

L'utilisation des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse en médecine vétérinaire

Auteur : Gerard, Alizée

Promoteur(s) : Desmecht, Daniel

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/17608>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

L'utilisation des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse en médecine vétérinaire

The use of adipose tissue-derived mesenchymal stem in veterinary medicine

Alizée GERARD

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

L'utilisation des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse en médecine vétérinaire

The use of adipose tissue-derived mesenchymal stem in veterinary medicine

Alizée GERARD

Tuteur : Professeur Desmecht Daniel

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022/2023

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

L'utilisation des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse en médecine vétérinaire

OBJECTIF DU TRAVAIL

L'objectif de ce travail est de rassembler les différentes données disponibles dans la littérature concernant les animaux et l'utilisation de cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse dans le but de pouvoir les utiliser prochainement en clinique pour différentes maladies.

RESUME

Les cellules mésenchymateuses sont connues pour leur caractéristique multipotente. Cependant, ces dernières possèdent également un rôle paracrine dont l'importance est souvent oubliée. Leur origine est multiple : elles peuvent provenir de la moelle osseuse, du tissu adipeux ou du cordon ombilical. Les cellules originaires de la moelle ont beaucoup été utilisées en médecine humaine. Toutefois, leur extraction a poussé vers l'exploration d'autres sources, notamment le tissu adipeux qui commence à faire ses preuves.

Ce type cellulaire possède des caractéristiques immunogènes propres ce qui permet de les utiliser pour le traitement de différentes pathologies. Par ailleurs, ces cellules interagissent avec différents processus tels que la cicatrisation, l'inflammation ou encore l'angiogenèse.

Ce travail aborde donc ces différents aspects via des applications pratiques dont l'utilisation pour le traitement de la dermatite atopique ainsi que pour aider à la cicatrisation lors des greffes de peau. Le tout est ensuite illustré par un cas clinique de chirurgie reconstructrice où des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuses sont utilisées pour aider à la guérison de plaies de morsures sur un chien.

The use of adipose tissue-derived mesenchymal stem in veterinary medicine

AIM OF THE WORK

The aim of this work is to assemble all data available today on animals the subject of adipose tissue-derived mesenchymal stem with the a view to presenting new ways of treating some pathologies in clinics.

SUMMARY

The mesenchymal stem cells are known for their multidirectional differentiation ability. However, these cells also have an important paracrine effect that may be overlooked. They have multiple origins: we can harvest them in the bone marrow, the adipose tissue and in the umbilical cord. Those coming from the bone marrow are largely used in human medicine but the difficult extraction pushed researchers to look for another source such as adipose tissue which begin to show some proof of efficiency.

That type of cells has a specific immunogenic characteristic which allows to use them for the treatment of several pathologies. Furthermore, these cells interact with some important processes like healing wounds, inflammations and angiogenesis.

This work deals with these different aspects by exploring diverse practical applications such as their use as an additive for the treatment of canine atopic dermatitis but also to help the healing of skin graft. All of that is illustrated by a case report of reconstructive surgery where adipose tissue-derived mesenchymal stem are used to help the healing of bite wound on a dog.

Remerciements

Je souhaite remercier mon promoteur, le professeur Desmecht, pour m'avoir épaulée dans la réalisation de ce travail ainsi que pour sa disponibilité et sa bienveillance.

Subséquentement, je voudrais remercier ma maman qui a toujours été présente pour moi pendant toutes ces années d'étude. Elle a été mon pilier, ma force et ma fierté pendant toutes ses années et je n'aurais pas été aussi loin sans elle. Un énorme merci également à ma sœur et ma grand-mère qui ont toujours été présentes et m'ont toujours soutenu.

De plus, je voudrais remercier mon père et ma belle-mère qui m'ont aimé et apporté beaucoup de bonheur.

Merci à mon grand-père pour son soutien et son amour depuis des années.

Merci à mon beau-père pour son implication dans mes études et ses relectures multiples.

Un remerciement tout particulier à Henry, mon compagnon, qui m'aura soutenu jusqu'au bout des études et m'aura apporté du bonheur ainsi que de l'amour. Mais aussi à sa famille pour m'avoir accueillie à bras ouverts.

Merci à tous mes amis avec qui nous avons parcouru un long chemin depuis Louvain-la-Neuve jusqu'à Liège notamment Gaspard, Adèle et Romain. Mais aussi ceux avec qui j'ai eu la chance de partager le baptême cette dernière année : Sophie, Deneyer, Guillermin, Anaïs, Gancel et j'en passe.

Un remerciement particulier à mon comité Voyage 2022 avec qui j'ai passé une super année.

Et enfin, merci à tous les membres de ma famille que je n'ai pas pu citer et à tous mes amis.

1. Table des matières

1. Introduction.....	7
2. Avantages cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse	8
2.1. Immunogénicité.....	8
2.2. Effet paracrine	8
3. Isolation des cellules souches mésenchymateuses dans le tissu adipeux	9
4. Utilisation multiples.....	10
4.1. Dermatite atopique	10
4.1.1. Index d'évaluation des lésions engendrées par les dermatites atopiques canines.....	11
4.1.2. Etudes.....	12
4.2. Greffe de peau	15
5. Cas clinique.....	25
6. Conclusion	28
7. Bibliographie	29
8. Annexe I – Lexique des abréviations	32

1. Introduction

Selon la Société Internationale de Thérapie Cellulaire ISCT, les cellules mésenchymateuses sont définies sur base de 3 critères.

Premièrement, les cellules mésenchymateuses doivent avoir une adhérence au plastique lorsqu'elles sont maintenues dans des conditions de culture standard à l'aide de flacons de culture tissulaire.

Deuxièmement, pour qu'une population de cellules mésenchymateuses soit définie comme telle, il faut qu'il y ait $\geq 95\%$ de cellules exprimant des CD105, CD73, CD90 mais aussi $\leq 2\%$ de CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79 α ou CD19 et complexe majeur d'histocompatibilité de classe II à leur surface.

Enfin, leur capacité de différenciation en ostéoblastes, adipocytes, chondroblastes doit être démontrée en utilisant des conditions standard de différenciation de culture tissulaire in vitro. (Dominici et al., 2006)

Les cellules mésenchymateuses ont différentes origines et proviennent soit de la moelle osseuse et sont appelées Bone Marrow-derived MSC BM-MSC, soit du tissu adipeux et sont nommées Adipose tissue-derived MSCs ADSC soit du cordon ombilical. Depuis quelques années, les chercheurs se sont intéressés aux ADSC, celles-ci offrant une alternative aux BM-MSCs, ces dernières étant largement utilisées aujourd'hui mais difficile à extraire.

Ce type cellulaire exerce également un effet paracrine via la production de certains facteurs de croissance et de cytokines qui seraient à l'origine des effets anti-inflammatoire et/ou pro-angiogénique.

Etant donné toutes ces caractéristiques, ces cellules sont largement utilisées en médecine humaine dans le cadre de la thérapie cellulaire. Le but de ce travail de fin d'étude est donc d'aborder les différentes applications en médecine vétérinaire.

2. Avantages cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse

2.1. Immunogénicité

Les cellules mésenchymateuses sont connues pour avoir une très faible immunogénicité ce qui permet leurs utilisations multiples. En effet, selon Götherström (2007) et Klyushnenkova et al. (2005), les MSCs sont des cellules ayant comme phénotypes immuns l'absence de complexe majeur d'histocompatibilité de classe II CMH, appelé antigène leucocytaire humain HLA de classe II chez l'humain, et possédant peu de CMH de classe I ou HLA I chez l'humain. Elles ont également un manque d'expression des molécules de stimulation CD40, CD80 et CD86 à leur surface. Ceci provoquant donc un échec à la réponse proliférative des lymphocytes T alloréactif.

Cependant, il a été prouvé que même en stimulant les MSCs avec des interférons gamma IFN- γ , ayant pour rôle de stimuler l'expression de CMHI et CMHII à la surface de ces cellules, ces MSCs ne provoquaient toujours pas de réponse immunitaire. Ce phénomène a été observé également lorsqu'on rajoute des molécules stimulantes telle que les CD86 et CD80 manquantes.

Klyushnenkova et al. (2005) ont essayé d'autres techniques afin d'activer la prolifération des lymphocytes T alloréactifs notamment en supplémentant la culture en cytokines telles que l'interleukine-un alpha IL-1 α , l'interleukine-un bêta IL-1 β et le facteur de nécrose tumoral alpha TNF- α . En effet, il est reconnu que ces molécules jouent un rôle important dans la présentation d'antigène. Malgré cette supplémentation la réaction de prolifération reste inapparente.

On peut en conclure que les cellules mésenchymateuses n'induisent pas de réaction immunitaire ce qui permet de largement les utiliser notamment dans un contexte de maladie inflammatoire.

2.2. Effet paracrine

Les ADSCs ont également un effet paracrine, c'est-à-dire qu'elles sécrètent différents facteurs de croissance comme on peut le voir dans le tableau 1 (Kokai et al., 2014). Ces protéines ont différents rôles notamment sur le dépôt de collagène lors de la cicatrisation, sur l'angiogenèse et sur l'inflammation.

	Secreted factors	Function
Growth factors/ cytokines	VEGF, HGF, TGF- β , FGF-2 IGF-3 IL-10, TGF- β , PGE2 IGFBP-1 through-5 GM-CSF, IL-6, IL-7, and IL-11 IL-8 TNF- α Leptin	Is proangiogenic Increases cell proliferation and migration Is immunosuppressive Increases the half-life of circulating IGF Is proinflammatory Is a chemoattractant of neutrophils and basophils Recruits and activates neutrophils and monocytes Regulates immune cells, pancreatic β cells, adipocytes, muscle, and blood cells ¹⁴
Adipokines/ hormones		
ECM molecules	Collagens I-VI, fibronectin-1	Scaffolds cells
ECM proteases	MMP-2	Breaks down ECM for wound repair and cell migration
Other	Thrombospondin-1, galectin 1	Mediates cell-to-cell and cell-to-matrix interactions (platelet aggregation, angiogenesis)
	Plasminogen activator inhibitor 1	Inhibits fibrinolysis
	Tissue inhibitor of metalloproteinase 1	Inhibits MMPs, promotes cell proliferation, is antiapoptotic

Abbreviations: FBS, fetal bovine serum; bFGF, basic fibroblast growth factor; ECM, extracellular matrix; EGF, epidermal growth factor; FGF, fibroblast growth factor; GM-CSF, granulocyte and macrophage colony stimulating factor; HGF, hepatocyte growth factor; IGF, insulinlike growth factor; IGFBP, insulin-like growth factor-binding protein; IL, interleukin; MMP, matrix metalloproteinase; PGE2, prostaglandin E2; TGF- β , transforming growth factor β ; TNF, tumor necrosis factor; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Tableau 1 Facteurs sécrétés par les cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse ayant un rôle en médecine régénérative (Kokai et al., 2014)

Les facteurs ayant une grande importance sont principalement le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF et le facteur de croissance transformant bêta TGF- β qui sont pro-angiogéniques.

