extracellulaire présente alors que ce sont ces cellules qui sont la source des constituants de la matrice extracellulaire composant la majeure partie du tissu tendineux. Souvent la cicatrisation tendineuse est très longue et le tendon ne récupère jamais totalement ses propriétés initiales [6]. Il apparaît donc intéressant d'investiguer l'effet des nutraceutiques testés sur la proli-

fération des tendinocytes. Si l'effet stimulateur observé au niveau des chondrocytes se confirme également au niveau des tendinocytes, cela pourrait présenter un grand intérêt dans le cadre de la régénération tendineuse.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le nutraceutique testé ici tend à montrer à la fois un effet modulateur sur le stress enzymatique et sur le stress oxydant. De surcroît, l'effet chondro-prolifératif observé pourrait attester d'une stimulation du métabolisme probablement bénéfique à la réparation tissulaire. Ces effets sont également observés en cas de stimulation inflammatoire suggérant un éventuel effet préventif.

Figure 4:

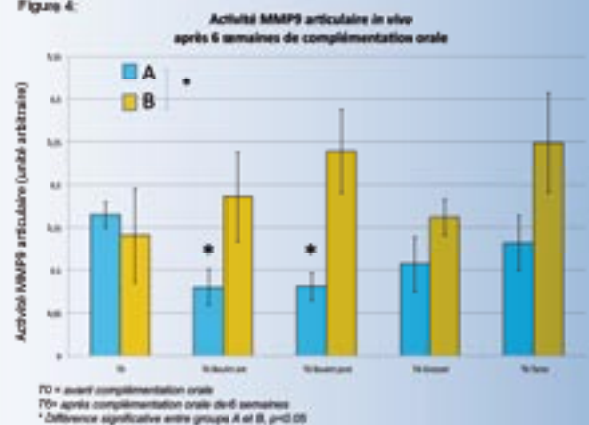
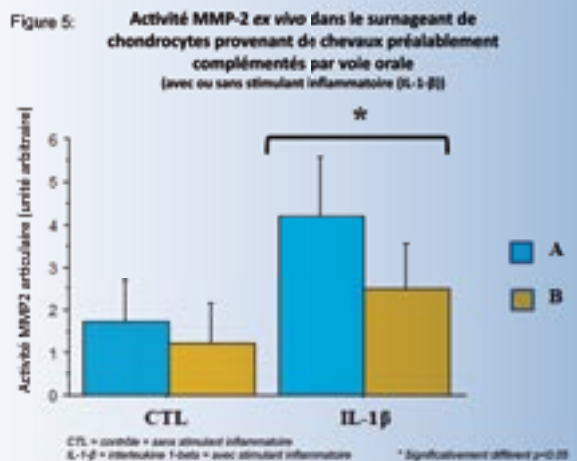


Figure 5:



Ces molécules semblent donc très prometteuses dans le traitement et la prévention des pathologies articulaires mais il serait également très intéressant d'étudier leurs effets au niveau tendineux compte tenu du fait que dans les pathologies tendineuses, la réparation tissulaire est la clef de la guérison du cheval■

## RÉFÉRENCES

1. VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M. T., MAZUR, M., and TELSER, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J Biochem. Cell Biol.* 39, 44-84.

2. YUDOH, K., NGUYEN, T., NAKAMURA, H., HONGO-MASUKO, K., KATO, T., and NISHIOKA, K. (2005) Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development

of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. *Arthritis Res. Ther.* 7, R380-R391.

3. NAGASE, H., VISSE, R., and MURPHY, G. (2006) Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc. Res.* 69, 562-573.

4. GEPSTEIN, A, SHAPIRO, S, ARBEL, G, LAHAT, N, and LIVNE, E. (2002) Expression of matrix metalloproteinases in articular cartilage of temporomandibular and knee joints of mice during growth, maturation, and aging. *Arthritis & Rheumatism* 46, 3240-3250.

5. DAIX, M., BASTIN, JF. and KIRSCHVINK, N., Evaluation of an oral supplement enriched with glucosamine and chondroïtine sulphate on the joint enzymatic

balance in young horses.( 2006/2007) *HPH High Performance Horses*, 4-8.

6. RICHARDSON, L.E., DUDHIA, J., CLEGG, P.D. and SMITH R. (2007). Stem cells in veterinary medicine - attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends in Biotechnology*, 25, 409-416.