L'impact des MSCs sur l'inflammation s'explique notamment par l'interleukine-10 IL-10 qui est sécrétée et qui a un effet anti-inflammatoire, mais aussi parce qu'elles inhibent la libération de facteurs pro-inflammatoires tels que l'interleukine-douze IL-12 et le facteur de nécrose tumoral TNF. (De Vasconcellos Machado et al., 2013)

Ces réactions engendrées par les différentes cytokines et facteurs de croissance permettent de comprendre l'impact de l'effet paracrine des cellules mésenchymateuses. Celles-ci sont donc très importantes voire même primordiales par rapport à la capacité de différenciation cellulaire des MSCs. Ceci permet de comprendre leur utilisation multiple en médecine réparatrice ainsi que pour le traitement des maladies inflammatoires telles que la dermatite atopique.

3. Isolation des cellules souches mésenchymateuses dans le tissu adipeux

Etant donné tous les effets avancés pour les MSCs, les chercheurs se sont lancés dans l'isolation de ces cellules et leur culture.

Le protocole d'isolation de ces cellules chez les animaux est principalement toujours identique, elles sont recueillies à différents endroits riches en graisse notamment au niveau du pli inguinal. Suite à cela, elles sont rincées abondamment à la solution saline

tamponnée au phosphate PBS. Après quoi, les ADSCs subissent une digestion enzymatique par des collagénases de type I ou IV. Ces collagénases sont ensuite neutralisées avec un milieu Eagle modifié de Dulbelcco (DMEM), ayant une faible teneur en glucose, supplémenté avec du sérum bovin foetal et de la pénicilline/streptomycine. Par la suite, le tout est mis en culture puis centrifugé ou filtré de manière à récupérer les cellules qui seront identifiées par cytométrie en flux tout en suivant la définition de ISCT.

Celles-ci étant maintenant isolées et identifiées, elles peuvent être utilisées dans les différentes expériences que nous allons voir.

4. Utilisation multiples

4.1. Dermatite atopique

La dermatite atopique canine est définie comme : « processus pathologique multifactoriel impliquant un dérèglement immunitaire, des défauts de la barrière cutanée, des facteurs environnementaux et une sensation allergique » (Marsella and De Benedetto 2017; Santoro et al. 2015).

Pour le moment, il existe différents types de traitement sur le marché pour traiter la dermatite atopique canine notamment via une alimentation hypoallergénique, des glucocorticoïdes, des traitements locaux ou encore des immunothérapies ciblées. Cependant, certains animaux sont réfractaires à ce genre de traitement ce qui a amené les chercheurs à considérer les MSCs.

Etant donné la faible immunopathogénicité des MSCs et l'influence de l'immunité dans la dermatite atopique canine, le traitement à base d'injection de MSCs a été considéré dans plusieurs études.

Cette pathologie est caractérisée par deux phases, la première étant la phase aigüe lors de laquelle on a une prédominance des lymphocytes T Helper 2 Th2 ainsi qu'une libération de cytokines pro-inflammatoires qui activent le recrutement d'éosinophiles et la dégranulation des mastocytes. Lors de la phase chronique, on aura un profil mixte lymphocytes T Helper 1 Th1/Th2. (Villatoro et al., 2018 ; Ramos et al., 2020)

Les MSCs permettent de moduler cette réponse immunitaire Th1/Th2 contrôlant les cytokines pro-inflammatoire et pro-prurit ce qui représente un intérêt capital pour le contrôle de la réaction inflammatoire de la dermatite atopique.

4.1.1. Index d'évaluation des lésions engendrées par les dermatites atopiques canines

Afin de comprendre l'intérêt des MSCs dans le traitement de la dermatite atopique, il convient d'expliquer comment les signes cliniques de cette maladie sont évalués. L'effet des traitements sur les signes cliniques de la dermatite atopique est mesuré via différents systèmes de notations notamment l'indice d'étendue et de gravité de la dermatite atopique canine CADESI-04, l'indice des lésions de la dermatite atopique canine CADLI et l'échelle visuelle analogue VAS pour le degré de prurit appelé pVAS.

Le CADESI-04 a été conçu pour « évaluer les lésions cutanées sur des sites corporels spécifiques à l'aide d'une échelle de gravité catégorielle ». (Olivry et al., 2014). Ce dernier grade trois lésions typiques de la dermatite atopique canine étant l'érythème, la lichénification et une combinaison d'excoriation et d'alopecie. Ces lésions sont classées en fonction de leur sévérité à savoir nul (score 0), doux (score 1), modéré (score 2) et sévère (score 3). Cette évaluation se fait sur vingt localisations au niveau du corps étant les emplacements les plus affectés par la dermatite atopique canine qu'on peut observer sur la première figure. Le tout est additionné pour donner une note allant entre 0 et 180.

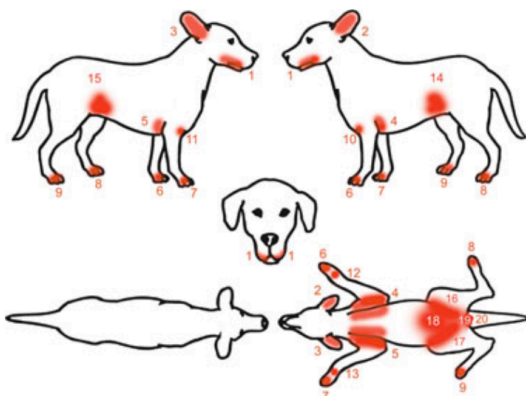
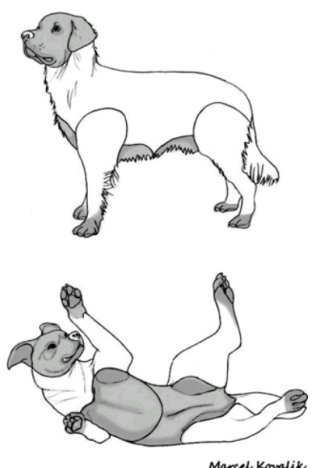


Figure 1 Zones du corps évaluée par le Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index CADESI-4 (Olivry et al., 2014)

Body region	Erythema excoriation erosion 0-5	Alopecia lichenification hyperpigmentation 0-5
Head & Pinnae		
Forefeet		
Hind feet		
Ventral thorax & Axillae		
Ventral abdomen & Inguinal		
Sub-totals 0-25		
Total 0-50		

Figure 2 CADLI
(Plant et al., 2012)



Le CADLI (figure 2) correspond à une version simplifiée du CADESI-04. Celui-ci reprend donc uniquement cinq régions sur les vingt du CADESI-04. Ensuite, il regroupe six lésions en deux groupes en fonction de leur apparition simultanée fréquente : l'érythème, l'excoriation et l'érosion en un groupe et l'alopecie, la lichénification et l'hyperpigmentation en un autre groupe. Chaque zone corporelle est ensuite gradée de zéro à cinq, zéro étant l'absence de lésions, un étant une présence légère de lésion, deux et trois étant une présence modérée, quatre et cinq étant une présence de lésions étendues et sévères. Ceci est illustré sur la figure deux.

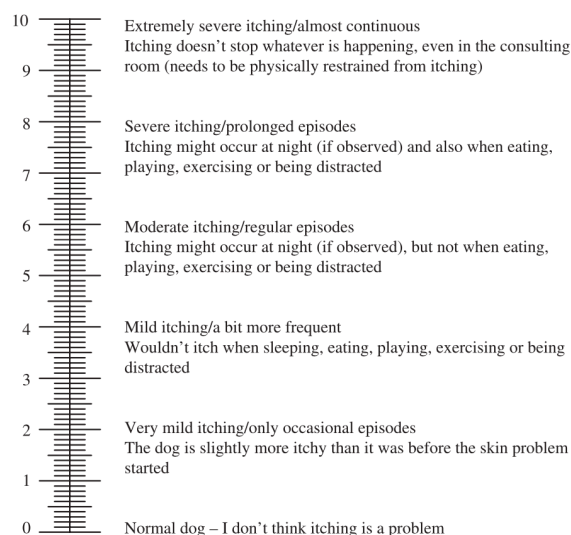


Figure 3 Echelle visuelle analogue VAS (Rybniček et al., 2009b)

L'échelle visuelle analogue pVAS contient une échelle graduée de zéro à dix que les propriétaires utilisent pour évaluer la sévérité du prurit de leur chien comme on peut le voir sur la figure trois.

4.1.2. Etudes

Grâce à ces différents systèmes d'évaluation des lésions engendrées par la dermatite atopique canine, plusieurs études ont pu démontrer que le traitement à l'aide de cellules mésenchymateuses permet une amélioration des signes cliniques.

En effet, dans la figure 4, Enciso et al. (2019) ont démontré qu'il y avait une diminution significative $p < 0,001$ du CADLI et du pVAS après une injection intramusculaire allogénique hebdomadaire de cellules mésenchymateuses issues du tissu adipeux en comparant le préopératoire et le postopératoire. Cette étude a été faite sur douze chiens entre un et trois ans, en bonne santé, n'ayant aucun traitement en cours.

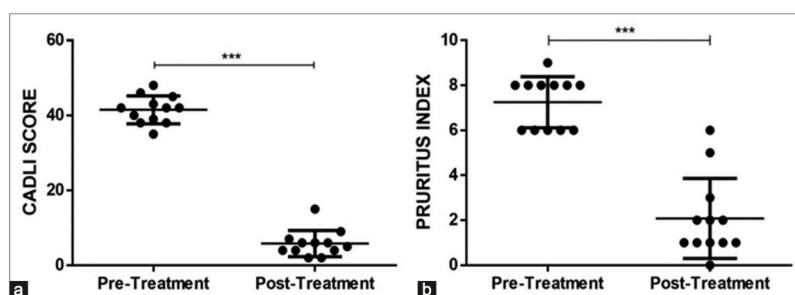


Figure 4 Scores de CADLI et pVAS pré-traitement et 6 semaines après traitement de ASCDs (Enciso et al., 2019)

Dans l'étude de Villatoro et al. (2018), les CADESI-04 et pVAS ont été observés après une semaine, un mois, trois mois et six mois de traitement, le protocole étant illustré sur la figure cinq.

Les vingt-six chiens sélectionnés ont été diagnostiqués de dermatite atopique depuis minimum douze mois avant le recrutement. Ceux-ci étaient réfractaires à tout autre type de traitement et aucun d'entre eux ne présentaient de comorbidité. Tous les anti-inflammatoires ou médicaments immunomodulateurs ont été arrêtés deux semaines avant le début de l'étude.

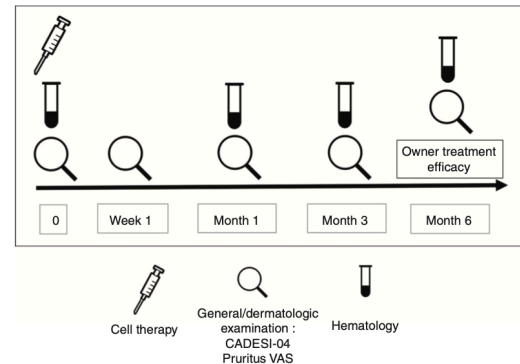


Figure 5 Protocole de l'étude (Villatoro et al., 2018)

Les figure six et sept nous permettent de voir qu'il y a une diminution du CADESI-04 et du pVAS comme observé par Enciso et al. (2019), mais qu'il y a également un effet à plus long terme avec une diminution des deux index jusqu'à six mois après l'administration de cellules mésenchymateuses.

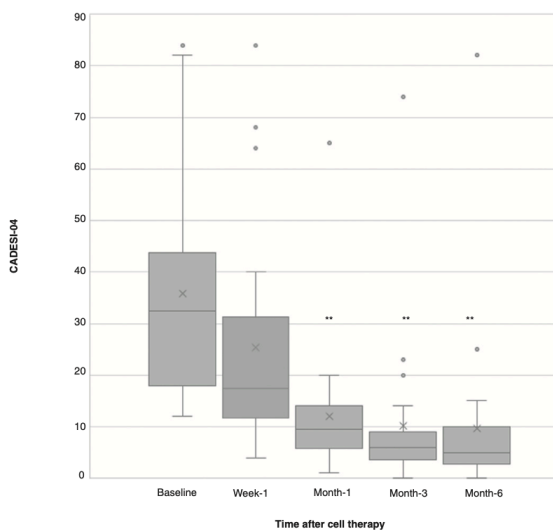


Figure 6 Score de CADESI-04, * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$ (Villatoro et al., 2018)

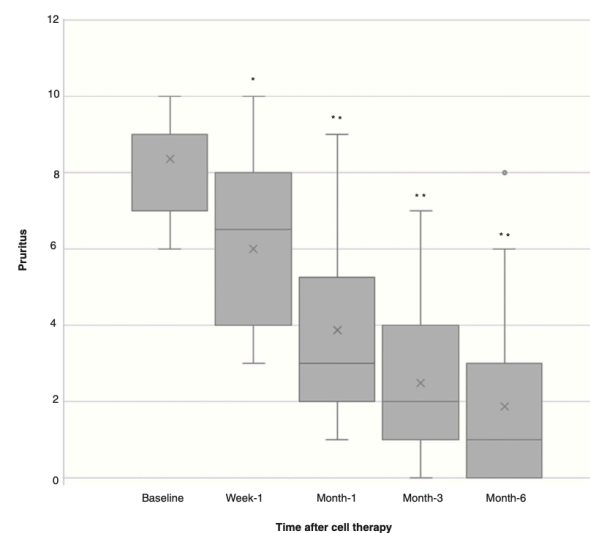


Figure 7 Score de pVAS, * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,001$ (Villatoro et al., 2018)

Pour comparer le résultat du pVAS et du CADESI-04 en fonction de la dose de cellules mésenchymateuses administrées, Kaur et al. (2021) ont mené leur étude sur quinze chiens ayant été diagnostiqué comme souffrant de dermatite atopique canine. Si les animaux étaient sous traitement tels que Cytopoint®, Apoquel® ou glucocorticoïdes ils ont été arrêtés huit semaines avant le début de la recherche pour la cyclosporine,

quatre semaines avant et pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou les antihistaminiques, le traitement a été arrêté deux semaines avant. Si ce temps d'arrêt de traitement n'a pas été respecté, ceux-ci ont été exclus de l'étude.

Les chiens ont donc été répartis en trois groupes, l'un recevant du tampon phosphate salin pour le groupe placebo, l'autre recevant 5×10^5 cellules/kg dans une solution saline pour le groupe « faible dose » et le dernier recevant 5×10^6 cellules/kg dans une solution saline pour le groupe « forte dose ». La dose à distribuer a ensuite été administrée en sous-cutané, sur cinq sites d'injection qu'on peut voir sur la figure huit, trois fois à trente jours d'intervalle.

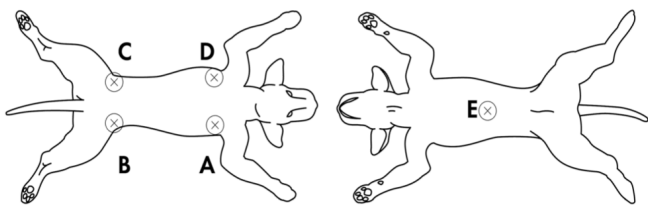


Figure 8 Zones d'injection de cellules mésenchymateuses (Kaur et al., 2021)

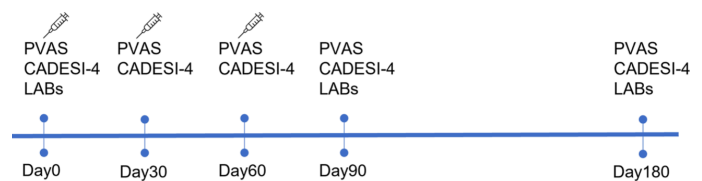


Figure 9 Schéma d'administration des MSCs, de mesure des CADESI-04, pVAS et des prises de sang LABs (Kaur et al., 2021)

La figure dix permet de montrer qu'il y a une diminution significative du pVAS lors de l'utilisation de cellules mésenchymateuses par rapport à l'utilisation d'un placebo et ce dès nonante jours de traitement. Cependant, après nonante jours de traitement, il n'y a pas de différence significative entre une forte dose ou une faible dose de cellules mésenchymateuses. Après cent quatre-vingt jours de traitement, il y a une baisse générale des pVAS moyens pour les groupes traités avec les MSCs mais la différence n'est pas significative avec le groupe placebo. On observe tout de même une augmentation des pVAS moyens au jour cent quatre-vingt ce qui laisse entrevoir une fin d'efficacité du traitement au bout de ce laps de temps.

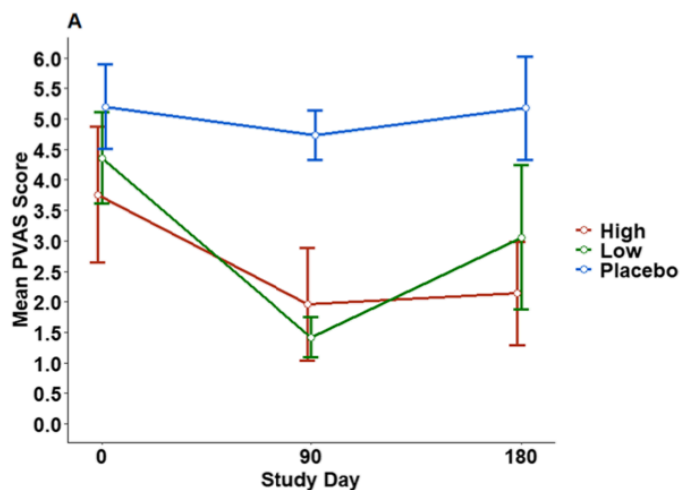


Figure 10 Graphique des pVAS moyens en fonction du nombre de jours post-injection de MSCs à dose forte en rouge, faible en vert et pour le groupe placebo en bleu (Kaur et al., 2021)

Concernant le CADESI-04, nous observons sur la figure onze qu'il y a une tendance générale à la baisse. Cependant il n'y a pas de différences significatives entre chaque groupe.

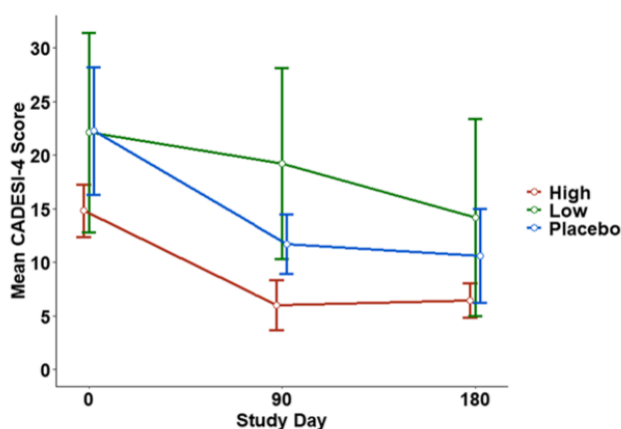


Figure 11 Graphique des CADESI-04 moyens en fonction du nombre de jours post-injection de MSCs à forte dose en rouge, faible dose en vert et le groupe placebo en bleu (Kaur et al., 2021)

Tout cela nous permet de comprendre l'impact que les cellules mésenchymateuses peuvent avoir sur les signes cliniques de la dermatite atopique notamment le prurit. On remarque qu'il y a une tendance à la baisse des signes cliniques grâce à l'administration de ces cellules et ce dès une semaine de traitement. Les améliorations cliniques semblent plus marquées au début de la mise en place des traitements. Cependant, il semblerait qu'il y ait une ré-augmentation des symptômes cliniques après six mois comme dans l'étude de Villatoro et al. (2018) et celle de Kaur et al. (2021). Ceci serait donc en faveur d'une seconde injection après six mois pour permettre une maintenance des effets du traitement aux MSCs.

Il est intéressant de constater que les protocoles ne sont pas identiques dans les 3 études. En effet, ni les doses ni les fréquences ni les endroits d'injection ne sont les mêmes. Il serait dès lors intéressant de conduire d'autres études visant à uniformiser les protocoles afin de proposer une ligne directrice de traitement.

4.2. Greffe de peau

« Les greffes de peau de pleine épaisseur sont des segments de peau avasculaires, composés d'épiderme et de derme détachés complètement de leur lit. » (Vidor et al., 2018).

Celles-ci sont de plus en plus utilisées dans les chirurgies de reconstruction ou encore dans les chirurgies plastiques. Les complications suite à des greffes de peau peuvent être multiples notamment des cicatrisations excessives, une nécrose du greffon, etc.

Comme vu précédemment, les facteurs produits par les ADSCs peuvent exercer une influence sur la cicatrisation, l'inflammation et la vascularisation qui sont des caractéristiques essentielles pour la réussite d'une greffe de peau. D'ailleurs plusieurs études se sont penchées sur leur utilisation en chirurgie réparatrice amenant aux observations suivantes.

D'un point de vue de l'aspect extérieur, on remarque que plusieurs de ces études soulignent que celui-ci est favorisé par rapport à des groupes n'ayant pas reçu de cellules mésenchymateuses. On peut le voir au niveau de la figure douze provenant de l'expérience de Vidor et al. (2018b). L'aspect macroscopique des greffons a été relevé quatorze jours post-opératoires au niveau de deux greffons suturés au niveau du dos de quinze rats Wistar mâle, un étant positionné crânialement et l'autre étant positionné caudalement. Il est donc possible d'observer une différence entre le groupe n'ayant reçu aucun traitement adjuvant à la greffe de peau NC, celui ayant reçu une injection de solution saline SS et celui ayant reçu une injection de 1×10^6 ADSCs dans le tissu sous-cutané du greffon. Les plaies ayant un meilleur aspect sont les 3A, 3B, 4A, 4B et 5B faisant partie du groupe ADSC.

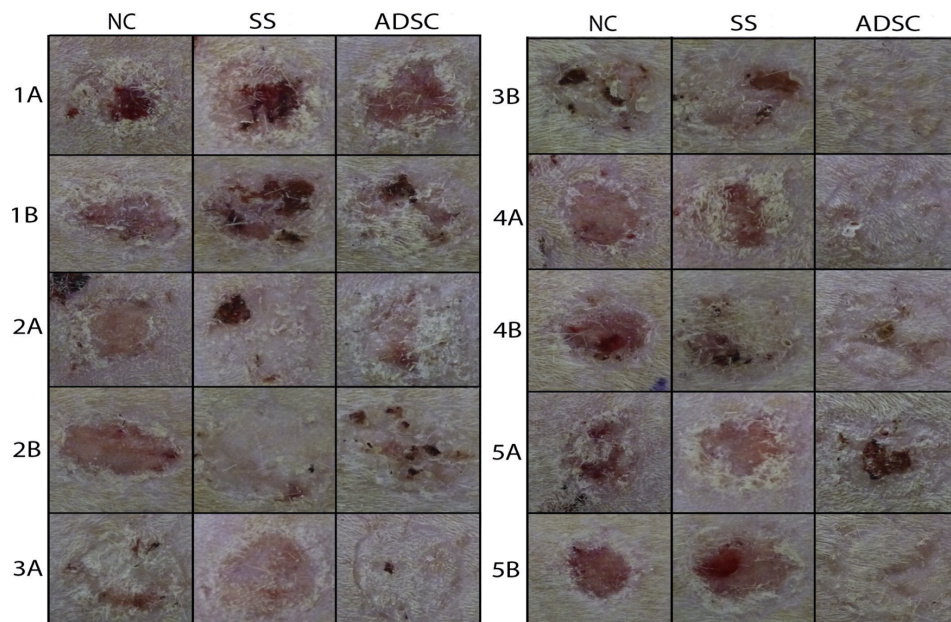


Figure 12

Aspect macroscopique 14 jours post-opératoires. Lettre A correspondant au greffon crânial au niveau du dos et la lettre B correspondant au greffon caudal au niveau du dos. Les numéros correspondant à l'identifiant des animaux. Toutes les photos ont été prise à 15cm de la plaie à une résolution de 300dpi. (Vidor et al., 2018b)

Zografou et al. (2011a) ont identifiés une différence d'aire de nécrose sept jours post-opératoire entre le groupe contrôle ayant reçu du PBS au niveau du fascia musculaire du lit receveur et le groupe ADSCs. Comme on peut l'observer sur la figure treize, la distribution de la nécrose est de $6,12 \pm 7,15\%$ pour le groupe des cellules mésenchymateuses et $32,62 \pm 14,2\%$ pour le groupe contrôle, la différence entre les deux est donc significative.

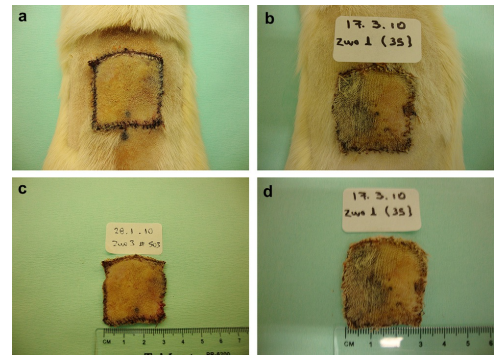


Figure 13 Photographies de rat pour illustrer les zones de nécrose et de survie du greffon 5 jours post-opératoire. (a,c) groupe ADSCs (b,d) groupe contrôle. (Zografou et al., 2011a)

A partir de ces observations et résultats, les scientifiques ont cherché quels étaient les différents facteurs qui permettaient d'améliorer cet aspect macroscopique. Etant donné que l'une des complications majeures de la greffe de peau est une nécrose du greffon suite à un problème de vascularisation, un des premiers facteurs étudiés est l'angiogenèse.

Plusieurs expériences montrent que celle-ci est favorisée par les injections d'ADSCs. Dans la figure quatorze, Wang et al. (2016b) ont mesuré la perfusion du greffon avec une fluxmétrie laser-Doppler LDF. Ceci a permis de mettre en évidence que la perfusion était plus rapide et plus importante lorsque les greffons étaient traités avec des ADSCs en post-opératoire que lorsque les animaux recevaient des injections de solution saline tamponnée au phosphate PBS.

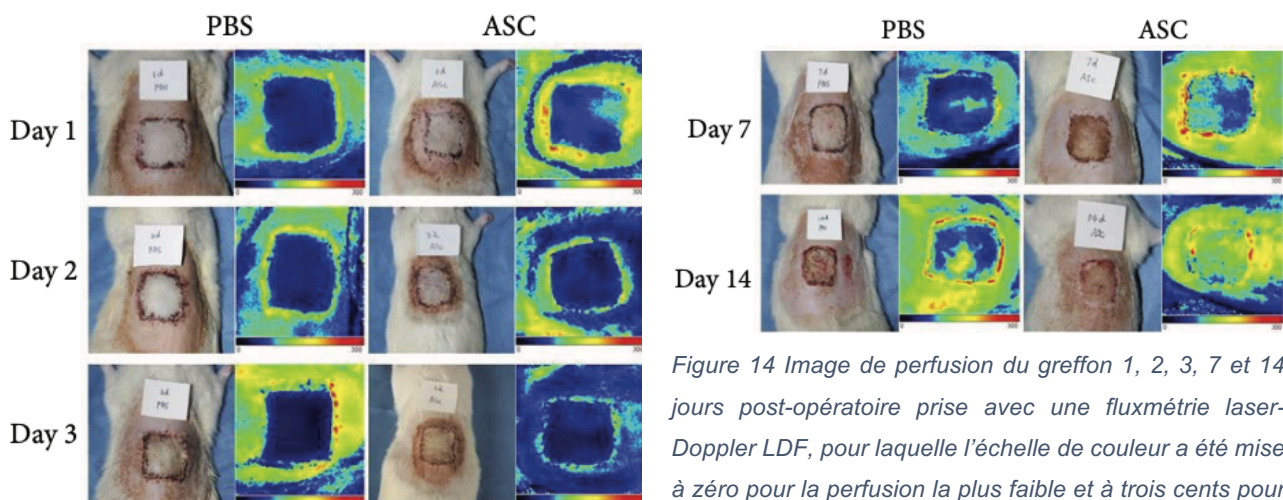


Figure 14 Image de perfusion du greffon 1, 2, 3, 7 et 14 jours post-opératoire prise avec une fluxmétrie laser-Doppler LDF, pour laquelle l'échelle de couleur a été mise à zéro pour la perfusion la plus faible et à trois cents pour la perfusion sanguine la plus élevée (Wang et al., 2016b)

Etant donné que les greffons sont, par définition, des morceaux de peau avasculaire donc ischémique, l'étude de Kondo et al. (2009) est pertinente car ils mesurent la reperfusion d'une zone ischémique suite à l'administration de ADSCs en comparaison à un groupe contrôle. Cette perfusion a également été mesurée par laser-Doppler. Sur la figure seize, on peut voir qu'il y a une différence significative entre le ratio partie ischémique du membre postérieur/partie non ischémique des souris traitées avec des ADSCs et les contrôles ayant reçu des solutions tampons saline PBS. Ceci a permis d'appuyer ce que Wang et al. (2016b) ont prouvé dans leur étude.

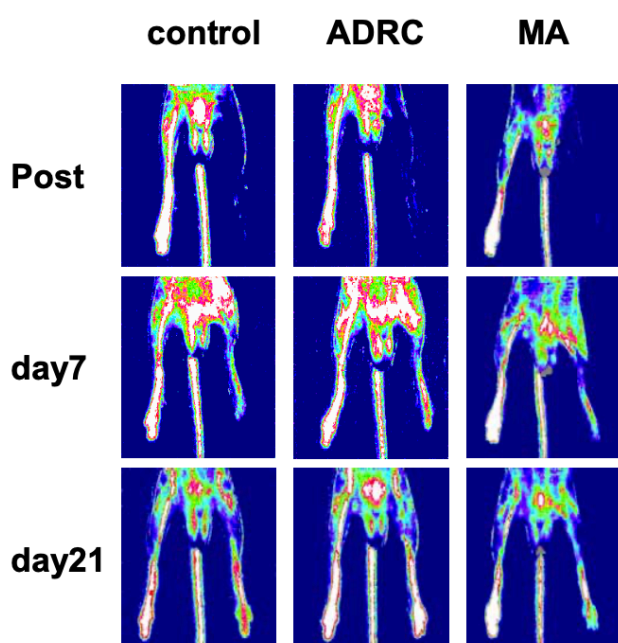


Figure 15 Image de laser-Doppler au niveau des membres postérieurs pour évaluer la reperfusion du membre ischémié entre différents groupes : contrôle ayant reçu du PBS, ARDC ayant reçu des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse, MA ayant reçu des adipocytes matures. (Kondo et al., 2009)

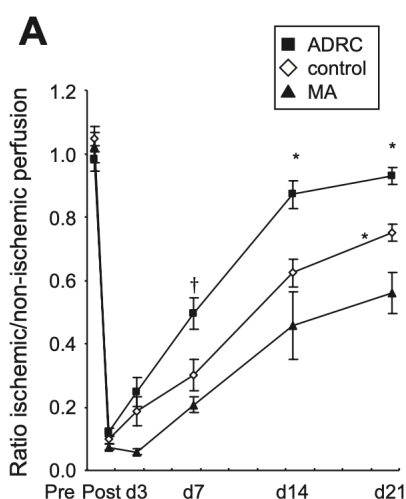


Figure 16 Analyse quantitative de l'angiogenèse au niveau du membre ischémié réalisée à base d'image obtenue par laser-Doppler en post-opératoire, 3 jours post-opératoire, 7 jours post-opératoire, 14 jours post-opératoires et 21 jours post-opératoires, * $p < 0,05$, † $p < 0,01$ vs contrôle (Kondo et al., 2009)

Naturellement, l'hypothèse suivante sera de démontrer si l'angiogenèse est due à la capacité de différenciation des cellules mésenchymateuses ou si elle est due à leur effet paracrine, notamment la sécrétion de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF.

Lu et al. (2008) ont utilisé la coloration à l'hématoxyline pour détecter l'origine des capillaires néovascularisés. Les ADSCs ont été préalablement marqué au 1,1'-Dioctadecyl-3,3,3',3'-Tétraméthylindocarbocyanine Dil fluorescent de manière à les identifier mais aussi pour distinguer les cellules qui pourraient en découler. Les échantillons d'endothélium, prélevés à la suite d'une greffe de peau en pleine épaisseur, ont été observés au microscope optique et fluorescent pour ensuite fusionner les images via un logiciel Lumina Vision ; V220 Olympus. Comme on peut le voir dans la figure dix-sept, quatre des quatorze échantillons traités au ADSCs sont ressortis Dil-positif, c'est-à-dire que les cellules formant l'endothélium sont mauves et donc proviennent de cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse exogène. On peut voir sur la coloration à l'hématoxyline et éosine que les cellules Dil-positives se trouve bien au niveau d'un capillaire.

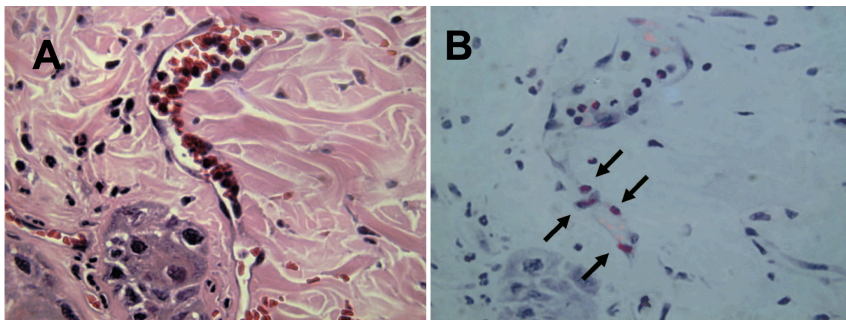


Figure 17 (A) Coloration hématoxyline et éosine qui met en évidence un capillaire sanguin (B) Coloration hématoxyline qui montre les cellules Dil-positives en mauves. Images fusionnées de photographie microscopique et fluorescente (Lu et al., 2008)

On retrouve les mêmes observations dans les expériences de Zografou et al. (2011a) et Wang et al. (2016a). Ceux-ci ayant également identifiés des cellules endothéliales Dil-positives à la suite d'une greffe de peau supplémentée en ADSCs.

Zografou et al. (2011a) ont mis en évidence les vaisseaux sanguins via immunohistochimie en utilisant le facteur de Von Willebrand. Comme on peut l'observer sur la figure dix-huit, les cellules provenant des cellules mésenchymateuses exogènes apparaissent brunes au microscope optique. On peut également observer des cellules endothéliales étant Dil-positive au microscope fluorescent formant un vaisseau sanguin.

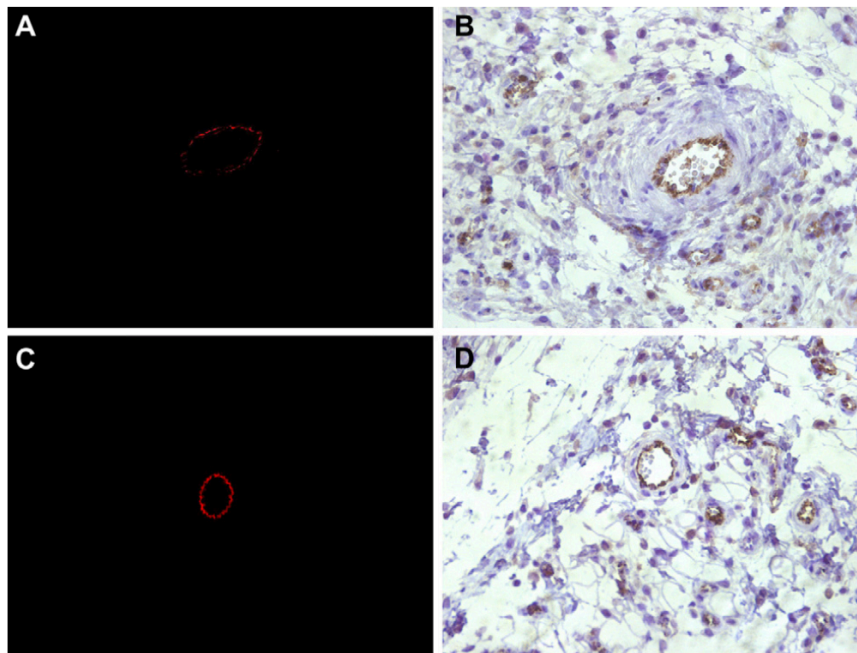


Figure 18 Détection des cellules provenant des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse (A) Microscope fluorescent mettant en évidence les cellules Dil-positives en rouge organisées en une structure ressemblant à une artériole. (B) Immunohistochimie avec le facteur de Von Willebrand mettant en évidence les cellules Dil-positives en brun. (C) Microscope fluorescent mettant en évidence les cellules Dil-positives en rouge organisées en une structure ressemblant à un capillaire. (D) Immunohistochimie avec le facteur de Von Willebrand mettant en évidence les cellules Dil-positives en brun. (Zografou et al., 2011a)

Sur la figure dix-neuf A, Wang et al. (2016a) ont utilisé l'immunohistochimie avec le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire VEGF pour colorer les cellules Dil-positives en brun. Ensuite, ils ont utilisé la microscopie fluorescente pour faire ressortir les cellules Dil-positives en rouge comme on peut le voir dans la partie B de la même figure.

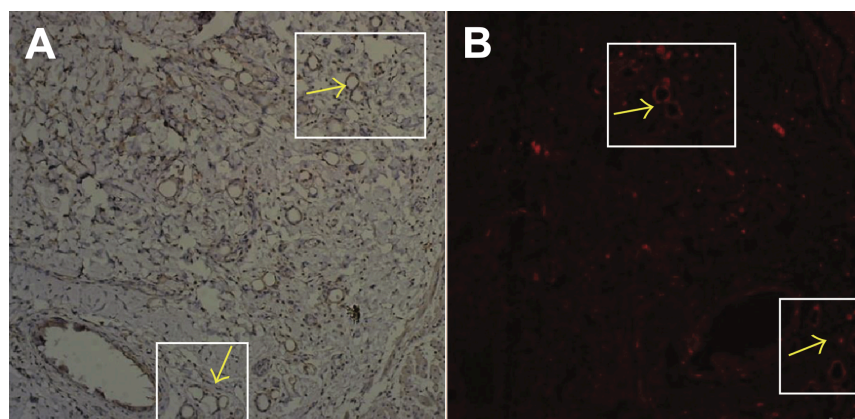
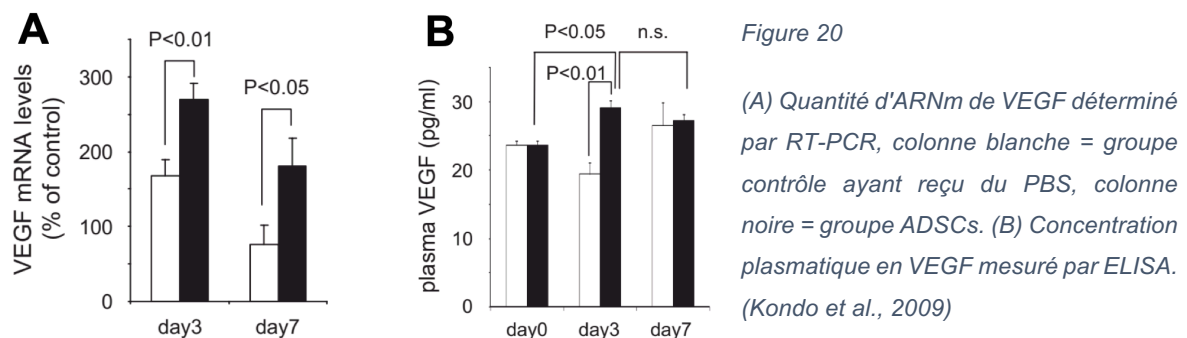


Figure 19 Détection des cellules ADSCs marqué au Dil 14 jours post-opératoire. (A) Immunohistochimie avec le facteur VEGF qui colore les cellules Dil-positives en brun. (B) Microscopie fluorescente met en évidence les cellules Dil-positives organisée en structure ressemblant à des vaisseaux sanguins. Les flèches jaunes indiquent les cellules d'intérêt. Wang et al. (2016a)

On peut conséquemment voir via ces 3 expériences que les cellules composant les endothéliums proviennent en partie des ADSCs qui ont été administrés aux rongeurs. Néanmoins, la quantité reste peu élevée par rapport au nombre de vaisseaux sanguins présents dans les greffons. L'effet principal des cellules mésenchymateuses sur l'angiogenèse serait donc dû à la sécrétion de VEGF via son effet paracrine.

Kondo et al. (2009) ont également mis en évidence une concentration de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire chez les animaux recevant des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse significativement plus grande que le groupe contrôle recevant uniquement du PBS au niveau de la zone ischémisée. On remarque aussi une augmentation des VEGF dans le plasma sanguin, mesuré via ELISA, chez les animaux traités avec des ADSCs lorsqu'on consulte la figure vingt.



Ceci est constaté pareillement par Zografou et al. (2011a). Lors de leur expérience, ils ont observé une quantité plus importante de VEGF dans les groupes ayant reçu des ADSCs en comparaison au groupe contrôle ayant reçu uniquement des injections de PBS. L'expression de VEGF au niveau de l'épiderme-derme dans le groupe ADSCs s'élève à $36,60 \pm 9,27\%$ contre $18,45 \pm 7,29\%$ pour l'épiderme-derme du groupe contrôle. Au niveau du fascia musculaire du lit receveur du greffon, l'expression du facteur de croissance s'élève à $30,13 \pm 9,89\%$ pour le groupe ADSCs contre $15,39 \pm 5,12\%$. La différence entre le groupe contrôle et le groupe ayant reçu des cellules mésenchymateuses ayant une p-valeur < 0,01, nous pouvons donc affirmer que la différence est significative. La figure vingt et un illustre ces données récoltées par Zografou et al. (2011a).

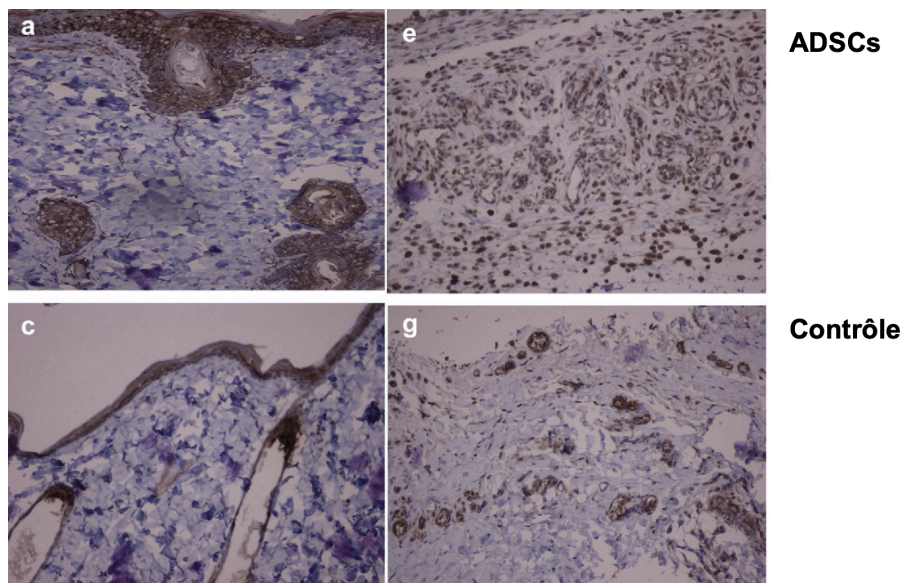


Figure 21 Immunohistochimie VEGF, la coloration brune indique une coloration positive au VEGF. (a) Epiderme-derme du groupe ayant reçu des ADSCs (c) Epiderme-derme du groupe contrôle ayant reçu du PBS (e) Fascia musculaire du lit receveur du greffon du groupe ADSCs. (g) Fascia musculaire du lit receveur du greffon du groupe contrôle ayant reçu du PBS. Observation x 200 (Zografou et al., 2011a)

En conclusion, nous pouvons dire que les cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuses permettent une augmentation de l'angiogenèse de par leur effet paracrine et leur caractéristique multipotente. Cependant, l'effet paracrine semble avoir un effet plus important de que l'effet de différenciation cellulaire au vue des différents résultats présentés.

On peut voir sur la figure 21 de Zografou et al. (2011a) qu'il y a plus de VEGF au niveau de la couche épiderme-derme qu'au niveau du fascia musculaire du lit receveur du greffon. Ceci est accompagné d'une augmentation de la densité de collagène. Les cellules souches mésenchymateuses auraient donc un effet sur le dépôt de collagène. Effectivement, les MSCs sont connues pour sécréter des facteurs de croissance transformant bêta TGF- β , ceux-ci étant une superfamille de facteur ayant un rôle important de médiateur dans la réparation tissulaire. Le TGF- β 3 permettrait de diminuer la fibrose excessive lors de la cicatrisation de plaie.

C'est pourquoi Wang et al. (2016b) ont exploré la distribution du collagène au niveau des plaies post-opératoires avec et sans traitement aux cellules mésenchymateuses en comparaison avec l'immunohistochimie TGF- β 3.

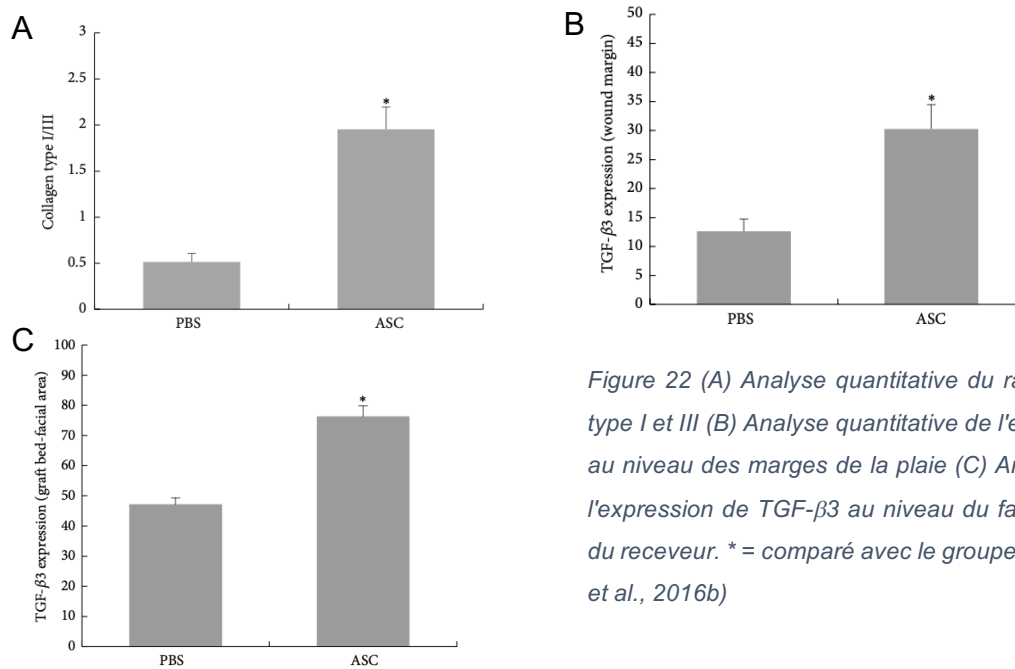


Figure 22 (A) Analyse quantitative du ration de collagène de type I et III (B) Analyse quantitative de l'expression de TGF-β3 au niveau des marges de la plaie (C) Analyse quantitative de l'expression de TGF-β3 au niveau du fascia musculaire du lit du receveur. * = comparé avec le groupe PBS $p < 0,05$. (Wang et al., 2016b)

On peut voir sur la figure vingt-deux que le niveau de TGF-β3 est significativement plus haut lorsqu'on traite avec des ADSCs que lorsqu'on traite uniquement avec du PBS par injection au niveau du fascia musculaire receveur.

On observe également que le ratio collagène I et III est beaucoup plus élevé au niveau du groupe ADSCs que pour le groupe contrôle. Ceci est également démontré via la figure vingt-trois où on observe une structure plus compacte avec un dépôt de collagène supérieur dans le groupe ayant reçu des cellules mésenchymateuses.

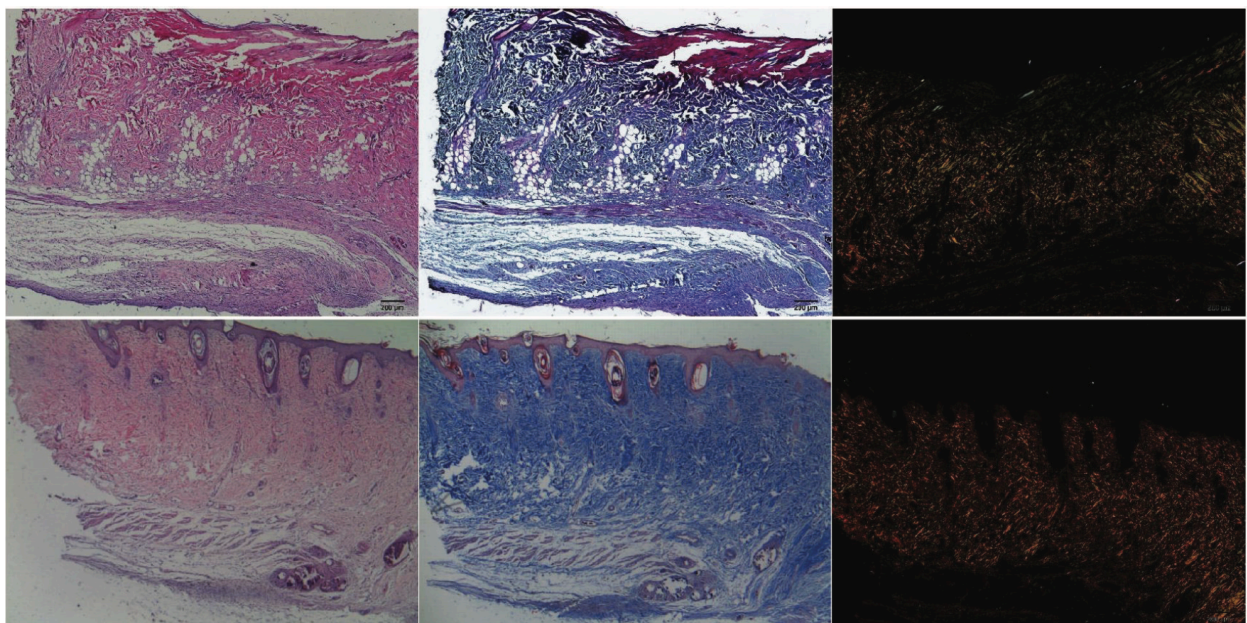


Figure 23 Image microscopique à la coloration à l'hématoxyline et éosine ainsi que la coloration au trichrome de Masson 14 jours post-opératoire. La première ligne étant le groupe PBS et la deuxième ligne étant le groupe ADSCs. (Wang et al., 2016b)

On retrouve cette dominance de TGF- β 3 dans les tissus traités aux cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse au niveau des coupes immunohistochimiques faites avec du TGF- β 3 par Wang et al. (2016b) figure vingt-quatre mais aussi par Zografou et al. (2011a) figure vingt-cinq.

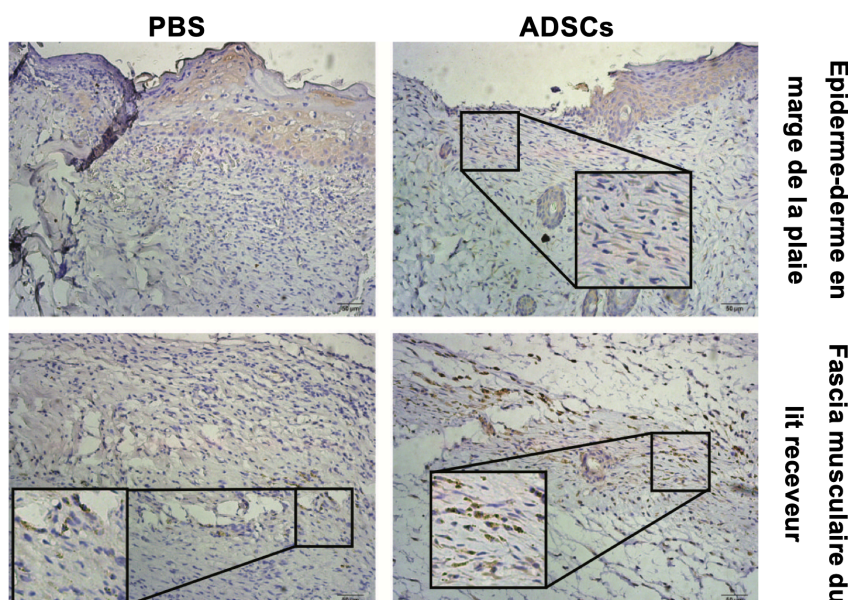


Figure 24

Coupe immunohistochimique faite avec du TGF- β 3 au niveau de l'épiderme-derme au niveau des marges de la plaie mais aussi au niveau du fascia musculaire du lit receveur. La coloration brune met en évidence le TGF- β 3. (Wang et al., 2016b)

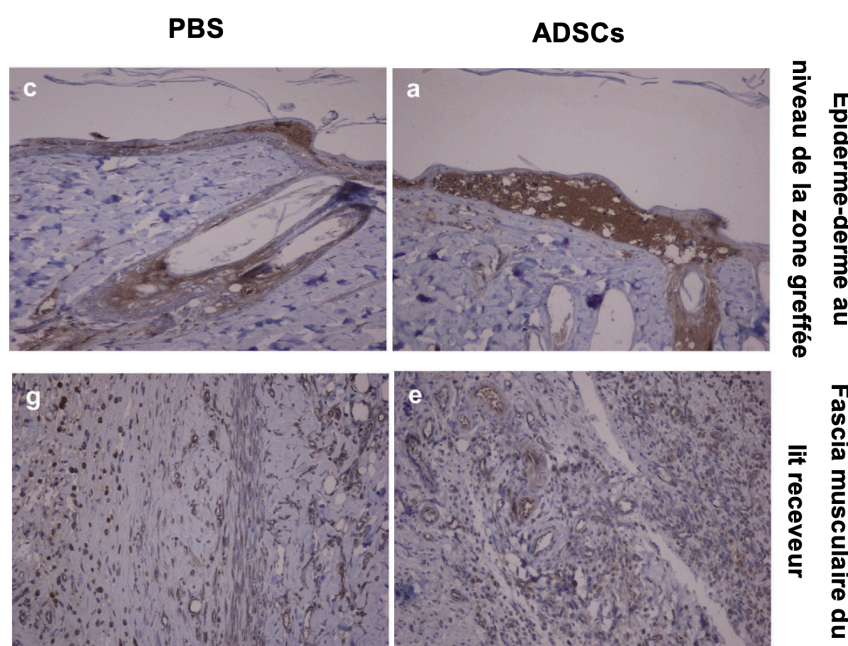


Figure 25

Immunohistochimie TGF- β 3, la coloration brune indique une coloration positive au TGF- β 3. (a) Epiderme-derme du groupe ayant reçu des ADSCs (c) Epiderme-derme du groupe contrôle ayant reçu du PBS (e) Fascia musculaire du lit receveur du greffon du groupe ADSCs. (g) Fascia musculaire du lit receveur du greffon du groupe contrôle ayant reçu du PBS. Observation x 200. (Zografou et al., 2011a)

On peut donc aisément dire que la quantité de TGF- β 3 est plus importante lorsque les animaux sont traités avec des ADSCs et permettrait donc de jouer un rôle sur la cicatrisation notamment par un meilleur ratio de collagène de Type I/III.

Tout ceci nous permet d'apprécier que l'intérêt de l'administration de cellules mésenchymateuses, lors de greffe de peau en pleine épaisseur, réside principalement dans leur effet paracrine notamment via la sécrétion de TGF- β 3 et de VEGF.

Il convient également de souligner que les protocoles utilisés sont également différents les uns des autres de par le site d'administration et/ou la quantité d'ADSCs administrée. Il serait dès lors intéressant de mener d'autres études visant à définir un protocole commun d'utilisation des ADSCs.

5. Cas clinique

Cette utilisation de cellules mésenchymateuses reste assez expérimentale. Cependant, elle commence à être utilisée dans différents domaines en médecine vétérinaire. Enciso et al. (2020) ont notamment essayé de voir les effets que les ADSCs pouvaient avoir sur un chien Bodeguero Andaluz en bonne santé de 2 ans étant présenté pour multiple morsures infligées par un autre chien. Les plaies n'atteignaient pas la couche musculaire et se situaient au niveau du cou, du dos et de la nuque.

De manière à pouvoir constater la différence de cicatrisation entre les plaies traitées avec des cellules mésenchymateuses et celles traitées sans, Enciso et al. (2020) ont traités uniquement les morsures au niveau du dos avec des ADSCs. Les autres morsures ont été traitées conservativement c'est-à-dire qu'elles ont été soignées avec une pommade contenant des extraits de *Centella asiatica* et de la néomycine (Blastoestimulina ® 1%) jusqu'à ce que les plaies soient complètement refermées et qu'une ré-épithélialisation soit observée. Toutes les morsures ont été partiellement suturées avec des points simples en utilisant du monofilament résorbable 2-0.

Le chien a été traité avec 0,2mg/kg de meloxicam pendant huit jours pour ensuite recevoir 0,1mg/kg de meloxicam intramusculaire pendant 24h. Il a également été traité avec 15mg/kg d'amoxicilline trihydrate en intramusculaire pendant 48h et 5mg/kg d'enrofloxacin per os pendant 24h. Après trois jours de traitement, 1×10^7 cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse, mises en suspension dans du PBS, ont été injectées à trois centimètres des marges des plaies en intradermique de manière équidistante entre les plaies.

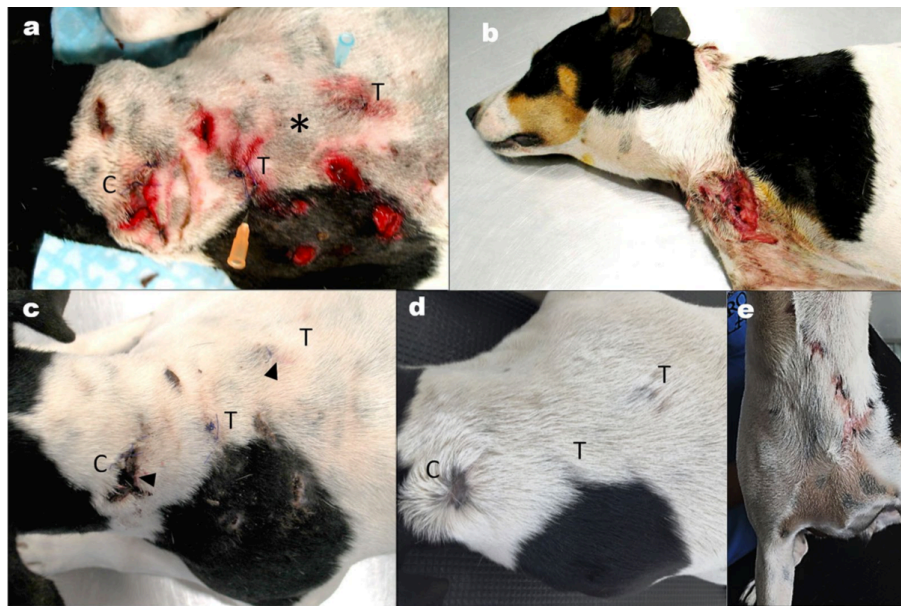


Figure 26 (a) Photo au jour 1 du traitement C = morsures contrôle au niveau du cou, T = plaies traitées avec des ADSCs au niveau du dos, * = endroit d'injection des ADSCs à équidistance des morsures T, à 3cm environ de la marge des plaies. (b) Morsure non traitée au niveau du cou. (c) Jour 7 après que le chien se soit fait attaquer, les flèches représentant les sites de biopsies. (d et e) Plaies 25 jours après le traitement. (Enciso et al., 2020)

Sur la figure vingt-six d et e, on peut voir que les morsures ayant été traitées avec des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse présentent un aspect extérieur ressemblant à de la peau normale avec une repousse de poils alors que les morsures du groupe contrôle sont dépourvues de pilosité et ont une cicatrice visible.

Après sept jours post-traitement, des biopsies cutanées de quatre millimètres de diamètre ont été récoltées pour évaluer de manière microscopique l'évolution des plaies. Ces biopsies ont été colorées à l'hématoxyline/éosine et observées. On peut voir sur la figure vingt-sept (a,b et c) que le groupe contrôle présente différentes caractéristiques compatibles avec une dermatite chronique typique du processus de cicatrisation normal d'une plaie. Le groupe traité au ADSCs, quant à lui, présente une organisation semblable à de la peau saine.

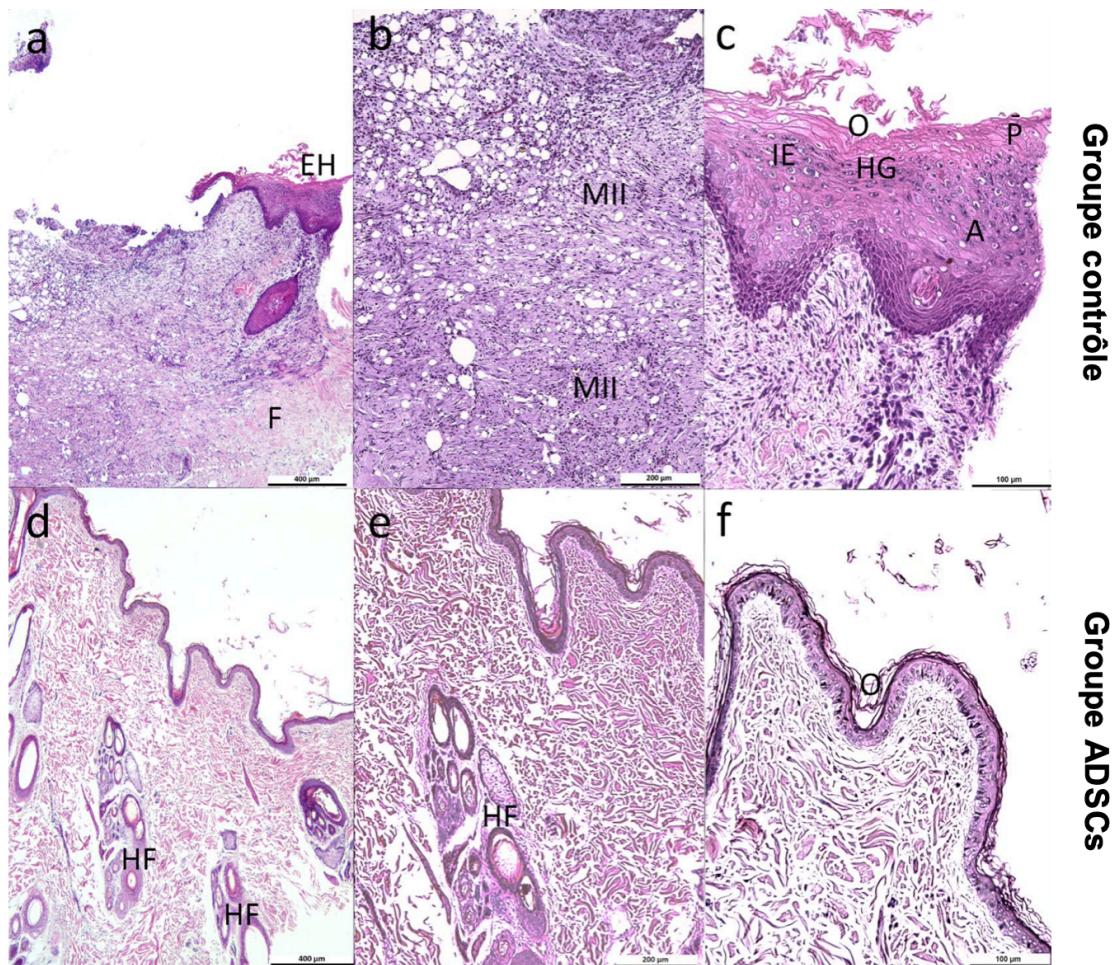


Figure 27 Coupes histologiques 7 jours post-traitement colorées à l'hématoxyline et éosine. (a) F = tissu fibreux, EH = hyperplasie épidermique. (b) MII = infiltrat de cellules inflammatoires mononucléaires, on les retrouve principalement dans le derme moyen et superficiel. (c) O = hyperkératose orthokératosique, P = hyperkératose parakératosique, IE = œdème intracellulaire, HG = hypergranulose, A = acanthose. (d et e) HF = follicule pileux. (f) O = orthokératose. (Enciso et al., 2020)

Suite à ce que nous avons vu dans les articles précédents, nous pouvons aisément comprendre la cicatrisation plus rapide des morsures traitées aux ADSCs. Nous avons vu que les ADSCs diminuent l'inflammation ce qui est confirmé ici étant donné que l'infiltrat de cellules inflammatoires est fortement présent dans le groupe contrôle alors qu'il n'est pas présent dans l'autre groupe. Le dépôt de collagène a également été mieux réalisé étant donné que la cicatrisation excessive qu'on constate au niveau du groupe contrôle n'a pas lieu dans le groupe ADSCs.

Ce cas permet donc d'illustrer ce que nous avons vu précédemment. Cependant, l'utilisation des cellules mésenchymateuses d'origine adipeuse reste assez limitée en pratique vétérinaire.

6. Conclusion

Nous avons abordé les différentes caractéristiques des cellules mésenchymateuses et plus particulièrement celles extraites du tissu adipeux. Ces caractéristiques ont ensuite été confirmées via les différentes études qui ont été avancées. Nous pouvons dès lors conclure que ces cellules permettent notamment de réduire la réaction inflammatoire, de favoriser l'angiogenèse, de favoriser une bonne cicatrisation sans hyperkératose. Via ces diverses recherches, nous avons également observé que ces effets produits par les ADSCs sont principalement dûs à l'effet paracrine que ces dernières exercent et non dûs à leur capacité de différenciation cellulaire.

Leur application pour aider la cicatrisation lors de greffes de peau ou encore lors de plaies est une application qui serait envisageable pour l'avenir. De plus, pour la dermatite atopique nous avons constaté que ces cellules permettaient une nette amélioration des signes cliniques mais qu'il fallait renouveler le traitement après plus ou moins cent-quatre-vingts jours.

Néanmoins, il est difficile de connaître la quantité exacte de cellules mésenchymateuses d'origine adipeuses qu'il faut administrer pour avoir un effet étant donné la diversité des protocoles d'administrations utilisés jusqu'ici. De plus, le lieu d'injection varie fortement en fonction des chercheurs. C'est pourquoi il serait avantageux de faire plus de recherches quant à la quantité minimale de cellules mésenchymateuses pour avoir ces effets bénéfiques mais également si la localisation de l'administration exerce une influence sur les résultats.

7. Bibliographie

1. De Oliveira Ramos, F., Malard, P. F., Brunel, H. D. S. S., Paludo, G. R., De Castro, M. B., Da Silva, P. R. F., & Barreto-Vianna, A. R. (2020). Canine atopic dermatitis attenuated by mesenchymal stem cells. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 7(3), 554.
2. De Vasconcellos Machado, C., Da Silva Telles, P. D., & Nascimento, I. (2013b). Immunological characteristics of mesenchymal stem cells. *Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia*, 35(1), 62-67.
3. Dominici, M., Blanc, K. L., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D. S., Deans, R. J., Keating, A., Prockop, D. J., & Horwitz, E. M. (2006b). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315-317.
4. Enciso, N., Amiel, J., Pando, J., & Enciso, J. (2019). Multidose intramuscular allogeneic adipose stem cells decrease the severity of canine atopic dermatitis : A pilot study. *Veterinary World*, 12(11), 1747-1754.
5. Enciso, N., Avedillo, L., Fermín, M. L., Fragío, C., & C, T. (2020). Regenerative potential of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal cells in canine cutaneous wounds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 62(1).
6. Götherström, C. (2007). Immunomodulation by Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. *Transplantation*, 84(1), S35-S37.
7. Kaur, G., Ramirez, A. B., Xie, C., Clark, D., Dong, C., Maki, C., Ramos, T., Izadyar, F., Najera, S. O. L., Harb, J., & Hao, J. (2021). A double-blinded placebo-controlled evaluation of adipose-derived mesenchymal stem cells in treatment of canine atopic dermatitis. *Veterinary Research Communications*, 46(1), 251-260.

8. Klyushnenkova, E. N., Mosca, J. D., Zernetkina, V., Majumdar, M. K., Beggs, K. J., Simonetti, D. W. J. W. R., Deans, R. J., & McIntosh, K. R. (2005). T cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells : immunogenicity, tolerance, and suppression. *Journal of Biomedical Science*, 12(1), 47-57.

9. Kokai, L. E., Marra, K. G., & Rubin, J. P. (2014b). Adipose stem cells : biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Translational Research*, 163(4), 399-408.

10. Kondo, K., Shintani, S., Shibata, R., Murakami, H., Murakami, R., Imaizumi, M., Kitagawa, Y., & Murohara, T. (2009). Implantation of Adipose-Derived Regenerative Cells Enhances Ischemia-Induced Angiogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 29(1), 61-66.

11. Lichtman, M. K., Otero-Viñas, M., & Falanga, V. (2016). Transforming growth factor beta (TGF- β) isoforms in wound healing and fibrosis. *Wound Repair and Regeneration*, 24(2), 215-222.

12. Lu, F., Mizuno, H., Uysal, C. A., Cai, X., Ogawa, R., & Hyakusoku, H. (2008). Improved Viability of Random Pattern Skin Flaps through the Use of Adipose-Derived Stem Cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 121(1), 50-58.

13. Olivry, T., Saridomichelakis, M., Nuttall, T., Bensignor, E., Griffin, C. E., & Hill, P. B. (2014c). 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. *Veterinary Dermatology*, 25(2), 77-e25.

14. Orciani, M., Campanati, A., Caffarini, M., Ganzetti, G., Consales, V., Lucarini, G., Offidani, A., & Di Primio, R. (2017). T helper (Th)1, Th17 and Th2 imbalance in mesenchymal stem cells of adult patients with atopic dermatitis : at the origin of the problem. *British Journal of Dermatology*, 176(6), 1569-1576.

15. Plant, J. D., Gortel, K., Kovalik, M., Polissar, N. L., & 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. *Veterinary Dermatology*, 23(6), 515-e103.
16. Rybníček, J., Lau-Gillard, P. J., Harvey, R. W., & Hill, P. B. (2009b). Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Veterinary Dermatology*, 20(2), 115-122.
17. Vidor, S. B., Terraciano, P. B., Valente, F. S., Rolim, V. M., Kuhl, C. P., Ayres, L. S., Garcez, T. N. A., Lemos, N. E., Kipper, C. E., Pizzato, S. B., Driemeier, D., Lima, E. O. C., & Contesini, E. A. (2018). Adipose-derived stem cells improve full-thickness skin grafts in a rat model. *Research in Veterinary Science*, 118, 336-344.
18. Villatoro, A. J., Hermida-Prieto, M., Fernandez, V., Fariñas, F., Alcoholado, C., Rodríguez-García, M. I., Mariñas-Pardo, L., & Becerra, J. (2018). Allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in dogs with refractory atopic dermatitis : clinical efficacy and safety. *Veterinary Record*, 183(21), 654.
19. Wang, J., Hao, H., Huang, H., Chen, D., Han, Y., & Han, W. (2016b). The Effect of Adipose-Derived Stem Cells on Full-Thickness Skin Grafts. *BioMed Research International*, 2016, 1-10.
20. Zografou, A., Tsigris, C., Papadopoulos, O., Kavantzias, N., Patsouris, E., Donta, I., & Perrea, D. (2011a). Improvement of skin-graft survival after autologous transplantation of adipose-derived stem cells in rats. *Journal of Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*, 64(12), 1647-1656.

8. Annexe I – Lexique des abréviations

- ADSC = Adipose tissue-derived MSCs, cellules mésenchymateuses issues du tissu adipeux
- BM-MSC = Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell, cellules mésenchymateuses provenant de la moelle osseuse MSC = Mesenchymal Stem Cell, cellules mésenchymateuses
- CADESI-04 = Indice d'étendue et de gravité de la dermatite atopique canine
- CADLI = Indice des lésions de la dermatite atopique canine
- CMH = complexe majeur d'histocompatibilité de classe
- Dil = 1,1'-Diocetadecyl-3,3,3',3'- Tétraméthylindocarbocyanine
- HLA = antigène leucocytaire humain
- IFN- γ = interférons gamma
- IL = interleukine
- ISCT = Société Internationale de Thérapie Cellulaire
- LDF = fluxmétrie laser-Doppler
- PBS = solution saline tamponnée au phosphate
- pVAS = échelle visuelle analogue pour le degré de prurit
- TGF- β = facteurs de croissance transformant bêta
- Th = lymphocytes T Helper
- TNF = facteur de nécrose tumoral
- VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire