



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

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

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 3001

To cite this document: Verset, Michaël. *Étude Expérimentale des Lésions Macroscopiques et Histologiques d'Arthrose du Genou 90 jours après Rupture Chirurgicale du Ligament Croisé Antérieur chez le Chien*. Thèse, ENVL, 2005.

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

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2005 - Thèse n° 93

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES LÉSIONS MACROSCOPIQUES ET HISTOLOGIQUES D'ARTHROSE DU GENOU 90 JOURS APRÈS RUPTURE CHIRURGICALE DU LIGAMENT CROISÉ ANTÉRIEUR CHEZ LE CHIEN

THÈSE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 19 octobre 2005
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Michaël VERSET
Né le 18 août 1980
à Cherbourg



DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : *Stéphane MARTINOT*

Au 1er JANVIER 2005

DEPARTEMENT	PREX	PR1	PRE2	MC	Contractuel, Associe, IPAC Et ISPV	AERC	Charges de consultations et d'enseignement
DEPART. SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. LACHERETZ M. ARTOIS	V. GUERIN-FAUBLEE 90 % A. KODJO D. GREZEL J. VIALARD			
Pathologie infectieuse							
Parasitologie & Maladies parasitaires	MC. CHAUVE	G. BOURDOISEAU	P. DEMONT C. VERNODZY	MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER	S. COLARDELLE		
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTEGRELET	A. LACHERETZ	A. GONTHIER			ISPV
Législation & Jurisprudence				P. SABATIER M.L. DELIGNETTE 80 % K. CHALVET-MONFRAY			
Bio-Mathématiques							
DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA	R. DA ROCHA CARARO	MCC	
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY		G. CHANOIT S. JUNOT K. FORTIER C. DECOSNE-JUNOT	MCC MCC MCC MCC	BENREDOUANE K. N. GAY I. GOUJON
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie/ Hématologie		J.P. MAGNOL C. FOURNEL	C. FLEURY	T. MARCHAL	D. WATRELOT-VIRIEUX P. BELLI D. PIN	MCC MCA MCA	I. BUBLOT C. GALET C. ESCRIOU
Médecine interne		J.L. CADORE		L. CHABANNE F. PONCE	M. HUGONNARD	MCC	F. DURIEUX
Imagerie médicale				E. CAUVIN	J. SONET	MCC	
DEPART DES PRODUCTIONS ANIMALES Zootechnie, Ethologie & Economie rurale		M. FRANCK		P. LETERME			L. MOUNIER
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGRON-MORAND S. BUFF P. GUERIN			
Biol & Patho de la Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETTIN				
Patho Animaux de Production		P. BEZILLE	T. ALOGNINOIWA	R. FRIKHA M.A. ARCIANGIOLI D. LE GRAND	D. LAURENT	MCA	N. GRAUD P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPART SCIENCES BIOLOGIQUES Physiologie/thérapeutique	R. BOVIN			J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN 90 % T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Biophysique/Biochimie Génétique et Biologie moléculaire		F. GARNIER	E. BENOIT F. GRAIN				
Pharmacie / Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK	P. JAUSSAUD P. BERNY				
Langues					C. FARMER R. SULLIVAN	IPAC IPAC	
DEPART HIPPIQUE Pathologie équine Clinique équine Expertise nécropsique		JL. CADORE O. LEPAGE	C. FLEURY	A. LEBLOND A. BENAMOU-SMITH			

A Monsieur le Professeur Jean-Paul CARRET

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Eric VIGUIER

Qui nous a proposé ce sujet de thèse.
Pour le temps passé à l'expérimentation, pour sa correction de notre travail, ses
encouragements dans les moments difficiles.
En témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre admiration.

A Monsieur le Professeur Thierry ROGER

Qui nous a fait l'honneur de juger ce travail et de participer à notre jury de thèse
En remerciement de son travail de réalisation de l'évaluation histologique.

Au Docteur Rodrigo CARARO et au Professeur Didier FAU

Pour leur aide au cours de l'expérimentation.

Merci à toute l'équipe de l'expérimentation animale de l'ENVL pour leur collaboration à cette
étude : Manue, Cédric, Samuel...

Merci à toute l'équipe du laboratoire NOVOTEC pour l'énorme travail accompli : Sylviane,
Martine, Daniel, Ingrid, Catherine...

A **Pierre et Fabien**, que je connaissais si peu et que j'ai découvert grâce à cette étude. Merci
de votre travail, toujours dans la bonne humeur...

A mes parents, Babeth et Paulo

Pour qui ce travail représente l'aboutissement (enfin presque !) de nombreux efforts, voire de sacrifices.

Merci de votre soutien au cours de mes études et pour tous les projets que j'ai entrepris...

Pardon de ne pouvoir passer que peu de temps auprès de vous.

Je vous aime...

A ma mamie, Suzanne

Qui aurait été heureuse d'être présente ce soir...

Pour tout ce que j'aurai aimé lui dire, sans jamais avoir réussi à le faire...

A Mélo

La femme de ma vie, dont la beauté n'a d'égal que son intelligence et qui m'apporte tant de choses au quotidien : sa bonne humeur, son humour, son calme (relatif !).

Merci du chemin parcouru côtes à côtes et de celui, bien plus difficile, qu'il nous reste à découvrir ensemble...

A ma belle (voire belle-belle !) famille

Chantal, Calou, Simoul', Catherine, José, Nathalie et mon pote Mathieu.

Merci d'avoir accepté mon intrusion dans la famille et j'espère que ces soirées tous ensemble seront encore nombreuses...

A Guy

Qui sait si bien transmettre sa passion des sciences.

Pour ces soirées passées à discuter et essayer de comprendre ses travaux de recherche

A Henry Point, ma patate préférée et le rayon de soleil des couloirs de l'Ecole, pour sa bonne humeur, ses blagues foireuses et tous les services qu'il rend au quotidien à l'Ecole.

Aux P'tits Gars, avec un grand Pet et un grand.....G ! **A Guillaume C. alias la Guite** (Mister Calcif 2001 à la fête du graton de St Laurent), **Thomas H. alias 806** (le Mérinos d'Arles ou la poutre de Fontvieille), **Antoine D.-G. alias CO** (le capitaine Flamme équipé d'oursins sous les bras). Les 3 mousquetaires, compagnons de tous les moments, merci pour votre générosité et votre cœur gros comme un galon de Clan... A vos crémaillères du renard finissant en portenawak (perte malencontreuse de vêtements, roupettes show, curling...), à l'ex-futur colocation aux Molières, aux films du samedi soir de Canal+, au salon de l'agriculture et ses soirées Manzana, aux férias d'Arles (vive les belles photos prises devant la télé et les coups de chaleur de la Guite à côté de ses collègues qui tentent de dormir !), aux ventes flash de presse-purée à 5h du mat', aux Tours Eiffel, aux soirées de St Laurent d'Agny (avant septembre) qui finissent...comme elles finissent, aux Coco-Jet® du rallye auto, aux accélérations fulgurantes de Van den Puck-coureur cycliste belgo-moldave, aux trophée Virbac (et aux positions acrobatiques, la Guite !), aux REV d'Avignon (Vahid dit : «toi pas savoir boire ! »)

A Eloi : pour nos soirées qui ont bien évoluées depuis tant d'années ;-) mais pendant lesquelles tu casses toujours la baraque (dans tous les sens du terme). Pour cette belle amitié qui a su traverser les années et les épreuves de la vie...

A mon "Papa", **Joce**, pour m'avoir "lancé" dans le métier. A mon anc(h)ienne **Cathou** et leur joli bébé, **Antoine**. Je vous souhaite plein de bonheur...

A Nico G. qui me supporte depuis Poinca' : pour ces folles soirées nocturnes dans la cour du lycée et les batailles de boule neige mémorables...

A mes collègues de la Caraboule : **Jojo** le médecin-chirdu surdoué, **Seb Martoni** 150 bpm-man, **Nico** le funky-boy, **Tom** le réveil-matin qui casse les tympanes, **Rano** l'homme sage et **Ti'Boon** par intermittence. En souvenir des barbec', des soirées foot-bière-pizza, du jardin enchanté et de ce méchoui terrible (merci à **Nanu et Pubis**, les meilleurs moutons du monde, pourtant pas toujours bien nourris !)

A l'équipe des Poupoufs en jupe et bottes de cuir : **Didine** (la Stéphanoise au carafon bien trempé), **Laura** (IDEM version lyonnaise), **Juliette** (vive les fins de soirée sur Kravitz), **Laëtitia, Anne-Claire, Isa** (et ses chorés sur Michaël Jackson)....
Que les oreilles de vos mecs ne sifflent pas trop !

Aux RHC et RHCettes : **Céline A.** et ses chorés' sur Damien Saez méritant un bibi !, **Emilie R.** ma voisine de la Rès', **Jérèm'** le Chti frisé, **Mel'** (meilleure prof de choré' du monde), **Tox** (8h du jour ou de la nuit ?!), **Camille S., Ben Blachoni, Perrin** c'te bonne Pomme...à nos apéros de poulots à la rès', nos repas de promo qui partent en sucette. **A notre accueil, notre revue** (que je ne voulais pas faire mais qui m'a donné tant de plaisir : surtout le strip...), **à nos poulots** (et surtout ma petite **Sophie** qui deviendra grande !!!) et toute l'équipe d'anciens mobilisée pour leur réussite...

Au groupe 12 (part...ze !) pour les bons moments passés malgré d'inévitables tensions...

A Yann L. pour ton amitié et ses soirées où on rigole toujours vaille que vaille...

A mes anciens, les FCB : **Pablo** (les soirées pâtes au thon et aux herbes tous les 2 me manquent), **Astic & Claudia alias le Glaude et la Glaude** (vive Patrick Topaloff, la choré' de Rabbi Jacob, le salon de l'auto et les beignets qui tachent !), **Cas'** (le roi du déguisement et des merrrrveilleuses soirées), les choupiis **Tap & Lulu** (les Dracenois volants), **Marie & Anthony** et leur sublime **Lennie, Lardon & Thymus** (just married !), **Marc & Céline** et la belle **Juliette, Jean-Phi**, les **P'tits gros** et pièces rapportées pour ces soirées de folie et les Macs P'tits Gros de fin de soirée...

A l'équipe de rugby de l'Ecole, qui travaille les crochets grâce à un entraînement poussé de slalom entre les crottes de chiens. L'ambiance virile des vestiaires, des 3^e mi-temps, des gnons dans la gueule et des sorties dans Lyon (notamment à l'Alcatraz !) me manquera...

A toute la fine équipe des internes et des assistants, que cette année nous profite à tous et toutes et nous permette de nous découvrir et de nous épanouir.

(Pas) **Aux inter-écoles de Toulouse** : ces soirées qui finissent on ne sait où, son soleil qui tape fort, les matchs de rugby en sortant de soirée...

A tous ces enseignant(e)s de l'ENVL qui savent transmettre leur passion avec bonne humeur, patience, désintéressement : IGT, FP, IB, CG, LG, JMB, EV, CC, JPG...

A ma chère salle de boum, mon 2^e "chez moi" pendant 2 ans : ne m'oublie pas et garde-moi une petite place au coin du bar, auprès de Titi, Gus, Lardon, et tous les autres !

A Jolem', prof de bio atypique, malgré nos conflits perpétuels en prépa...

A l'internat de Poinca', ses douches, ses dissections (mystérieusement, les animaux se mettent à voler et se retrouvent dans les WC), ses batailles de couloir, ses foots inter-prépas, et les pauses du soir...

Au Carré Saône et ses bouffes entre amis

Au Flam's de Nancy (et de Lyon un peu aussi) pour ses soirées mouvementées...

Au Carnegie Hall de Corbas et sa patronne si sympathique (!), en souvenir des déjeuners après l'abattoir...

A tous ces remplas et toutes ces gardes qui nous donnent des cernes mais nous permettent de manger...

Aux vétérinaires et aux ASV des Arcades et de Mermoz : merci pour tout !
Aux vétérinaires de Décines : IDEM (dans un sens différent !)

En vrac :

A Ricard® (éternel sponsor de boum), à la croix et au chardon, aux strings en laine, au comique de répétition voire de matraquage, à la Tour Eiffel, aux sloggys noirs, à l'humour des uns qui n'est pas toujours celui des autres, au stress oxydatif, au Chivas blended nichts on the rocks, à la pique aux 4 coins de l'Est de la France (qu'il neige qu'il vente, toujours l'aiguille entre les dents), à l'hélicoptère bulgare, au baby-foot de la K'Fet, aux polys d'anat' avec de drôle de photos en couverture, aux formalités administratives et aux excès de zèle qui n'auront pas simplifié l'obtention de cette thèse...

Au futur qui s'offre à moi grâce à ces quelques feuilles...
...et au passé auquel elles font allusion

Table des Matières

PARTIE 1 : BIBLIOGRAPHIE

I.	<u>Structure microscopique et macroscopique normale de l'articulation du grasset</u>	
A/	Anatomie globale d'une articulation synoviale.....	11
B/	Étude détaillée des différents composants de l'articulation du grasset	
1.	Cartilage articulaire	
a/	Structure.....	13
b/	Composition.....	16
c/	Physiologie.....	21
d/	Relation structure/propriétés du cartilage.....	23
2.	Os sous-chondral.....	23
3.	Capsule articulaire.....	24
4.	Membrane synoviale et synovie	
a/	Membrane synoviale.....	25
b/	Liquide synovial ou synovie.....	26
5.	Ligaments du grasset et rotule	
a/	Rotule.....	27
b/	Ligaments externes.....	27
c/	Ligaments internes.....	28
6.	Ménisques	
a/	Anatomie.....	30
b/	Structure.....	32
c/	Rôle.....	33
II.	<u>Étiopathogénie de l'arthrose</u>	
A/	Étiologie de l'arthrose.....	34
B/	Pathogénie de l'arthrose, affection dégénérative à composante inflammatoire	
1.	L'arthrose, affection dégénérative à composante inflammatoire	
a/	Théorie mécanique.....	35
b/	Théorie cellulaire.....	36
c/	Composante inflammatoire.....	37
d/	Schéma physiopathologique global de l'arthrose.....	39
2.	Mécanismes d'ordre biochimique	
a/	Rôle des enzymes de dégradation du cartilage.....	41
b/	Rôle des facteurs de régulation de la dégradation.....	41
III.	<u>Altérations physiques des différentes structures d'un grasset arthrosique</u>	
A/	Altération du cartilage articulaire	
1.	Chondromalacie et fibrillation.....	47
2.	Fissuration.....	49
3.	Ulcération.....	50
4.	Éburnation.....	50
B/	Formation d'ostéophytes.....	52

C/	Fibrose de la capsule articulaire et modifications de la membrane synoviale	
1.	Fibrose et épaissement de la capsule articulaire.....	53
2.	Modifications de la membrane synoviale.....	54
3.	Modifications de la synovie.....	56
D/	Sclérose de l'os sous-chondral.....	58
E/	Lésions des ménisques	
1.	Mécanismes.....	59
2.	Répartition.....	61
F/	Modifications diverses	
1.	Entésophytes.....	65
2.	Nodules dans le membrane synoviale.....	65

PARTIE 2 : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I.	<u>But de l'étude</u>	67
II.	<u>Matériel et méthodes</u>	
A/	Constitution de la population de chiens	
1.	Nature de la population.....	67
2.	Réalisation du modèle d'arthrose.....	68
B/	Analyse orthopédique des lésions	
1.	Nature des examens orthopédiques.....	69
2.	Grilles d'évaluation clinique.....	69
C/	Analyse macroscopique des lésions	
1.	Prélèvement et préparation préalable des structures du grasset	
a/	<i>Euthanasie des chiens</i>	70
b/	<i>Coupe et dissection du grasset</i>	70
2.	Grilles d'évaluation macroscopique.....	71
D/	Analyse histologique des lésions	
1.	Réalisation des coupes histologiques	
a/	<i>Décalcification du matériel ostéo-cartilagineux</i>	72
b/	<i>Coupes fines</i>	72
c/	<i>Déshydratation</i>	73
d/	<i>Inclusion en paraffine</i>	74
e/	<i>Coupe microscopique</i>	74
f/	<i>Déparaffinage</i>	75
g/	<i>Colorations et immunohistochimie</i>	75
h/	<i>Déshydratation</i>	79
i/	<i>Montage des lames</i>	79
2.	Grilles d'évaluation histologique	
a/	<i>Trochlées fémorales</i>	79
b/	<i>Condyles du plateau tibial</i>	80
c/	<i>Membranes synoviales</i>	83
E/	Traitement statistique des données	83

III.	<u>Résultats orthopédiques, macroscopiques et histologiques des lésions d'arthrose</u>	
A/	Résultats orthopédiques.....	84
B/	Lésions macroscopiques	
1.	Lésions ostéophytiques	
a/	<i>Photographies macroscopiques des condyles fémoraux.....</i>	84
b/	<i>Photographies macroscopiques des trochlées fémorales.....</i>	84
c/	<i>Photographies macroscopiques des condyles tibiaux.....</i>	84
2.	Lésions cartilagineuses	
a/	<i>Photographies macroscopiques des condyles fémoraux.....</i>	84
b/	<i>Photographies macroscopiques des trochlées fémorales.....</i>	84
c/	<i>Photographies macroscopiques des condyles tibiaux.....</i>	84
3.	Lésions méniscales.....	85
4.	Tableaux de résultats des lésions ostéophytiques et cartilagineuses.....	85
C/	Lésions histologiques sur les trochlées fémorales et condyles du plateau tibial	
1.	Lésions des trochlées fémorales	
a/	<i>Photographies microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score).....</i>	86
b/	<i>Tableau de résultats.....</i>	87
2.	Lésions des condyles du plateau tibial	
a/	<i>Photographies microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score).....</i>	87
b/	<i>Photographie microscopique (x100) en immunohistochimie collagène de type I, II et III.....</i>	88
c/	<i>Tableau de résultats en coloration classique.....</i>	88
d/	<i>Tableau de résultats en immunohistochimie collagène de type I, II et III.....</i>	89
D/	Lésions histologiques sur les membranes synoviales	
1.	Photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score).....	89
2.	Tableau de résultats.....	89
IV.	<u>Discussion</u>	
A/	Biais, difficultés et inconvénients de l'étude	
1.	Matériel et méthodes.....	91
2.	Analyse des résultats.....	93
B/	Comparaison avec d'autres études expérimentales similaires	
1.	Méthodologie	
a/	<i>Différents modèles d'arthrose.....</i>	94
b/	<i>Préparation des pièces anatomiques à analyser.....</i>	97
c/	<i>Différents critères d'évaluation macroscopique et histologique.....</i>	99
d/	<i>Différents moyens d'évaluation des lésions articulaires et leurs intérêts comparés.....</i>	102
2.	Résultats	
a/	<i>Lésions cartilagineuses et ostéophytiques.....</i>	112
b/	<i>Lésions de la membrane synoviale.....</i>	114
c/	<i>Lésions méniscales.....</i>	114
d/	<i>Résultats d'immunohistochimie.....</i>	115

Liste des Annexes

Annexe 1 : tableau de résultats des 1 ^{ers} et 2 ^e examens orthopédiques.....	118
Annexe 2 : tableau de résultats des 3 ^e et 4 ^e examens orthopédiques.....	119
Annexe 3 : tableau de résultats des 5 ^e et 6 ^e examens orthopédiques.....	120
Annexe 4 : tableau de résultats du 7 ^e examen orthopédique.....	121
Annexe 5 : photographies macroscopiques des condyles fémoraux avec différents scores ostéophytiques (crédit : E. Viguier).....	122
Annexe 6 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 0 (crédit : E. Viguier).....	123
Annexe 7 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 1 (crédit : E. Viguier).....	124
Annexe 8 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 2 (crédit : E. Viguier).....	125
Annexe 9 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 3 (crédit : E. Viguier).....	126
Annexe 10 : photographies macroscopiques des condyles tibiaux avec différents scores ostéophytiques (crédit : E. Viguier).....	127
Annexe 11 : photographies macroscopiques des condyles fémoraux avec différents scores EVA (crédit : E. Viguier).....	128
Annexe 12 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score EVA de 0 (crédit : E. Viguier).....	129
Annexe 13 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score EVA de 10 (crédit : E. Viguier).....	130
Annexe 14 : photographies macroscopiques des condyles tibiaux avec différents scores EVA (crédit : E. Viguier).....	131
Annexe 15 : photographies macroscopiques des lésions des ménisques médiaux (crédit : E. Viguier).....	132
Annexe 16 : photographies macroscopiques des lésions des ménisques médiaux (crédit : E. Viguier).....	133
Annexe 17 : tableau de résultats de l'analyse macroscopique des lésions cartilagineuses et ostéophytiques.....	134
Annexe 18 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	135
Annexe 19 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	136
Annexe 20 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en coloration HES d'une portion de trochlée fémorale avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de score 4 (crédit : NOVOTEC).....	137
Annexe 21 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la poussée osseuse de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	138
Annexe 22 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la poussée osseuse de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	139
Annexe 23 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des trochlées fémorales en coloration HES.....	140
Annexe 24 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de la morphologie des cellules de la couche superficielle de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	141
Annexe 25 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de la continuité de la couche superficielle de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	142
Annexe 26 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	143

Annexe 27 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	144
Annexe 28 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en coloration HES d'une portion de condyle tibial avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de score 4 (crédit : NOVOTEC).....	145
Annexe 29 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en immunohistochimie collagène de type III d'une portion de condyle tibial avec infiltration péri-cellulaire de collagène type III (crédit : NOVOTEC).....	146
Annexe 30 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en coloration HES.....	147
Annexe 31 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en immunohistochimie collagène de type III.....	148
Annexe 32 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de la densité en profondeur et de l'organisation des fibres de collagène de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	149
Annexe 33 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de la densité en profondeur et de l'organisation des fibres de collagène de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	150
Annexe 34 : photographies des coupes microscopiques (x200 et x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de l'orientation des fibres de collagène par rapport à la synoviale de différents scores (crédit : NOVOTEC).....	151
Annexe 35 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des membranes synoviales en coloration HES...152	

Tables des Illustrations

Figures

Figure 1 : structure macroscopique d'une articulation synoviale, d'après (Genevois J.P., 1992).....	11
Figure 2 : coupe sagittale d'un grasset de chien, d'après (Ruberte J. and Sautet J, 1998).....	12
Figure 3 : orientation des fibres de collagène dans le cartilage articulaire, d'après (Genevois J.P., 1992).....	15
Figure 4 : coupe de cartilage articulaire, d'après (Ficat P., 1979).....	15
Figure 5 : composition de la Matrice Extra-Cellulaire du cartilage articulaire, d'après (Hauselmann H.J., 2001).....	19
Figure 6 : composition de la Matrice Extra-Cellulaire du cartilage articulaire, d'après (Fayolle P., 1997).....	19
Figure 7 : vue dorsale de l'extrémité proximale du tibia montrant les insertions des ligaments croisés.....	28
Figure 8 : vue crâniale du grasset d'un chien après retrait du ligament patellaire, d'après (Hill's Pet Products, 1989).....	29
Figure 9 : vue dorsale de l'extrémité proximale du tibia montrant les ménisques et leurs insertions chez le chien, d'après (Arnoczky S.P., <i>et al.</i> , 1980).....	31
Figure 10 : ménisque latéral normal de chien en vue dorsale et en coupe, d'après (Drapé J. and Ghitalla S., 1993).....	31
Figure 11 : étiologie de l'arthrose, d'après (Fayolle P., 1997).....	34
Figure 12 : physiopathologie des mécanismes biochimiques inflammatoires de l'arthrose, d'après (Fayolle P., 1997).....	38
Figure 13 : physiopathologie globale de l'arthrose, adapté de (Fayolle P., 1997).....	39
Figure 14 : coupe du cartilage articulaire lors de fibrillation, d'après (Budsberg S.C. and Fox S.M.).....	48
Figure 15 : coupe du cartilage articulaire lors d'éburnation, d'après (Budsberg S.C. and Fox S.M.).....	51
Figure 16 : illustration en coupe des stades principaux des lésions du cartilage articulaire.....	51
Figure 17 : illustration de désinsertion ménisco-synoviale de la corne postérieure du ménisque médial, d'après (Chassaing P., 1985).....	60
Figure 18 : illustration des différentes lésions de la corne postérieure du ménisque médial et de leurs pourcentages d'apparition chez le chien, d'après (Drapé J., <i>et al.</i> , 1990a).....	61
Figure 19 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade I selon la classification de Trillat, d'après (Flo G.L., 1993).....	62
Figure 20 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade II selon la classification de Trillat, dite en "anse de seau", d'après (Flo G.L., 1993).....	62
Figure 21 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade III selon la classification de Trillat, dite en "anse de seau", d'après (Flo G.L., 1993).....	63
Figure 22 : illustration de lésion méniscale dite en double "anse de seau", d'après (Flo G.L., 1993).....	63
Figures 23 : illustrations de lésion méniscale dite en "bec de perroquet", d'après (Beale B.S., <i>et al.</i> , 2003).....	63
Figure 24 : illustration de lésion méniscale de rupture transversale, d'après (Beale B.S., <i>et al.</i> , 2003).....	64
Figure 25 : illustration de lésion méniscale de déchirure horizontale, d'après (Beale B.S., <i>et al.</i> , 2003).....	64
Figure 26 : schéma technique de l'immunohistochimie, d'après (Heron J. F., 2005).....	77

Photographies

Photographie 1 : aspect macroscopique du cartilage articulaire d'un chien (crédit : E. Viguié).....	13
Photographie 2 : aspect microscopique (x20) du cartilage articulaire et de l'os sous-chondral (crédit : NOVOTEC).....	13
Photographie 3 : aspect macroscopique d'une lésion de fibrillation du cartilage articulaire d'une tête fémorale de chien, entourée par les flèches noires, d'après (Lopez A., <i>et al.</i> , 2005).....	48
Photographie 4 : aspect microscopique (x200) d'une fissure, entourée par les flèches noires, lors de lésion de fibrillation du cartilage articulaire, d'après (Lopez A., <i>et al.</i> , 2005).....	49
Photographies 5 : aspect macroscopique de lésions d'éburnation du cartilage articulaire de condyles fémoraux de chien à gauche et de lésion d'abrasion de l'os sous-chondral d'une tête fémorale de chien à droite, entourées par les flèches noires, d'après (Lopez A., <i>et al.</i> , 2005).....	50
Photographies 6 : aspect macroscopique d'ostéophytes sur la trochlée fémorale d'un chien, entourés par les rectangles noirs (crédit : E. Viguié).....	52
Photographie 7 : aspect macroscopique d'une hyperplasie villositaire synoviale mise en évidence par immersion de la membrane synoviale dans l'eau, d'après (Lopez A., <i>et al.</i> , 2005).....	55
Photographie 8 : aspect microscopique (x200) d'une hyperplasie villositaire synoviale, d'après (Lopez A., <i>et al.</i> , 2005).....	55
Photographies 9 : représentation des coupes des trochlées fémorales et condyles fémoraux (crédit : E. Viguié).....	72
Photographie 10 : représentation des coupes des condyles fémoraux (crédit : E. Viguié).....	73
Photographie 11 : représentation des coupes des condyles tibiaux (crédit : E. Viguié).....	73

Tableaux

Tableau 1 : caractéristiques physico-chimiques et cytologiques du liquide synovial d'une articulation saine et d'une articulation arthrosique chez le chien.....	57
Tableau 2 : grille d'évaluation orthopédique de l'étude.....	69
Tableau 3 : grille d'évaluation orthopédique secondaire de l'étude.....	70
Tableau 4 : composition du fixateur AFA utilisé dans l'étude.....	70
Tableau 5 : évaluation macroscopique des lésions ostéophytiques.....	71
Tableau 6 : évaluation macroscopique (EVA) des lésions du cartilage.....	71
Tableau 7 : déroulement du processus de déshydratation.....	74
Tableau 8 : déroulement du processus de silanisation des lames.....	74
Tableau 9 : déroulement du processus de déparaffinage des lames.....	75
Tableau 10 : réalisation de la coloration HES.....	77
Tableau 11 : réalisation de la coloration TMG.....	78
Tableau 12 : réalisation de la coloration IHC du collagène I, II et III.....	78
Tableau 13 : déroulement du processus de déshydratation.....	79
Tableau 14 : grille d'évaluation histologique des lésions des trochlées fémorales.....	80
Tableau 15 : grille d'évaluation histologique des lésions des condyles du plateau tibial.....	82
Tableau 16 : grille d'évaluation histologique des lésions de la membrane synoviale.....	83
Tableau 17 : résultats simplifiés de l'analyse macroscopique des lésions cartilagineuses et ostéophytiques.....	86
Tableau 18 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des trochlées fémorales en coloration HES.....	87
Tableau 19 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en coloration HES.....	88
Tableau 20 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des membranes synoviales en coloration HES.....	90

Table des Abréviations

AFA	Alcool-Formol-Acide acétique
ARN	Acide RiboNucléique
BA	Bleu Alcian
COX	Cyclo-OXygénase
EVA	Évaluation Visuelle Analogique
HES	Hématoxyline Eosine Safran
IGF	Insulin-like Growth Factor
IHC	ImmunoHistoChimie
Il	Interleukine
IM	Intra-Musculaire
iNOS	NO Synthétase inductible
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IV	Intra-Veineuse
kDa	Kilo-Daltons
LCA	Ligament Croisé Antérieur
LCL	Ligament Collatéral Latéral
LCM	Ligament Collatéral Médial
LCP	Ligament Croisé Postérieur
LIF	Leukemic Inhibitor Factor
MEC	Matrice Extra-Cellulaire
MMP	Métalloprotéase
PG	ProstaGlandine
REG	Réticulum Endoplasmique Granuleux
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RPS	Rouge de Picro-Sirius
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SC	Sous-Cutané
SO	Score Ostéophytique
TDM	TomoDensitoMétrie
TGF	Transforming Growth Factor
TIMP	Tissue Inhibitors of MetalloProteases
TMG	Trichrome de Masson variante de Goldner
TNF	Tumor Necrosis Factor

Introduction

Cette thèse s'attache à étudier les lésions macroscopiques et histologiques d'arthrose au niveau du genou du chien, ainsi que leurs conséquences cliniques, 90 jours après création d'un modèle d'arthrose par rupture chirurgicale du ligament croisé antérieur (LCA).

Cette étude présente plusieurs intérêts.

Tout d'abord, considérons, d'une part, la prévalence de la rupture de LCA dans l'espèce canine.

Elle est estimée, selon une étude américaine portant sur près de 600 000 chiens, à environ 1,8% (Whitehair J.G., *et al.*, 1993), c'est la 1^{ère} cause d'arthrose et de boiterie du membre postérieur du chien (Dupuis J. and Harari J., 1993) et également l'affection articulaire la plus fréquente chez le chien (Drapé J., *et al.*, 1990a).

D'autre part, observons la gravité des signes cliniques associés à cette pathologie.

Il se dégage ainsi de cette étude un intérêt clinique évident, permettant de qualifier et de quantifier les lésions de l'articulation du grasset 3 mois après rupture du LCA.

De plus, la rupture de LCA chez le chien étant un modèle expérimental d'induction d'arthrose du genou depuis 1973 (Pond M.J. and Nuki J., 1973), il semblait intéressant de comparer les données obtenues dans notre étude avec celles issues d'autres expérimentations.

En outre, la description précise des lésions du genou suite au développement d'un phénomène arthrosique, tant d'un point de vue macroscopique que microscopique, participe à la compréhension de l'évolution de l'arthrose et donc à l'amélioration des traitements de celle-ci, chez l'animal et l'homme.

Par ailleurs, l'utilisation de différents paramètres, de nature histologique, macroscopique et orthopédique, se justifie par la volonté de mettre en évidence l'existence d'un lien entre ces différents types de données ; le but final étant d'établir une grille d'évaluation de l'arthrose, dont chaque stade serait corrélé à des lésions histologiques et macroscopiques ainsi que des signes orthopédiques associés.

Enfin, cette étude expérimentale permet la création d'un atlas des lésions macroscopiques et microscopiques d'arthrose, pouvant servir de base à d'autres études.

PARTIE 1 : BIBLIOGRAPHIE

I. Structure microscopique et macroscopique normale de l'articulation du grasset

A/ Anatomie globale d'une articulation synoviale

Une articulation synoviale (ou diarthrose) est composée des épiphyses des deux os adjacents, de formes congruentes et recouvertes successivement par de l'os sous-chondral et du cartilage articulaire.

Les épiphyses sont maintenues en contact par une capsule articulaire renforcée par des ligaments, formant avec les muscles et tendons environnants les structures de soutien de l'articulation. La membrane synoviale tapisse la face interne de la capsule et délimite la cavité articulaire contenant le liquide synovial (ou synovie) (Genevois J.P., 1992) (cf. : figure 1).

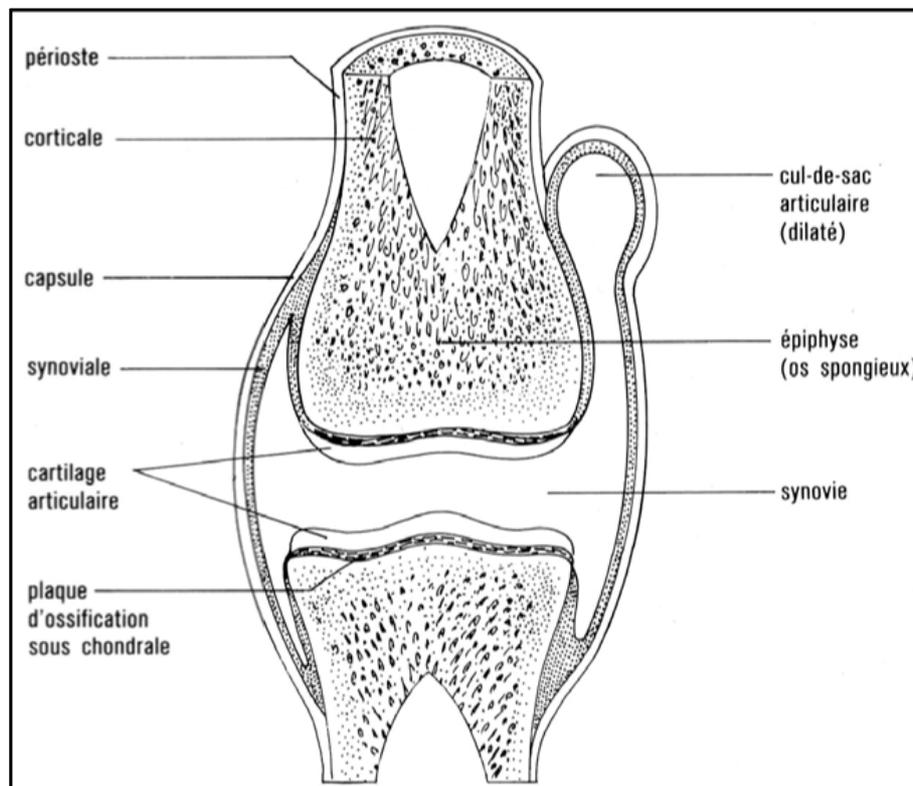


Figure 1 : structure macroscopique d'une articulation synoviale, d'après (Genevois J.P., 1992)

L'articulation du genou (ou grasset ou articulation fémoro-tibio-patellaire) du chien est une articulation diarthrodiale complexe, composée de deux parties interdépendantes : l'articulation fémoro-patellaire et l'articulation tibio-fémorale. Elle met en jeu l'extrémité distale du fémur avec la trochlée fémorale et les condyles fémoraux, la rotule et l'extrémité proximale du tibia formée de deux condyles séparés par trois aires intercondyliennes, l'ensemble constituant le plateau tibial (cf. : figure 2). Deux disques fibro-cartilagineux, le ménisque latéral et le ménisque médial, permettent une meilleure congruence entre les condyles fémoraux sphériques et le plateau tibial, et sont responsables de la répartition des contraintes et de la stabilité articulaire (Barone R., 1968).

Les principaux mouvements du grasset sont la flexion et l'extension par rotation autour d'un axe transverse, les mouvements accessoires étant la rotation interne et externe autour d'un axe longitudinal et une légère rotation valgus-varus autour d'un axe crânio-caudal.

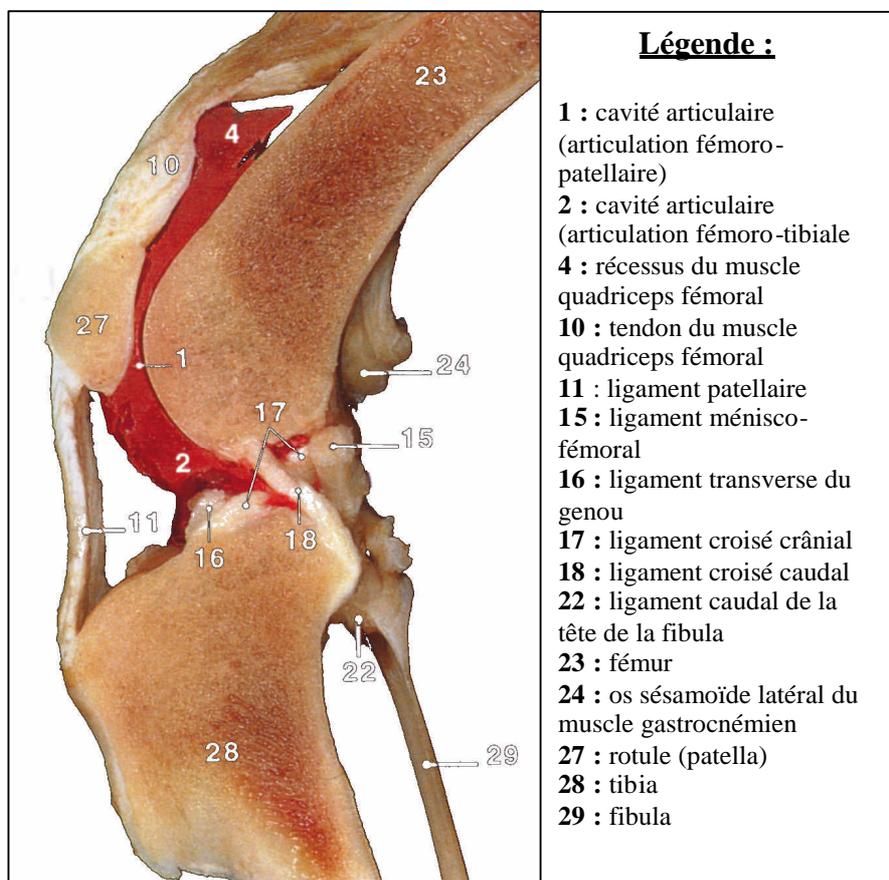


Figure 2 : coupe sagittale d'un grasset de chien, d'après (Ruberte J. and Sautet J, 1998)

B/ Étude détaillée des différents composants de l'articulation du grasset

1. Cartilage articulaire

a/ Structure

Le cartilage est un tissu blanc-bleu, humide et lisse, brillant et ferme dont l'épaisseur varie de quelques centaines de μm à 2 à 3 mm (Trippel S.B. and Mankin H.J., 1993) (cf. : photographie 1). Il s'agit d'un tissu conjonctif différencié, le plus souvent de type hyalin, qui ne contient pas de nerfs, ni de vaisseaux sanguins ou lymphatiques (Loneux P. and Balligand M., 1999a). Il est fermement attaché à l'os sous-chondral (cf. : photographie 2).



Photographie 1 : aspect macroscopique du cartilage articulaire d'un chien
(crédit : E. Viguier)



Légende :

c : cartilage articulaire

***** : os sous-chondral

Photographie 2 : aspect microscopique (x20) du cartilage articulaire et de l'os sous-chondral
(crédit : NOVOTEC)

L'arrangement spécifique, d'un point de vue microscopique, des différents éléments structuraux est responsable des propriétés physiques du cartilage articulaire, structure hautement spécialisée. Il est constitué de chondrocytes placés dans une matrice cartilagineuse amorphe, la Matrice Extra-Cellulaire (MEC).

Cette matrice est composée d'une charpente de collagène formant un réseau trabéculaire qui lui donne sa rigidité et d'une substance fondamentale intermédiaire remplissant tout l'espace libre entre les fibres et les cellules (Henrard J.C., *et al.*, 1972).

Le cartilage est composé d'environ 80% d'eau, retenue sous la forme d'un gel macromoléculaire très stable grâce à la présence d'un type de macromolécules très hygroscopiques : les protéoglycanes, constituant la majeure partie de la MEC.

Des modifications dans l'orientation des fibres de collagène, la répartition des protéoglycanes et l'organisation des chondrocytes permettent de distinguer 4 couches différentes au sein du cartilage articulaire (cf. : figures 3 et 4) (Mitrovic D. and Ryckewaert A., 1978) (Rodkey W.G. and Mckinney L.A., 1993) (Autefage A., 1995b) (Johnston S.A., 1997) :

- une couche superficielle ou tangentielle (C1 ou a) : 5-10% de l'épaisseur
Contenant la plus grande densité de chondrocytes, les fibres de collagène y sont orientées tangentiellement à la surface articulaire, les protéoglycanes y sont peu nombreux. Les chondrocytes apparaissent isolés, de petite taille, de forme allongée (aplatis ou ovalaires) et orientés comme les fibres de collagène. Le contenu aqueux est important, l'activité métabolique y est faible et cette couche est caractérisée par sa souplesse
- une couche intermédiaire ou de transition (C2 ou b) : 40-45% de l'épaisseur
Les chondrocytes y sont arrondis ou ovalaires, de taille supérieure à ceux de la couche superficielle, groupés par deux ou trois et se répartissent de manière anarchique. La matrice extracellulaire est plus conséquente, contient beaucoup de protéoglycanes et les fibres de collagène prennent une disposition anarchique. L'activité métabolique y est importante et cette couche est caractérisée par sa souplesse
- une couche profonde ou radiale (C3 ou c) : 40-45% de l'épaisseur
Contenant des chondrocytes sphériques, de taille supérieure à ceux de la couche de transition, agencées en colonne, un taux élevé de protéoglycanes et des fibres de collagène parallèles, de gros diamètre et perpendiculaires à la surface osseuse. Le contenu aqueux est réduit et cette couche est caractérisée par sa rigidité
- une couche calcifiée (C4) : 5-10% de l'épaisseur
Quasiment de même agencement que la couche radiale mais les protéoglycanes y sont plus rares. Les chondrocytes s'hypertrophient à l'approche de cette couche, deviennent petits et pycnotiques et perdent leur disposition en colonne. Les fibres de collagène y sont associées à un dépôt d'hydroxyapatite et pénètrent dans l'os épiphysaire et permettent ainsi l'ancrage du cartilage articulaire. Cette couche est séparée des zones non minéralisées par une ligne irrégulière et ondulée de calcification, tangentielle à la surface, apparaissant chez l'adulte, appelée "ligne de marée" (ou "tidemark"). Cette couche est caractérisée par sa rigidité bien que le "tidemark" soit une zone de faiblesse

Cette différence d'orientation permet d'expliquer la nature des lésions cartilagineuses dans le phénomène arthrosique.

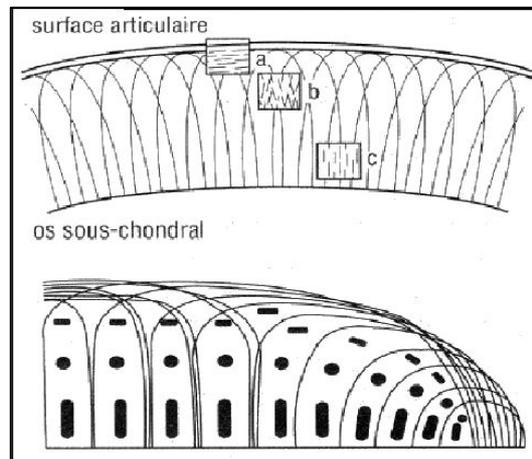


Figure 3 : orientation des fibres de collagène dans le cartilage articulaire, d'après (Genevois J.P., 1992)

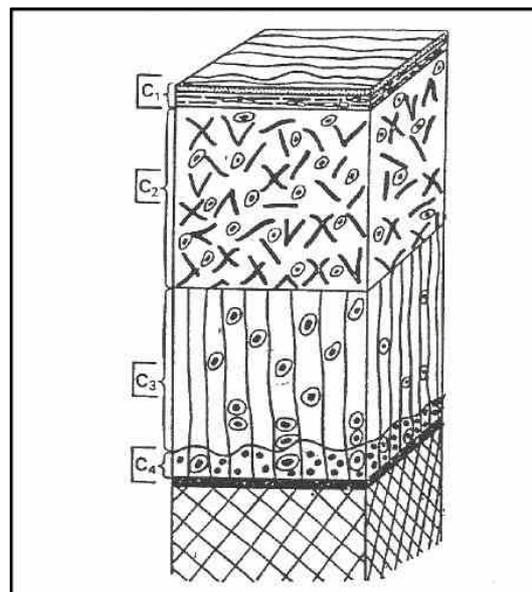


Figure 4 : coupe de cartilage articulaire, d'après (Ficat P., 1979)

b/ Composition

a Matrice Extra-Cellulaire (MEC)

La MEC est la partie la plus importante, en volume, du cartilage articulaire. Elle se compose d'une trame fibrillaire (son support structural), constituée de fibres de collagène, qui baignent dans une substance fondamentale composée essentiellement de protéoglycanes et d'eau.

Cette matrice donne au cartilage ses propriétés de transmission de force à l'os sous-chondral tout en offrant une surface lisse propice aux mouvements articulaires.

La MEC est particulièrement bien adaptée à la résistance aux charges compressives.

• La trame fibrillaire

La trame fibrillaire est constituée essentiellement de fibres de collagène, dont il existe 19 types et qui possède une structure tri-hélicoïdale. Elle constitue environ 20% du poids total et 50% du poids sec du cartilage articulaire.

Le collagène représente la quasi-totalité du poids sec du cartilage articulaire et est composé à 90% de collagène de type II et à 10% de type IX et XI :

- le collagène type IX se trouve dans la zone calcifiée et en surface du cartilage et participe aux interactions entre le collagène type II et les autres composants de la matrice dont les protéoglycanes (Ficat P., 1979). Il semble être un activateur des monocytes et macrophages et avoir un rôle dans la dégradation des cartilages (Herbage D., 1987)

- le collagène type XI se trouve dans la zone calcifiée, n'est pas sensible à l'action des collagénases (Morris N. P. and Bachinger H.P., 1987) et il régule la croissance des fibrilles de collagène dans le cartilage

En surface du cartilage articulaire, on trouve également du collagène de type I et VI (Herbage D., 1987). Le collagène de type VI forme une interface entre la surface des chondrocytes et le réseau de collagène de type II (Soder S., *et al.*, 2002).

Ce système fibrillaire est continu et complètement anastomosé. Etant responsable de la tenue et la rigidité du cartilage, il réalise une véritable charpente de soutènement pour le tissu cartilagineux et permet également le maintien des protéoglycanes de la substance fondamentale *in situ*.

La cohésion mécanique du gel de protéoglycanes est assurée par un réseau tridimensionnel de fibres de collagène (principalement de type II) qui l'emprisonne et évite sa dispersion (Genevois J.P., 1992).

- **La substance fondamentale**

Les protéoglycanes

Les protéoglycanes constituent 22 à 28% du poids sec du cartilage adulte (Mankin H.D. and Brandt K.D., 1997). Ce sont des macromolécules dont le poids moléculaire est compris entre 6.10^4 et 4.10^6 Da. Elles sont formées d'une chaîne protéique axiale de 225 kDa appelée protéine centrale (ou "core protein") sur laquelle sont fixées des chaînes de glycosaminoglycanes (ou GAG).

On distingue trois types de GAG (Johnston S.A., 1997) :

- les chondroïtine 4 et 6-sulfates : répétition d'unité d'acide glycuronique et de N-acétylgalactosamine sulfatée (les 6-sulfates étant majoritaire dans le cartilage adulte normal (Fayolle P., 1997))
- les kératane-sulfates : répétition d'unités de galactose et de N-acétylgalactosamine sulfatée
- les dermatane-sulfates

Les monomères de GAG se lient par une liaison non covalente, stabilisée par une glycoprotéine de liaison, aux acides hyaluroniques. Il se forme ainsi des agrégats de protéoglycanes liés aux fibres de collagène, ou agrécans (cf. : figures 5 et 6).

Les charges négatives des groupements sulfate et carboxyle des chondroïtine et kératane sulfates des protéoglycanes attirent les ions positifs, ce qui crée un appel d'eau et donc une pression considérable dans le cartilage qui résulte à la fois de la pression osmotique et de la pression oncotique (Maroudas A., 1987). Toutefois, la résistance élastique de l'armature de collagène compense cette pression et empêche le cartilage de gonfler (Hargingham T.E., *et al.*, 1994). C'est cet équilibre qui assure au cartilage ses propriétés mécaniques : résistance à l'écrasement et élasticité (Autefage A., 1995b) (Maroudas A., 1986).

L'ensemble forme un tamis moléculaire très fin qui empêche le passage des molécules de fort poids moléculaire (comme les immunoglobulines) mais pas celui des petites molécules comme le glucose, les acides aminés ou l'oxygène (Maroudas A., 1986).

Le renouvellement de ces protéoglycanes est très rapide dans le cartilage sain (1/2 vie de 3 mois, la synthèse s'effectue dans les chondrocytes tandis que la dégradation est assurée par des sulfatases, osidases et protéases. Le principal facteur de régulation de la synthèse des protéoglycanes est la pression exercée sur l'articulation (Maroudas A., 1986).

L'acide hyaluronique

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane non sulfaté, formé de monomères disaccharidiques constitués de N-acétylglucosamine et d'acide glucuronique. La molécule entière pèse environ 5 millions de Daltons (Dougados M., 2000).

Les acides hyaluroniques se retrouvent dans le liquide synovial ainsi que dans la matrice extracellulaire où ils forment une chaîne sur laquelle sont fixés les monomères de protéoglycanes par des liaisons non covalentes (Johnston S.A., 1997).

L'acide hyaluronique du liquide synovial et de la membrane synoviale est synthétisé par les synoviocytes tandis que celui de la matrice extracellulaire du cartilage est synthétisé par les chondrocytes (Dougados M., 2000).

Les agrécanes

Un agrécane désigne un monomère de protéoglycane fixé sur une molécule d'acide hyaluronique (Johnston S.A., 1997). Les polymères ainsi constitués ont un poids moléculaire très élevé, supérieur à 200 millions de Daltons (Maroudas A., 1986).

Les agrécanes possèdent d'importantes propriétés hydrophiles et la rétention d'eau qu'ils engendrent au sein de la MEC confère au cartilage normal ses propriétés d'élasticité qui lui permettent de jouer son rôle biomécanique d'amortissement des contraintes.

La dégradation des agrécanes joue un rôle important dans les changements des propriétés biomécaniques du cartilage. Ce sont les interactions répulsives entre ces agrécanes qui confèrent au cartilage une grande résistance à la compression (Patwari P. and Al., 2000).

L'eau et autres molécules

L'eau représente 75 à 80% du cartilage. La teneur est maximale dans la couche superficielle et diminue progressivement en profondeur. La majeure partie est extracellulaire et fait partie du gel qui soude collagène et protéoglycane. L'autre partie est intracellulaire ou sert aux liaisons moléculaires. Les protéoglycanes ont une affinité remarquable pour l'eau et forment avec elle un mélange intime sous forme d'un gel polyélectrolytique de pression osmotique élevée qui confère au cartilage son rôle d'amortisseur (Ficat P., 1979).

Des molécules d'adhésion entre les chondrocytes et la matrice se trouvent dans le cartilage. Ces protéines permettent l'attachement des chondrocytes au collagène de type II (anchoring, chondronectine et fibronectine) ou aux protéoglycanes et à la fibronectine (tenascin).

Des lipides sont également présents dans le cartilage articulaire, sans que leur rôle soit identifié.

Ainsi, la composition simplifiée de la Matrice Extra-Cellulaire du cartilage articulaire est illustrée dans les figures 5 et 6.

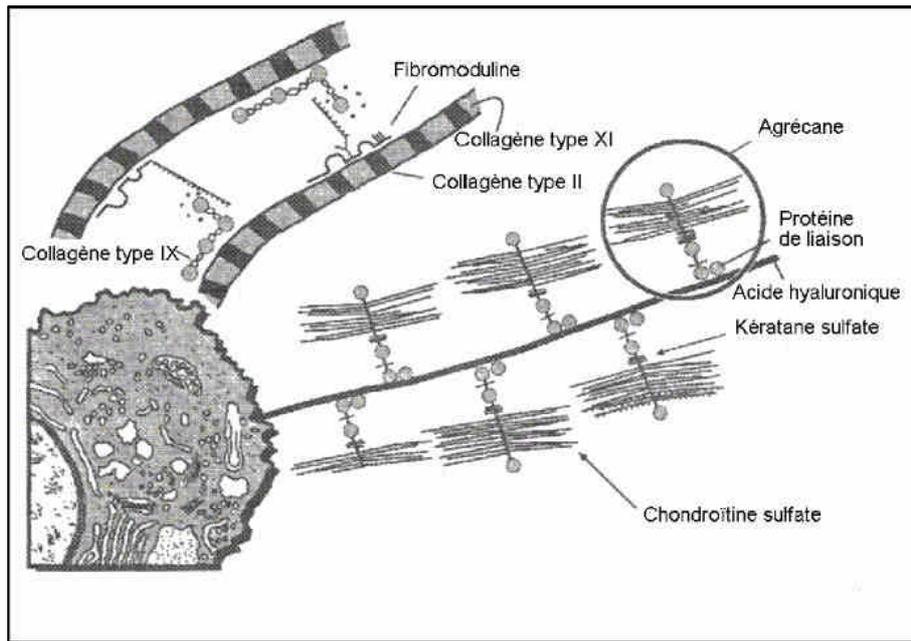


Figure 5 : composition de la Matrice Extra-Cellulaire du cartilage articulaire, d'après (Hauselmann H.J., 2001)

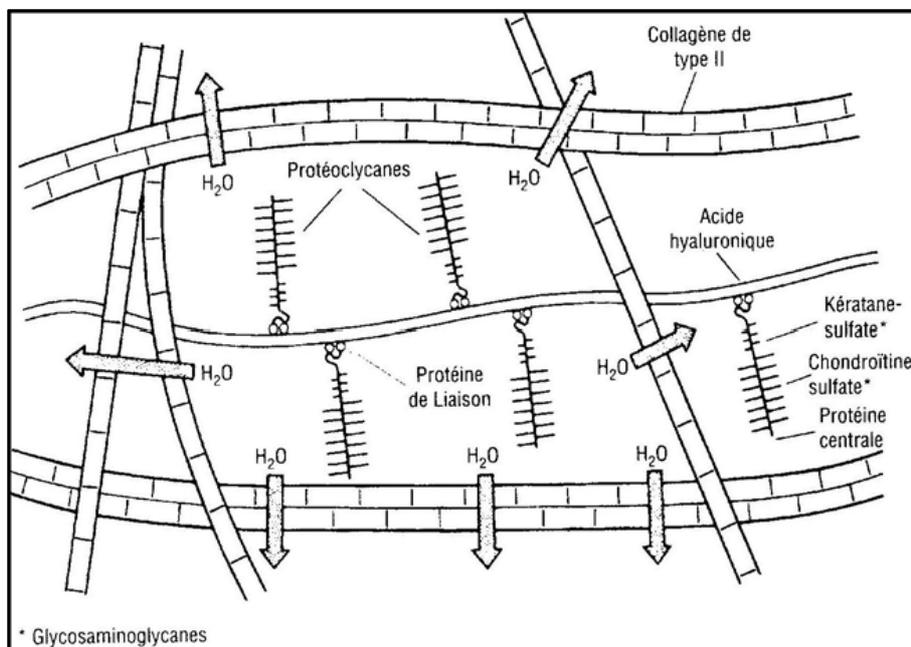


Figure 6 : composition de la Matrice Extra-Cellulaire du cartilage articulaire, d'après (Fayolle P., 1997)

β Chondrocytes

• Aspect

Les chondrocytes sont relativement peu nombreux dans le cartilage adulte, ils représentent moins de 5% du poids sec du cartilage (Johnston S.A., 1997). Ils dérivent de cellules mésenchymateuses, les chondroblastes.

Les cellules cartilagineuses présentent un aspect variable selon la couche du cartilage. On pensait auparavant que la localisation et le nombre de chondrocytes étaient fixes, sans possibilité de division cellulaire à l'âge adulte, ce qui expliquait les possibilités de réparation réduite voire nulle du cartilage (Henrard J.C., *et al.*, 1972). Cette théorie est écartée, les chondrocytes pouvant, en fait, se multiplier lors d'arthrose (cf. : paragraphe II. B/ 1. b/ de la partie 1). En revanche, il est très rare d'observer des chondrocytes en mitose dans le cartilage sain, leur rythme prolifératif étant très lent.

Elles ont un noyau central, des prolongements cytoplasmiques, un réticulum endoplasmique développé, un appareil de Golgi, de nombreux lysosomes, des vacuoles lipidiques et des grains de glycogène (Henrard J.C., *et al.*, 1972). L'équipement en organites cytoplasmiques et en inclusions est plus important dans les couches profondes et intermédiaires, ceci traduit une activité plus importante des chondrocytes dans cette zone (Mitrovic D. and Ryckewaert A., 1978).

• Rôle

Le rôle des chondrocytes est d'assurer l'entretien et le remaniement du tissu cartilagineux. Ils synthétisent les fibres de collagène et les protéoglycanes qui constituent la matrice extracellulaire (anabolisme) tout en assurant d'autre part la dégradation de cette dernière en sécrétant des enzymes cataboliques (catabolisme) (Henrard J.C., *et al.*, 1972).

Ces activités sont régulées par plusieurs médiateurs inflammatoires et facteurs de croissance. Il existe ainsi des facteurs cataboliques comme les cytokines (Interleukines Il-1, TNF- α) et des facteurs anaboliques (par exemple l'Insuline-like Growth Factor-1 (IGF-1) et le Transforming Growth Factor-beta (TGF- β) (Hedbom E. and Häuselmann H.J., 2002).

D'autre part, un stimuli d'ordre physique, la baisse de pression hydrostatique semble entraîner une chute de l'activité anabolique et inversement (May S.A., *et al.*, 1992).

Dans un cartilage normal, les processus anaboliques et cataboliques évoluent à la même vitesse, ce qui crée un équilibre qui permet de préserver les fonctions biomécaniques du cartilage.

Chez l'animal jeune, le cartilage joue un rôle de croissance pour le noyau épiphysaire. Il est donc le siège de multiplications cellulaires et d'une activité métabolique intense. En revanche, chez l'adulte, le nombre des chondrocytes et leur activité est diminué, ce qui implique que toute lésion cartilagineuse est définitive.

c/ Physiologie

α Métabolisme basal

Le cartilage est une structure avasculaire et alymphatique. Sa nutrition est assurée par deux voies (Henrard J.C., *et al.*, 1972) :

- la partie profonde reçoit ses éléments nutritifs des vaisseaux épiphysaires sous-chondraux grâce à des pores qui mettent directement en contact le cartilage calcifié et la moelle osseuse (théorie controversée)
- les couches superficielles qui représentent 2/3 de l'épaisseur du cartilage reçoivent leurs nutriments du liquide synovial dans lequel elles éliminent parallèlement les produits du catabolisme cellulaire

C'est la mise en charge de l'articulation qui rend possible le mécanisme de nutrition et d'élimination des déchets. Ainsi, la compression permet l'expulsion des déchets vers le liquide synovial alors que le relâchement entraîne un retour du liquide nutritionnel dans le cartilage, comme une "éponge" (Rodkey W.G. and Mckinney L.A., 1993). Le tamis moléculaire formé par la MEC sélectionne les molécules pouvant diffuser dans le cartilage (cf. : supra).

β Métabolisme de la matrice cartilagineuse

Le cartilage articulaire est une structure dynamique. Tous les constituants matriciels sont soumis à un turn-over lent mais constant. Ainsi, le turn-over des protéoglycanes est d'environ 280 jours et celui du collagène est pratiquement indétectable chez l'adulte (Genevois J.P., 1992), estimé à 400 ans selon certaines études. Le renouvellement de la matrice extracellulaire résulte de deux phénomènes qui agissent en parallèle (Maroudas A., 1986) :

- un phénomène catabolique, dû à la dégradation des constituants matriciels par des protéases sécrétées par les chondrocytes, les synoviocytes et les cellules inflammatoires
- un phénomène anabolique, aboutissant à la synthèse des nouveaux constituants par les chondrocytes et les synoviocytes

La régulation du turn-over de la matrice est réalisée grâce à plusieurs cytokines qui sont sécrétées par les chondrocytes, les synoviocytes et les cellules inflammatoires.

La dégradation des différents constituants matriciels (collagène, protéoglycanes, acide hyaluronique) est réalisée par des enzymes protéases : les métalloprotéases (MMP). Ces enzymes sont inhibées par des inhibiteurs naturels : les "Tissue Inhibitors of Metalloproteinases" (TIMP-1 et 2). Dans le cartilage sain, ces inhibiteurs se trouvent toujours en excès par rapport aux enzymes, ceci permet de limiter naturellement la dégradation cartilagineuse (Rodkey W.G. and Mckinney L.A., 1993).

Ainsi, certaines cytokines comme l'Interleukine 1 (Il-1), l'Interleukine 6 (Il-6) et le "Tumor Necrosis Factor" (TNF) sont responsables d'une augmentation de l'expression des métalloprotéases ainsi que d'une diminution de production de leurs inhibiteurs (Loneux P. and Balligand M., 1999a). Ceci provoque par conséquent une activation du catabolisme matriciel.

D'autres cytokines sont elles responsables d'une activation de l'anabolisme en stimulant la synthèse des composants matriciels et en inhibant leur dégradation. Ces médiateurs sont le "Platelet-Derived Growth Factor" (PDGF), le "Transforming Growth Factor" (TGF) et l'"Insulin-Like Growth Factor 1" (IGF-1) (Loneux P. and Balligand M., 1999a).

γ Réparation des lésions cartilagineuses

Contrairement à d'autres tissus, le cartilage articulaire de l'adulte ne présente pas une capacité de réparation satisfaisante (Yuehuei H. A. and Friedman R. J., 1999). En revanche, des études ont démontré une réparation correcte à complète du cartilage hyalin des animaux immatures ou pour des faibles lésions (Calandruccio R.A. and Gilmer W.S. Jr., 1962) (Convery F.R., *et al.*, 1972).

Les lésions ne touchant pas toute l'épaisseur du cartilage ne présentent pas de réparation significative jusqu'à plus d'un après leur création, mais les lésions atteignant toute l'épaisseur sont complètement comblées par du cartilage hyalin immature en 4 mois (Depalma A.F., *et al.*, 1966). En effet, il a été démontré ultérieurement que lors de lésion superficielle par rapport au "tidemark" (zone profonde du cartilage articulaire), les chondrocytes prolifèrent mais ne réparent pas le cartilage et lors de lésion profonde par rapport au "tidemark", la fissure se comble par du fibrocartilage (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

La différence significative de réparation entre les lésions complètes et partielles du cartilage indique que le processus de réparation serait plus le fait de la prolifération et différenciation des cellules mésenchymateuses de la moelle osseuse que celui des chondrocytes des abords de la lésion (Depalma A.F., *et al.*, 1966) (Shapiro F., *et al.*, 1993).

La réparation des lésions ne s'effectue pas par le biais de cartilage hyalin normal, mais surtout par du tissu fibreux et fibrocartilagineux (Campbell D.J., 1969).

Ainsi, la réparation des lésions complètes du cartilage suit la séquence suivante : fibrine, tissu de granulation, tissu conjonctif, chondrocyte dans le conjonctif, fibrocartilage, puis cartilage hyalin (Depalma A.F., *et al.*, 1966) (Shands A.R. Jr., 1931).

Les changements structuraux de la MEC et des cellules ont été décrits dans une étude (Ghadially F.N., *et al.*, 1971).

Trois critères semblent déterminants dans la réparation éventuelle du cartilage : la profondeur de la lésion, sa position sur la surface du cartilage et la maturité du cartilage (les résultats obtenus sur les jeunes sujets étant meilleurs) (Silver F.H. and Glasgold A.I., 1995). Il est évident que le facteur de taille de la lésion intervient aussi (Convery F.R., *et al.*, 1972) (Vachon A., *et al.*, 1986).

d/ Relation structure/propriétés du cartilage

Les fonctions du cartilage découlent des propriétés physicochimiques de ses constituants et de leur organisation dans l'espace.

Le cartilage, avec sa charpente fibrillaire, emprisonnant un gel visqueux sous tension, est parfaitement adapté à son triple rôle :

- de glissement, pratiquement sans friction, grâce aux protéoglycanes de la couche superficielle du cartilage et à l'acide hyaluronique du liquide synovial
- de transmetteur des forces à l'os sous-chondral et de répartiteur de pression
- d'amortisseur grâce à son élasticité et son fort pouvoir d'absorption des chocs.

Sa qualité principale est en effet sa fermeté élastique à laquelle concourent l'armature collagénique (résistance aux cisaillements horizontaux et aux frottements) et le gel de protéoglycanes (résistance aux pressions verticales, c'est-à-dire à la compression) (Johnston S.A., 1997).

Aussi, une rupture de l'homéostasie cartilagineuse va mener à une perte de l'élasticité du cartilage articulaire, changeant la répartition des forces de pression, et amenant des pressions anormales sur l'os sous-chondral.

2. Os sous-chondral

L'os sous-chondral est constitué par du tissu osseux spongieux. Il représente une fine couche mince qui sépare le cartilage articulaire de l'os épiphysaire cf. : photographie 2).

Sa vascularisation très riche et sa faible densité lui confèrent une possibilité d'évolution et de remaniement très rapide. Il se modifie pour former juste en dessous du cartilage articulaire, une couche particulièrement dense et solide : la plaque osseuse sous-chondrale. Elle se modifie lors de processus pathologiques (Genevois J.P., 1992).

Il possède une capacité de déformation importante qui lui confère un rôle primordial dans la répartition des forces (Johnston S.A., 1997). Sa déformation permet d'obtenir une congruence articulaire optimale lors du mouvement.

3. Capsule articulaire et structures de soutien de l'articulation

L'appareil de contention désigne l'ensemble des structures qui solidarisent les éléments articulaires entre eux : muscles, tendons, capsule articulaire et ligaments.

La capsule articulaire délimite trois cavités qui communiquent librement entre elles. Deux cavités sont situées entre les condyles du fémur et ceux du tibia (cavités fémoro-tibiales) et l'autre est placée entre la trochlée du fémur et la rotule (cavité fémoro-patellaire). La capsule articulaire s'étend également pour englober l'articulation tibio-fibulaire proximale, de sorte qu'à proprement parler, cette articulation fait également partie de l'articulation du grasset. Les cavités fémoro-tibiales s'étendent aussi proximale pour se placer entre les os sésamoïdiens latéraux et médiaux et la surface caudale du fémur. Latéralement, la cavité fémoro-tibiale s'étend quelque peu distalement pour inclure les tendons d'origine des muscles long extenseur des orteils et poplité et ainsi former des synoviales vaginales pour ces tendons.

La capsule articulaire est constituée de fibres de collagène (majoritaires) et de fibres élastiques qui sont à l'origine de sa grande solidité. Elle est résistante mais peu élastique (Genevois J.P., 1992). Son attache au tissu osseux lui est permise par le prolongement des fibres de collagènes de la capsule par les fibres de collagènes de l'os. Elle est peu vascularisée, d'où l'existence d'un temps de cicatrisation extrêmement lent lors de rupture traumatique (4 à 5 semaines), mais très riche en fibres nerveuses sensibles et sympathiques. Elle est impliquée dans la proprioception et la nociception (Johnston S.A., 1997).

En cas de sollicitation mécanique excessive, elle ne peut se déformer et présente des ruptures partielles ou totales dès que la force à laquelle elle est soumise dépasse sa capacité de résistance (Genevois J.P., 1992).

4. Membrane synoviale et synovie

a/ *Membrane synoviale*

La membrane synoviale recouvre tous les éléments situés à l'intérieur de la cavité articulaire y compris les ligaments, à l'exception du cartilage articulaire et des ménisques.

Elle comprend 3 couches (de l'extérieur vers l'intérieur) :

- un tissu conjonctif de faible cellularité, contenant des vaisseaux sanguins et lymphatiques
- la couche sous-intimale composée de synoviocytes, fibroblastes, cellules endothéliales, mastocytes et macrophages, dotée d'une vascularisation abondante
- la couche intimale composée de 2 ou 3 couches de cellules synoviales ou synoviocytes, sa surface interne étant recouverte de villosités microscopiques qui peuvent s'hypertrophier lors de processus pathologique, comme l'arthrose (Genevois J.P., 1992)

Ainsi, elle est composée d'un réseau très lâche de fibres de collagènes et de fibres élastiques au sein duquel on trouve un nombre relativement réduit de cellules particulières : les synoviocytes.

On y trouve trois types de synoviocytes :

- les synoviocytes A possèdent une morphologie proche de celle des macrophages. Leur rôle de phagocytes intervient dans la résorption de la synovie et des éventuels déchets (Beale B.S. and Goring R.L., 1993)
- les synoviocytes B, d'allure fibroblastique, possèdent un REG et un appareil de Golgi développés et jouent un rôle dans l'élaboration du liquide synovial et la synthèse de l'acide hyaluronique (Johnston S.A., 1997)
- les synoviocytes C, dont le rôle est intermédiaire entre les deux précédents types

La membrane synoviale est nourrie par un réseau de capillaires, elle permet ainsi l'acheminement des substances nutritives vers la cavité articulaire (le liquide synovial étant l'unique source nutritive pour le cartilage articulaire adulte) et les produits du métabolisme articulaire sont éliminés via la circulation synoviale. Cette vascularisation lui permet également une grande capacité réactionnelle en cas d'inflammation et donc une cicatrisation rapide et facile (Genevois J.P., 1992). La membrane synoviale joue également un rôle important dans la distribution des médicaments administrés par voie systémique (Johnston S.A., 1997).

b/ Liquide synovial ou synovie

Le liquide synovial (ou synovie) est élaboré par la membrane synoviale. C'est un ultra-filtrat du plasma auquel les synoviocytes ajoutent l'acide hyaluronique. Il ne contient que peu de cellules par mm³. On y trouve également les produits du métabolisme du cartilage (Autefage A., 1995b). Par ailleurs, il existe dans le liquide synovial de nombreux systèmes enzymatiques (protéases, parmi lesquelles on trouve les métalloprotéases de la matrice) sans action sur le cartilage normal. Ils ont un rôle très important dans la cascade inflammatoire de l'arthrose. Dans certains processus pathologiques cette protection peut disparaître, induisant une dégradation enzymatique du cartilage (Genevois J.P., 1992).

Les caractéristiques de la synovie non-pathologique sont regroupées dans le tableau 1 (paragraphe III. C/ 3. de la partie I)

Son importante viscosité, qui lui est conférée par la présence des acides hyaluroniques, lui permet d'assurer son rôle de lubrifiant des surfaces articulaires en mouvement et de la membrane synoviale (Rodkey W.G. and Mckinney L.A., 1993). Le coefficient de viscosité n'est pas constant mais augmente avec les forces s'exerçant dans l'articulation. La lubrification s'effectue grâce aux acides hyaluroniques et aux glycoprotéines de lubricine, qui permettent de lier les acides hyaluroniques, formant alors des élastiques, lors d'activités mettant en jeu des forces importantes.

Elle se déroule suivant 2 mécanismes : lubrification par surface et lubrification par liquide interposé.

Lors de lubrification par surface, une couche mono- ou poly-moléculaire (dont les complexes acide hyaluronique-protéines) sépare les surfaces articulaires, en réponse à la mise sous pression de l'articulation. Cette lubrification permet les glissements des surfaces articulaires tout en prévenant les adhésions ou abrasions.

Lors de lubrification par liquide interposé, un liquide sépare les surfaces articulaires, la viscosité de ce liquide pouvant augmenter pour former un gel de pression osmotique équivalente à la pression appliquée sur l'articulation (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

Ainsi, lors de pathologie perturbant la synthèse de l'acide hyaluronique, comme l'arthrose, la synovie se trouve fluidifiée ce qui augmente la friction, préjudiciable au cartilage (Genevois J.P., 1992).

De plus, la synovie assure également l'approvisionnement en nutriments du cartilage articulaire, ainsi que l'élimination des déchets métaboliques de celui-ci.

5. Ligaments du grasset et rotule

a/ *Rotule*

La rotule est rattachée au fémur et aux os sésamoïdiens médiaux et latéraux par deux bandes fibreuses minces, les ligaments fémoro-patellaires médial et latéral. Distalement, la rotule est reliée à la tubérosité tibiale par un puissant ligament, le ligament tibio-rotulien ou patellaire. Ce ligament est, en fait, le prolongement distal du tendon de terminaison du muscle quadriceps fémoral. La rotule porte de chaque côté un petit prolongement fibro-cartilagineux connu sous le nom de fibrocartilages parapatellaires médial et latéral.

Distalement à la rotule, un tampon de gras est situé entre le ligament rotulien et la capsule articulaire. Cette quantité de gras constitue le corps adipeux infrapatellaire.

b/ *Ligaments externes*

Les ligaments externes du grasset sont les collatéraux (médial ou LCM et latéral ou LCL), patellaire et fémoro-patellaires (médial et latéral) (cf. : figure 8).

- **Anatomie**

Le fémur est uni au tibia et à la fibula par deux ligaments collatéraux qui limitent les mouvements de latéralité de l'articulation du grasset.

Le LCM s'étend de l'épicondyle médial du fémur au revers du condyle médial du tibia.

Le LCL s'étend de l'épicondyle latéral du fémur à la tête de la fibula et à la région adjacente de l'extrémité proximale du tibia (Vasseur P.B. and Arnoczky S.P., 1981).

- **Rôle**

Le LCM est étroitement associé à la face médiale de la capsule articulaire et du ménisque et permet les mouvements de valgus et une stabilité rotatoire en extension.

Le LCL maintient une stabilité en valgus et également une stabilité rotatoire en extension. Au cours de la flexion, le LCL se relâche et permet une rotation tibiale interne (Vasseur P.B. and Arnoczky S.P., 1981).

c/ *Ligaments internes*

Les ligaments internes du grasset sont les ligaments croisés (crânial ou antérieur et caudal ou postérieur) et les ligaments méniscaux (décrits plus loin) (cf. : figure 8).

- **Anatomie**

Les ligaments croisés du grasset, l'antérieur ou LCA et le postérieur ou LCP, relient le fémur au tibia et limitent le mouvement antéro-postérieur de ces deux os. Ces ligaments se croisent près de leur attache proximale dans la fosse intercondylienne du fémur.

Le LCA naît de la face médiale du condyle fémoral latéral et distalement, le LCA s'attache dans l'aire intercondylienne antérieure du tibia (cf. : figure 7).

Il est constitué de 2 faisceaux : un faisceau antéro-médial tendu en flexion et en extension et un faisceau postéro-latéral, plus important, qui n'est tendu qu'en extension (Harari J., 1995).

Le LCP, quant à lui, naît de la face médiale du condyle fémoral médial et distalement, le LCP s'attache dans l'aire intercondylienne postérieure du tibia près de l'échancrure poplitée (cf. : figure 7).

Il est également constitué de 2 faisceaux : un faisceau principal antéro-médial tendu en flexion et relâché en extension et un faisceau postéro-latéral, relâché en flexion et tendu en extension (Harari J., 1995).

En vue antéro-postérieure, le LCA occupe une position latérale; le LCP occupe une position médiale.

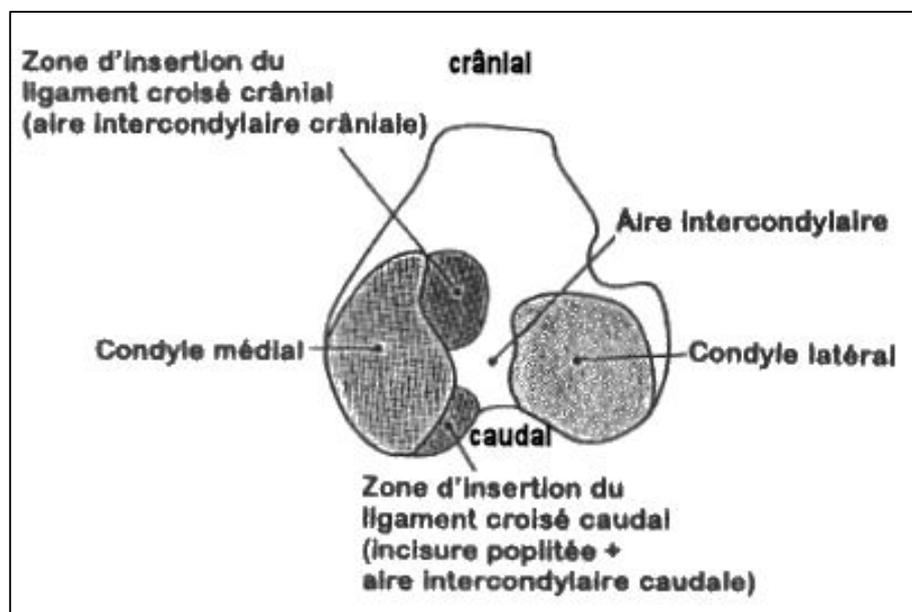


Figure 7 : vue dorsale de l'extrémité proximale du tibia montrant les insertions des ligaments croisés

- **Structure**

Les ligaments internes du grasset sont des structures fibreuses (constitués principalement par des fibres de collagène, en continuité directe avec celles du tissu osseux), pauvres en éléments vasculaires, qui participent à la stabilité articulaire. Ils sont irrigués par la membrane synoviale et sont innervés, participant ainsi à la nociception articulaire (Fayolle P., 2002). Leur vascularisation est assez réduite, d'où l'existence d'un temps de cicatrisation extrêmement lent et d'un potentiel de cicatrisation faible lors de rupture traumatique (4 à 5 semaines). Cela explique leur détérioration progressive consécutivement aux déchirures des ligaments et de la couverture synoviale (Burger R.S. and Larson R.L., 1993).

Ils sont résistants mais peu élastiques.

Ainsi, en cas de sollicitation mécanique excessive, ils ne peuvent se déformer et présentent des ruptures partielles ou totales dès que la force à laquelle ils sont soumis dépasse leur capacité de résistance (Genevois J.P., 1992).

- **Rôle**

Le LCA est la principale contrainte s'opposant aux mouvements antérieurs anormaux et à la rotation interne du tibia par rapport au fémur et à l'hyperextension du grasset.

Le LCP est la principale contrainte s'opposant aux mouvements postérieurs anormaux du tibia par rapport au fémur et il constitue une contrainte secondaire s'opposant à l'hyperextension du grasset.

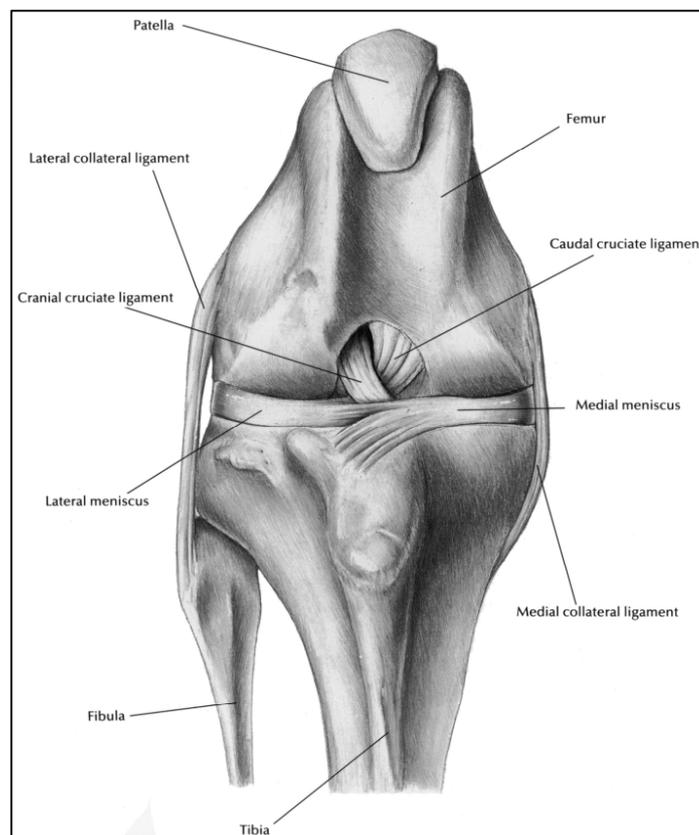


Figure 8 : vue crâniale du grasset d'un chien après retrait du ligament patellaire, d'après (Hill's Pet Products, 1989)

6. Ménisques

a/ Anatomie

À l'intérieur de la capsule articulaire, il existe entre les condyles du fémur et ceux du tibia une paire de disques fibro-cartilagineux semi-lunaires, qui sont les ménisques, l'un médial et l'autre latéral. Chacun d'eux convertit la surface articulaire planiforme des condyles du tibia en une cavité glénoïde moulée sur le condyle correspondant convexe du fémur, mais laissent l'éminence intercondylienne à découvert. Chaque ménisque a la forme d'un C dont le bord excentrique (abaxial) est épais et régulièrement convexe et le bord concentrique (axial) est mince et échancré (cf. : figure 10). Chaque ménisque est formé d'une corne crâniale et d'une corne caudale, délimitant le corps du ménisque.

Chaque ménisque est attaché aux aires intercondyliennes antérieure et postérieure du tibia par de très courts ligaments, les ligaments tibiaux crâniens et caudaux des ménisques (cf. : figure 9). Crânialement, les deux ménisques sont reliés par un ligament interméniscal ou ligament transverse. Caudalement, le ménisque latéral est également rattaché à la fosse intercondylienne fémorale par un ligament ménisco-fémoral. De plus, le ménisque médial adhère fortement au ligament collatéral médial. Le ménisque latéral quant à lui est séparé du ligament collatéral latéral par le tendon d'origine du muscle poplité.

Au cours de la flexion, les ménisques reculent sur le plateau tibial et inversement au cours de l'extension. Lors de la rotation interne du tibia par rapport au fémur, le ménisque médial avance alors que le ménisque latéral recule. Dans ces mouvements, du fait de ses insertions, le ménisque médial est moins mobile que le ménisque latéral.

Les ménisques sont vascularisés par des artères collatérales de celles du genou, mais seulement le long de leurs attaches périphériques à la capsule articulaire, via un plexus vasculaire. Cette zone vasculaire périphérique est à l'origine du processus de réparation, de manière identique à celle des autres tissus conjonctifs (Dehaven K.E. and Arnoczky S.P., 1994). Il faut noter que la majorité des lésions (85%) concerne la zone non-vascularisée (Arnoczky S.P., 1987) (Clamen C., 1979) (Flo G.L., 1983). Les zones plus profondes des ménisques sont approvisionnées en nutriments par diffusion.

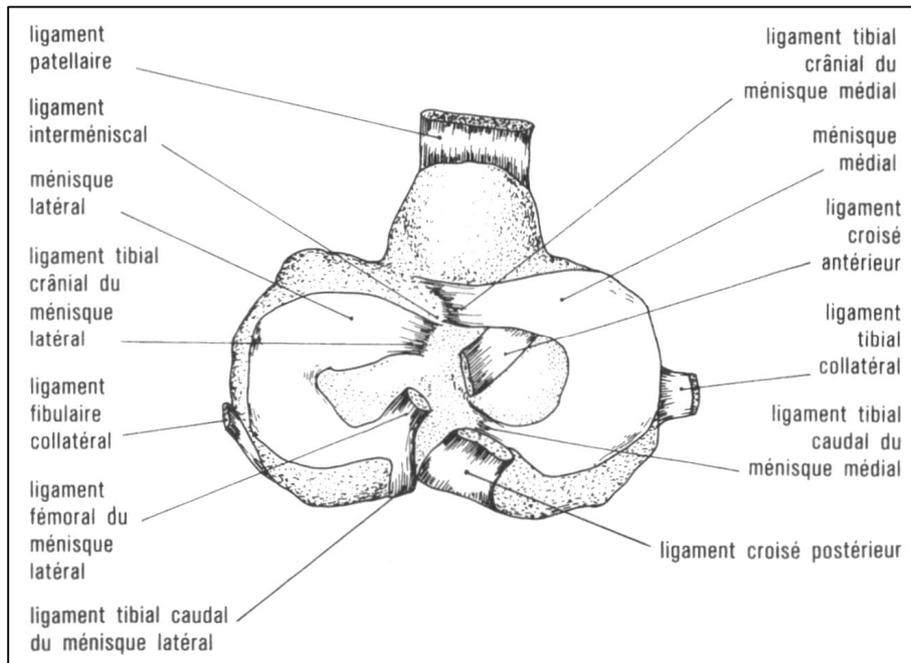


Figure 9 : vue dorsale de l'extrémité proximale du tibia montrant les ménisques et leurs insertions chez le chien, d'après (Arnoczky S.P., et al., 1980)

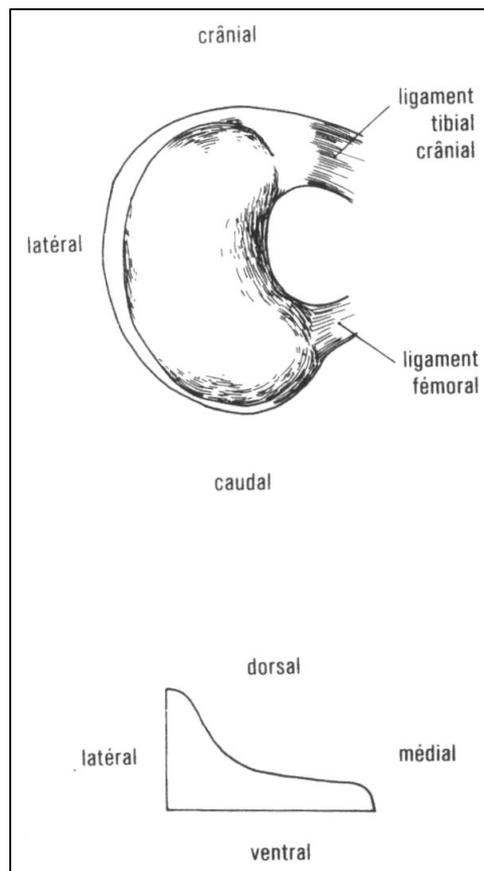


Figure 10 : ménisque latéral normal de chien en vue dorsale et en coupe, d'après (Drapé J. and Ghitalla S., 1993)

b/ Structure

La matrice extracellulaire se compose essentiellement d'eau (environ 75 %) et de matériel solide (environ 25 %) : ce matériel se compose avant tout de collagène, de protéoglycanes et de protéines non collagènes.

Le collagène représente 60 à 75% du poids sec du ménisque. Il y a au moins quatre types de collagène dans la masse méniscale adulte. Il s'agit essentiellement de type I (90 %). Un tout petit pourcentage de types II, V et VI est également présent. Des études ont permis aussi de suggérer la présence de type III (Dehaven K.E., 1990).

Le collagène de type I se rassemble en faisceaux qui s'alignent différemment en superficie et en profondeur. C'est surtout en surface que ces faisceaux s'alignent radialement afin de garantir une surface lisse distribuant symétriquement la charge à l'appui. Le fait que ces faisceaux ne sont pas alignés d'une façon parfaitement symétrique est à l'origine de la défaillance méniscale dans les limites de sa charge. En profondeur nous observons des faisceaux de collagène mais dirigés de façon circulaire afin de coordonner les forces circonférentielles venues de l'insertion méniscale antérieure et postérieure. Nous trouvons également en profondeur dans le corps méniscal la présence de faisceaux de collagène en direction radiale (comme en surface) mais espacés les uns des autres de façon asymétrique (Verdonk R., 1997).

C'est sans doute cette constitution d'un côté solide et d'un autre côté non homogène qui est à l'origine des ruptures intracorporeales méniscales que l'on retrouve si souvent lors de la dégénérescence des corps semi-lunaires. Néanmoins cette configuration radiale et circonférentielle forme une construction optimale à la fonction d'amortissement (Verdonk R., 1997).

Les protéoglycanes, présentes à hauteur de 1 à 3% du poids sec, sont un élément primordial de la matrice extracellulaire. Ces protéoglycanes participent à la stabilité du collagène et, du fait de leur affinité pour l'eau, sont l'élément essentiel de résistance aux forces compressives auxquelles sont soumis les ménisques. La construction de ces protéoglycanes dans l'"éponge collagène" et cette adhérence aux molécules d'eau sont ainsi l'élément de la turgescence méniscale (Verdonk R., 1997).

De l'élastine est présente, à raison de 0,6% du poids sec.

Les cellules des ménisques sont des chondrocytes et fibroblastes. Elles synthétisent la MEC grâce à un métabolisme anaérobie et à un appareil de Golgi et un REG développés. Des cellules fusiformes sont présentes dans les lacunes de la couche superficielle et des cellules ovoïdes dans la couche superficielle et intermédiaire. Leur adhésion à la MEC s'effectue grâce à des glycoprotéines (fibronectine et thrombospondine) (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

c/ Rôle

Les ménisques assurent la distribution des charges à travers l'articulation, en augmentant la surface de contact articulaire (Harari J., 1995).

Ainsi, la fonction portante de ces corps méniscaux a été bien décrite (Fairbank T.J., 1948) (Lemaire R., 1977). En effet sans la présence de ces ménisques le cartilage portant est chargé d'une façon inégale et est le point de départ d'une dégénérescence focale et progressive. Sous charge le contact physique fémur-tibia dans le genou méniscectomisé est de 10 % de la surface et se localise surtout dans le côté médial et postérieur de la partie tibiale. En charge et dans le genou normal le contact fémur-tibia se passe essentiellement sur les ménisques. De plus à la charge et en extension les forces d'appui passent pour 50 % par les ménisques (Ahmed A.M. and Burke D.L., 1983). Elles s'élèvent à 85 % quand le genou est fléchi à 90°.

L'amortissement se fait de façon efficace par la viscoélasticité du complexe cartilage-ménisques dont la surface portante s'agrandit tant que la charge augmente, ramenant ainsi des charges excessives brutales à des niveaux physiologiques.

Ils améliorent l'efficacité de la lubrification articulaire et empêchant la compression synoviale (Harari J., 1995).

La lubrification de l'articulation du genou s'effectue par l'intermédiaire des corps méniscaux et est double : c'est une lubrification par surface ainsi qu'une lubrification par liquide interposé (Dehaven K.E., 1990).

A la marche ou durant la charge axiale, les structures du cartilage porteur et des ménisques permettent, par l'alternance de la charge/décharge, de créer une lubrification continue des surfaces, éliminant en plus l'élément de friction.

De plus, les ménisques assurent le maintien de la stabilité articulaire antéro-postérieure et rotatoire (Harari J., 1995).

L'élément stabilisateur que sont les ménisques dans le genou ne fait pas l'unanimité des experts. Néanmoins il est clair que la méniscectomie en association avec le genou ligamentaire instable augmente de façon considérable la laxité antéro-postérieure ; la lésion méniscale médiale étant très souvent la première étape dans l'histoire naturelle de la rupture du croisé antérieur (Dejour H., *et al.*, 1990).

Enfin, on a également suggéré un rôle dans la sensibilité proprioceptive de l'articulation, se fondant sur les terminaisons nerveuses sensorielles présentes dans les cornes antérieures et postérieures pour les deux-tiers externes (Dehaven K.E. and Arnoczky S.P., 1994). Le corps méniscal est très peu innervé.

II. Étiopathogénie de l'arthrose

A/ Étiologie de l'arthrose

L'arthrose, ou ostéoarthrose, ou ostéoarthrite, ou affection dégénérative ostéo-articulaire, est définie comme étant une affection douloureuse et déformante des articulations synoviales, primitivement dégénérative et non-inflammatoire, mais caractérisée par une inflammation chronique d'intensité variable, ainsi qu'une altération destructive initiale du cartilage articulaire et des modifications secondaires de l'os épiphysaire (Fayolle P., 1997).

Elle s'accompagne rapidement de l'apparition d'ostéophytes, un remodelage de l'os sous-chondral, et des modifications des tissus périarticulaires.

Son importance repose sur sa fréquence et sur sa gravité. On estime qu'elle concerne plus de 20% de la population canine chez les individus âgés de plus d'un an et une étude nécropsique effectuée sur 2000 chiens montre que 78% des animaux présentent des lésions arthrosiques (Peyron J.G., 1987).

L'arthrose résulte d'un déséquilibre entre les contraintes qui s'exercent sur le cartilage et la résistance mécanique de ce dernier (Fayolle P., 1997).

Selon la classification dichotomique de Ficat (Ficat P., 1979), on distingue classiquement deux phénomènes (cf. : figure 11) :

- les chondroses mécaniques (origine la plus fréquente chez les Carnivores Domestiques), lorsque des contraintes mécaniques anormalement élevées s'exercent sur un cartilage initialement normal (instabilité articulaire, fractures, déchirures ligamentaires, obésité, anomalie de conformation articulaire, défaut d'aplomb, immobilisation articulaire prolongée...)
- les chondroses structurales, lorsque des contraintes mécaniques normales s'exercent sur un cartilage dont les propriétés mécaniques sont altérées (consécutives à une inflammation articulaire chronique, liées à l'âge, d'origine auto-immune, liée des facteurs biochimiques et héréditaires...)

Il est à noter que des traumatismes répétitifs peuvent être à l'origine d'une chondrose mécanique ou structurale (Fayolle P., 1997).

Chez le chien, les lésions du LCA et celles du ménisque médial, entraînant une chondrose mécanique, sont les causes les plus fréquentes d'arthrose du grasset (Dupuis J. and Harari J., 1993).

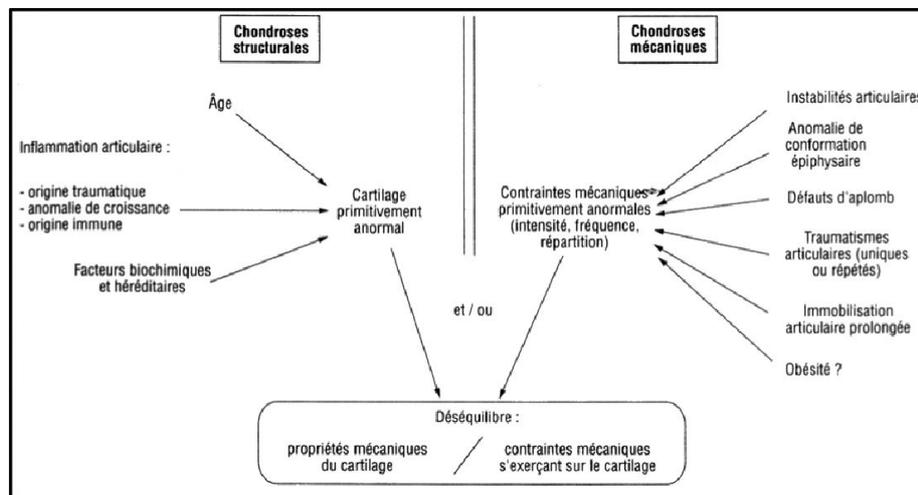


Figure 11 : étiologie de l'arthrose, d'après (Fayolle P., 1997)

B/ Pathogénie de l'arthrose

1. L'arthrose, affection dégénérative à composante inflammatoire

La stabilité de l'articulation, avec une transmission, dispersion, et absorption normales des forces, n'est possible que si tous les constituants de l'articulation sont normaux. Toute anomalie va entraîner une altération physique de la microstructure du cartilage, et des lésions cellulaires et membranaires.

La dégradation du cartilage est considérée comme primitive dans le phénomène arthrosique (Mitrovic D., 1984). Elle peut être initiée par des causes mécaniques (modification de la MEC du cartilage) et biochimiques (modification de l'activité des chondrocytes). On distingue ainsi, concernant la pathogénie de l'arthrose, la théorie mécanique de la théorie cellulaire, ces deux pouvant être complémentaires et imbriquées (Simon L., *et al.*, 1989).

Secondairement aux lésions cartilagineuses, une composante inflammatoire se développe et entretient le phénomène arthrosique.

a/ Théorie mécanique

La théorie mécanique est basée sur la notion d'un cartilage initialement sain mais soumis à des contraintes anormales, qui vont entraîner des fractures de la trame collagénique.

Les lésions du cartilage vont principalement s'installer en zone de charge, c'est-à-dire sur les parties fonctionnellement très sollicitées (Fayolle P., 1997).

L'élément central de modification du cartilage articulaire est la désorganisation du réseau des fibres de collagène.

La perte de cohésion entre les fibres de collagène superficielles, liée à l'action d'enzymes cataboliques (cf. : infra), entraîne une modification du contenu en eau du cartilage (par exposition des charges négatives des protéoglycanes qui attirent des cations comme le sodium et l'eau), d'où une dilution des protéoglycanes et une altération des propriétés biomécaniques du cartilage, se trouvant alors dans un état d'hyperhydratation appelé chondromalacie qui contribue à la perte de protéoglycanes et fragilise encore le réseau de collagène (Autefage A., 1995a).

D'autre part, le relâchement de la trame fibrillaire provoque une diminution du rôle contentif du collagène vis-à-vis des protéoglycanes.

Il en découle une fuite des protéoglycanes hors de la matrice cartilagineuse (Simon L., *et al.*, 1989).

b/ Théorie cellulaire

La théorie cellulaire considère le chondrocyte comme une cellule mécanosensible susceptible de s'activer lorsque les contraintes mécaniques dépassent un certain seuil (Fayolle P., 1997).

D'une part, le chondrocyte, une fois activé (sous l'action de cytokines ou d'un stress mécanique important), libère des enzymes regroupées sous le nom de métalloprotéases (ou MMP, dont les principales sont les collagénases et stromélysines) et diminue la libération des inhibiteurs des métalloprotéases (TIMP). Ainsi, certaines cytokines comme l'Interleukine 1 (Il-1), l'Interleukine 6 (Il-6) et le "Tumor Necrosis Factor" (TNF) sont responsables d'une augmentation de l'expression des métalloprotéases ainsi que d'une diminution de production de leurs inhibiteurs (Loneux P. and Balligand M., 1999a). Ceci provoque par conséquent une activation du catabolisme matriciel, la concentration en métalloprotéases actives étant augmentée (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994). Des études montrent que le collagène de type II subit une dégradation débutant en zones superficielle et intermédiaire superficielle du cartilage, puis s'étendant en zones intermédiaire profonde et profonde, correspondant aux sites d'activité des collagénases, autour des chondrocytes (Hollander A.P., *et al.*, 1995) (Stoop R., *et al.*, 2001). Cette activité de dégradation semble ainsi être plus importante en zone profonde du cartilage et dans les zones de fissuration, lors d'arthrose avancée (Freemont A.J., *et al.*, 1999).

Ce phénomène contribue à rompre l'équilibre entre les enzymes et leurs inhibiteurs ce qui aboutit à une destruction progressive de la matrice du cartilage (Autefage A., 1995a), via une fragmentation enzymatique des agrécans et des modifications collagéniques.

Les nouveaux chondrocytes synthétisent des protéoglycanes et des fibrilles de collagène qui n'ont pas les mêmes propriétés que les constituants normaux. Ainsi, les protéoglycanes apparaissent plus fragiles et avec une capacité d'agrégation moindre, devenant plus aisément extractibles hors du cartilage (Vilamitjana-Amédée J. and Harmand M.F., 1990) (May S.A., 1994), le collagène présente une modification de son ultra-structure (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994) et une quantité de collagène de type I (normalement présent dans la peau et les os) et de type III, V et XI apparaît en plus du collagène de type II (Smith G.N., *et al.*, 1994).

Paradoxalement, la perte de protéoglycanes se produit alors que la synthèse chondrocytaire de protéoglycanes augmente. Cela s'explique par le fait que, d'une part, les protéoglycanes synthétisés contiennent moins de kératane-sulfates que de chondroïtine-sulfates et que ces dernières se présentent plutôt sous la forme 4-sulfate que 6-sulfate, ces protéoglycanes étant donc plus facilement extractibles hors de la MEC et ayant un pouvoir de former des agrégats très réduit et, d'autre part, que cette augmentation transitoire de l'activité anabolique est incapable de compenser l'hyperactivité catabolique.

Cette réaction chondrocytaire inadéquate explique l'aggravation progressive des lésions (Mitrovic D., 1984).

D'autre part, la perte de protéoglycanes et la fissuration du cartilage entraînent une perte de chondrocytes. Les cellules restantes réagissent en s'hypertrophiant et en se multipliant, perdant progressivement leur disposition initiale en colonnes pour former des amas de clones (ou "clusters") à proximité des fissures (Carney S.L., *et al.*, 1992), ce qui peut être interprété comme une tentative cicatricielle. L'hyperactivité métabolique de ces chondrocytes dans les zones lésées les entraînent vers un épuisement et une nécrose (Mitrovic D., 1985).

Ces deux théories aboutissent toutes deux à une perte de protéoglycanes et à une altération de la trame collagénique.

Cela va, premièrement, priver le collagène de ses éléments de soutien, d'où une diminution de la résistance du cartilage à l'écrasement et, deuxièmement, altérer la lubrification de l'articulation, d'où une augmentation des forces de friction lors de mouvement (Fayolle P., 1997).

On assiste alors à des fissurations et destructions cartilagineuses (leur déroulement étant expliqué dans les paragraphes III. A/ 1. et 2.), entraînant l'apparition d'une réaction inflammatoire.

c/ Composante inflammatoire

La réaction inflammatoire provoquée par des contraintes mécaniques anormales va entraîner une rupture de l'équilibre dynamique de l'articulation et les activités cataboliques vont prendre le dessus.

L'implication de l'inflammation de la membrane synoviale, ou synovite, dans la destruction du cartilage est suspectée depuis une vingtaine d'année (Pelletier J.P., *et al.*, 1985). Des taux importants de protéases et d'Interleukine 1 étaient retrouvés dans le liquide synovial (Gedikoglu O., *et al.*, 1986) (Martel-Pelletier J., *et al.*, 1986). On pense actuellement que cette réaction inflammatoire conduit à l'augmentation de la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires comme les prostaglandines et l'Interleukine 1 par les chondrocytes, les synoviocytes et les cellules inflammatoires monocytes et macrophages (Autefage A., 1995a) et l'activation d'enzymes destructrices par les chondrocytes (Fayolle P., 1997) (Loneux P. and Balligand M., 1999a). Ces diverses molécules contribuent à renforcer le catabolisme cartilagineux étudié dans le paragraphe précédent.

Cependant, les caractéristiques physiologiques du cartilage articulaire (absence de vascularisation et d'innervation) ne permettent pas une expression classique de l'inflammation. Ceci explique que les symptômes cliniques n'apparaissent que tardivement, lorsque les structures voisines au cartilage sont atteintes (Attur M.G. and Al., 2002).

La place de l'inflammation de la membrane synoviale dans la pathogénie de l'arthrose est source de controverse. Toute la question de savoir si, au début du phénomène arthrosique, la synovite est responsable des lésions cartilagineuses ou bien si ces mêmes lésions entraînent l'inflammation synoviale est d'actualité et sujet à controverse. Certains pensent qu'elle est secondaire aux destructions cartilagineuses et pas à l'origine de l'arthrose (Gardner D.L., 1983) et que la synovite seule ne semble pas pouvoir conduire à des destructions cartilagineuses (Lukoschek M., *et al.*, 1988). Inversement, d'autres estiment que l'inflammation synoviale peut-être primitive, alors responsable de la dégradation du cartilage, via la production de cytokines et de MMP par les synoviocytes (Glynn L.E., 1977). On remarquera que, dans la littérature, la plupart des auteurs considère la synovite comme secondaire aux lésions cartilagineuses.

La dégradation du cartilage articulaire engendre la libération de fragments cartilagineux dans le liquide synovial. Ces fragments sont responsables de l'inflammation de la membrane synoviale (Mitrovic D., 1984) (Myers S.L., *et al.*, 1992). La libération de produits de dégradation de la matrice cartilagineuse et la présence de microcristaux dans le liquide synovial, entraînant une phagocytose par les cellules *ad hoc* de la membrane synoviale, seraient également responsables (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994).

L'irritation synoviale stimulerait les synoviocytes A, qui produiraient des cytokines dont l'Interleukine 1. Cette dernière stimulerait à son tour les chondrocytes et les synoviocytes B, produisant des MMP en réponse, induisant une diminution de la synthèse chondrocytaire de TIMP et stimulerait la synthèse de collagène par les fibroblastes de la membrane synoviale, conduisant à la fibrose de la membrane (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994). En outre, l'augmentation de synthèse de PGE₂ par les chondrocytes et synoviocytes en réponse à l'IL-1 pourrait expliquer les manifestations cliniques (notamment algiques) de l'arthrose.

De plus, la synovite conduit à une diminution de l'oxygénation du cartilage. En effet, lors de l'inflammation, la membrane synoviale consomme trois fois plus d'oxygène, alors que sa résistance à la diffusion d'oxygène est multipliée par quatre. L'hypoxie contribue à la destruction des chondrocytes ainsi qu'à la libération des enzymes catalytiques (Autefage A., 1995a) (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994).

En conséquence, bien que classée parmi les arthropathies dégénératives ou non inflammatoires, l'arthrose est caractérisée par la présence d'une réaction inflammatoire d'intensité variable, apparaissant comme réactionnelle à la dégradation cartilagineuse, mais jouant un rôle prépondérant dans l'aggravation de cette destruction.

L'inflammation prend donc une place importante dans les mécanismes d'installation et d'entretien de l'arthrose. Elle est ainsi responsable de la mise en place d'un "cercle vicieux" pathologique (cf. : figure 12), avec un caractère auto-aggravant ou de l'arthrose.

Le schéma physiopathologique des mécanismes de la composante inflammatoire ayant lieu au cours de l'arthrose est simplifié dans la figure 13.

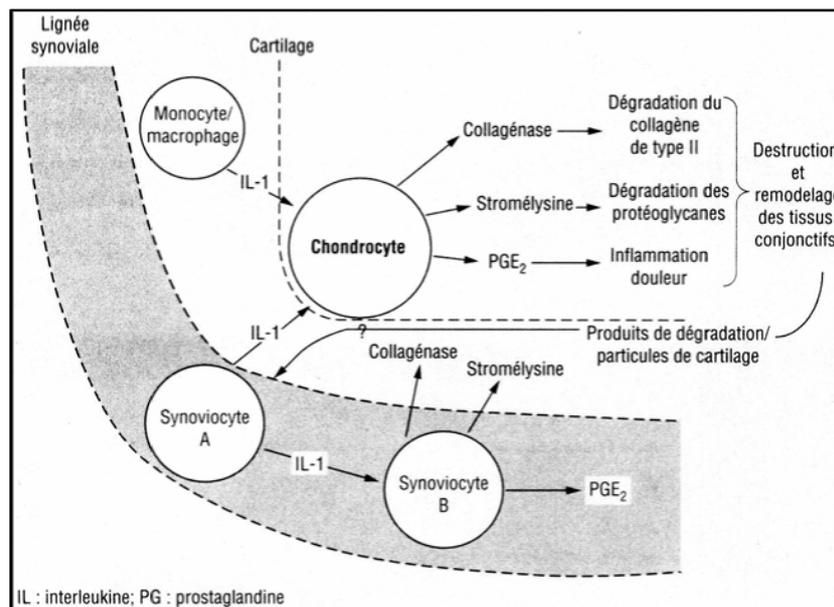


Figure 12 : physiopathologie des mécanismes biochimiques inflammatoires de l'arthrose, d'après (Fayolle P., 1997)

d/ Schéma physiopathologique global de l'arthrose

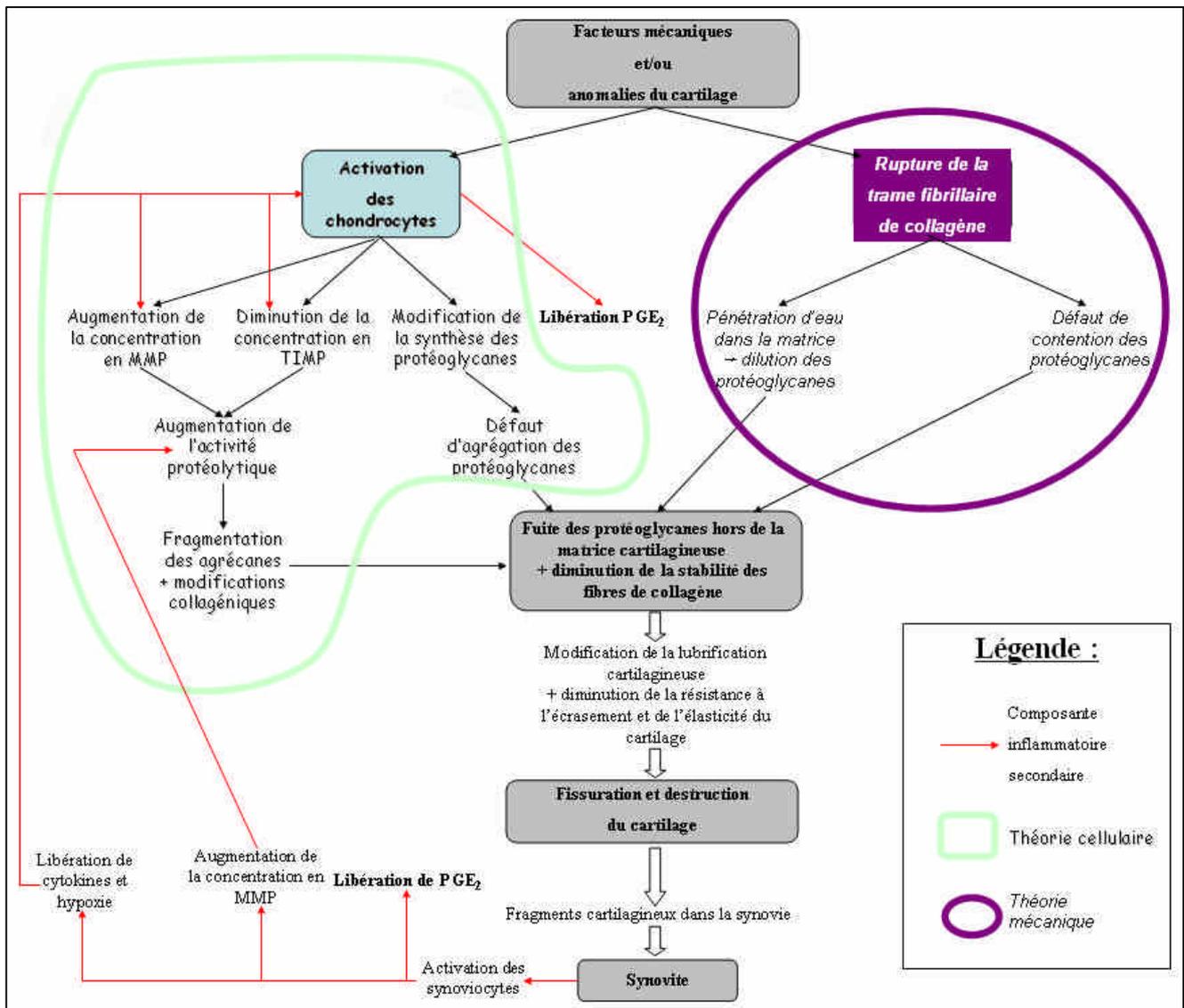


Figure 13 : physiopathologie globale de l'arthrose, adapté de (Fayolle P., 1997)

2. Mécanismes d'ordre biochimique

a/ *Rôle des enzymes de dégradation du cartilage*

a Les métalloprotéases (MMP)

Les métalloprotéases sont produites par les chondrocytes (comme étudié dans le paragraphe II. B/ 1.) et les synoviocytes B suite à la résorption par les synoviocytes A de fragments cartilagineux et de produits de dégradation du cartilage.

Leur production est stimulée par des médiateurs inflammatoires présents dans l'articulation arthrosique.

Ces enzymes se trouvent en quantité accrue dans le cartilage arthrosique, où elles sont actives à pH physiologique.

Quatre grands types de métalloprotéases (ou MMP) ont été identifiés dans le cadre de l'arthrose chez l'homme (Hedbom E. and Häuselmann H.J., 2002).

Les chondrocytes vont ainsi libérer :

- des collagénases (MMP-1, MMP-8, MMP-13) : qui dégradent la matrice collagénique du cartilage en coupant les molécules de collagène au niveau des chaînons glycine-isoleucine ou glycine-leucine. Elles sont produites essentiellement par les chondrocytes et dans une moindre mesure par les synoviocytes B sous contrôle de l'Il 1. Leur production s'effectue sous le contrôle des macrophages et des lymphocytes. Elle est également activée par la plasmine (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1986)
- les stromélysines ou métalloprotéoglycanases neutres (MMP-3, MMP-10) : elles agissent sur les liaisons entre les protéoglycanes et les acides hyaluroniques ainsi que sur les zones riches en chondroïtine sulfate des protéines centrales. Elle est principalement sécrétée par les chondrocytes mais une partie peut être produite par les synoviocytes B et les macrophages lors d'inflammation sévère (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1986)
- les agrécanases (ADAMTS-1, 4 et 5) : elles clivent les agrécanes au niveau de sites spécifiques entre un glutamate et un résidu hydrophobe localisés dans le domaine interglobulaire et la zone d'attache de la chondroïtine sulfate à la protéine centrale (Ilic M.Z., *et al.*, 2003)
- les gélatinases (MMP-2, MMP-9)

Ce sont les enzymes les plus importantes biologiquement. Ces dernières existent dans une articulation saine, mais sont inactivées, en temps normal, par les inhibiteurs des métalloprotéases ou TIMP ("Tissue Inhibitors of Metalloproteases"). Ces TIMP sont produits par les chondrocytes. Ils agissent en se fixant sur les métalloprotéases formant ainsi avec elles un complexe irréversible (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1985).

β La cathepsine D

La cathepsine D est une protéoglycanase majeure, produite par les chondrocytes et qui agit avec une activité lytique sur les fragments de protéoglycanes et de collagène libérés dans la matrice par les métalloprotéases (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1986).

γ Les sérines-protéases

Les sérines-protéases activent la pro-collagénase (précurseur de la collagénase) ce qui amplifie la collagénolyse et la protéoglycanolyse (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1986).

b/ Rôle des facteurs de régulation de la dégradation

α Les facteurs cataboliques

- **Les cytokines**

Les cytokines pro-inflammatoires sont produites par la membrane synoviale et diffusent dans le liquide synovial jusqu'au cartilage où elles activent les chondrocytes. Ceux-ci produisent à leur tour des cytokines dont l'Interleukine 1 (Il-1), le "Tumor Necrosis Factor" (TNF), l'Interleukine 6 (Il-6), le "Leukemic Inhibitor Factor" (LIF) et l'Interleukine 17 (Il-17).

L'Interleukine 1 (Il-1)

Il existe deux isotypes d'Il-1 : α et β . Chez l'homme, l'isotype β serait le plus actif. Elle est produite par les cellules immunocompétentes et par les synoviocytes. Sa synthèse est stimulée par les produits de dégradation du collagène et des glycosaminoglycanes ainsi que par les complexes immuns (Caron J.P., *et al.*, 1996) (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

L'Il-1 semble produite par les synoviocytes A, suite à l'irritation synoviale.

Elle contribue à la destruction cartilagineuse (Westacott C.I. and Sharif M., 1996) et à l'inflammation selon plusieurs mécanismes :

- elle augmente la sécrétion de MMP par les chondrocytes et synoviocytes B (Caron J.P., *et al.*, 1996) (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997)
- diminution de la synthèse chondrocytaire de TIMP (Loneux P. and Balligand M., 1999a)
- elle stimule la production de prostaglandines (PGE₂) par les synoviocytes et les chondrocytes par activation de l'expression de la cyclo-oxygénase 2 (COX-2) (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997)
- elle stimule la production de monoxyde d'azote (NO) en activant l'expression de la NO synthétase inducible (iNOS)
- elle augmente la synthèse de l'activateur du plasminogène ce qui engendre une activation de la collagénase
- elle induit l'expression des récepteurs aux TNF sur les chondrocytes et les synoviocytes (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997)
- elle inhibe la multiplication des chondrocytes (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997)
- elle inhibe la formation du collagène type II et IX ainsi que la synthèse des protéoglycanes (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997). Ce phénomène jouerait un rôle très important dans l'apparition des lésions chondrales. Cet effet semble réversible puisque, après retrait de l'Il-1 du milieu de culture, la synthèse des protéoglycanes reprend de façon encore plus active (on parle d'effet rebond)
- elle stimule la synthèse de collagène par les fibroblastes de la membrane synoviale, conduisant à la fibrose de la membrane (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994)

D'autre part, l'Il-1 semble également affecter qualitativement la synthèse des protéoglycanes, en les rendant anormalement pauvres en groupements sulfates et notamment en chondroïtine-6-sulfate. Cette cytokine agirait sur la phase de maturation de la protéine (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

Il a été observé expérimentalement que les chondrocytes de cartilage arthrosique présentent deux fois plus de récepteurs pour l'Interleukine 1 que les chondrocytes normaux (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

Le Tumor Necrosis Factor α (TNF- α)

Le TNF- α serait vraisemblablement produit par les cellules résidentes de l'articulation (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

Il stimule la production de PGE₂ (démontrée chez l'homme) (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997) et de la collagénase produite par les synoviocytes. Il semble également activer la sécrétion de l'Interleukine 1 par les macrophages (Price J.S., *et al.*, 1992).

Il jouerait également chez l'homme un rôle dans l'inhibition de la synthèse des protéoglycanes (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

Il est responsable d'une augmentation de l'expression des métalloprotéases ainsi que d'une diminution de production de leurs inhibiteurs, donc de la dégradation du cartilage (Westacott C.I. and Sharif M., 1996) (Loneux P. and Balligand M., 1999a).

L'Interleukine 6 (Il-6)

L'Interleukine 6 intervient dans le processus arthrosique selon trois principaux modes d'actions (Martel-Pelletier J., 1997) :

- elle augmente le nombre de cellules inflammatoires au sein du tissu synovial
- elle stimule la prolifération des chondrocytes
- elle amplifie les effets de l'Il-1 concernant l'expression des MMP et la synthèse des protéoglycanes (Loneux P. and Balligand M., 1999a)

On ne connaît pas l'importance exacte de cette cytokine dans le mécanisme pathologique. Des études ont cependant montré qu'elle activait la formation des TIMP mais pas celle des MMP. Ceci laisse supposer qu'elle est d'avantage impliquée dans le mécanisme de limitation des dommages cartilagineux, bien qu'étant également responsable de la dégradation du cartilage (Westacott C.I. and Sharif M., 1996).

Le Leukemic Inhibitor Factor (LIF)

Le LIF est une autre cytokine dont la production se révèle augmentée dans l'articulation arthrosique ou après stimulation de chondrocytes par l'Il-1. Elle semble entraîner une résorption accrue des protéoglycanes ainsi qu'une augmentation de production des MMP et du NO. Son rôle exact dans la pathogénie de l'arthrose reste indéterminé (Martel-Pelletier J., 1997), mais elle semble avoir un rôle double : protection et dégradation du cartilage (Westacott C.I. and Sharif M., 1996).

- **La prostaglandine E₂ (PGE₂)**

La recherche et la caractérisation des prostaglandines dans le liquide synovial sain et pathologique a montré que le type E₂ est largement majoritaire (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997). Les chondrocytes et les synoviocytes en seraient les sources principales dans l'articulation inflammatoire (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

L'action des cytokines et la phagocytose induisent la libération, par les macrophages, de prostaglandine E₂. C'est un médiateur de l'inflammation responsable de l'hyperalgie par augmentation de la sensibilité des récepteurs à la douleur. La PGE₂ possède une activité pro-inflammatoire puissante pour la membrane synoviale et joue un rôle majeur dans l'apparition de la synovite. Elle provoque une augmentation de la perméabilité vasculaire, une vasodilatation et possèdent des effets chimiotactiques. Ainsi, l'action des AINS et des corticoïdes, en bloquant la synthèse de PG et de leukotriènes, permet de diminuer les phénomènes inflammatoires et destructeurs sur l'articulation.

Il a été démontré chez l'homme que la PGE₂ inhibe l'anabolisme chondrocytaire.

- **Le monoxyde d'azote (NO)**

Des découvertes récentes ont montré que le monoxyde d'azote est impliqué dans le catabolisme cartilagineux. Des études ont montré que la quantité de NO produite dans le cartilage arthrosique est supérieure à celle du cartilage sain (Martel-Pelletier J., 1997). Le NO est synthétisé par les chondrocytes et les cellules inflammatoires. Il est issu de l'oxydation de la L-arginine par une enzyme : la NO synthétase inductible (Martel-Pelletier J., 1997).

Le NO joue un rôle dans les phénomènes de vasodilatation au sein de l'articulation ce qui a pour conséquence d'augmenter la perméabilité vasculaire et l'afflux de leucocytes dans l'articulation (Martel-Pelletier J., 1997).

Il stimule la sécrétion de TNF et d'Il- par les leucocytes et inhibe la synthèse du collagène et des protéoglycanes. Il semble également activer la synthèse des métalloprotéases (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

De récentes découvertes indiquent que le NO provoque une mort par apoptose des chondrocytes par des phénomènes de désorganisation membranaire (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

De l'oxyde nitrique (NO) apparaît dans le liquide synovial suite à l'activation d'une "NO-synthase inductible", ce dernier empêchant toute action des inhibiteurs des Interleukines. Le processus va donc s'auto-entretenir.

- **Les radicaux libres**

Les radicaux libres sont principalement représentés par l'ion superoxyde, le radical hydroxyle et le malondialdéhyde. Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est également une molécule très active (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997). Ces radicaux sont synthétisés par les macrophages et les neutrophiles lors de la phagocytose. In vitro, la principale source de radicaux libres semble être les neutrophiles (Martel-Pelletier J., 1997).

Les radicaux libres ont montré un rôle majeur dans la pathogénie de l'arthrose. Leur influence sur la destruction cartilagineuse a déjà été montrée dans plusieurs modèles d'arthrose chez l'animal. Des traitements avec des molécules anti-oxydantes et anti-radicalaires (Vitamine E et Sélénium) ont montré une amélioration significative des lésions d'arthrose chez la souris (Kurtz B., *et al.*, 2001).

Après induction d'une synovite sur des chevaux, on a retrouvé des radicaux libres dans le liquide synovial de l'articulation mais aussi dans celui de l'articulation controlatérale ainsi que dans le plasma sanguin (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

On a constaté *in vitro* que ces radicaux induisent une diminution de la viscosité synoviale par dépolymérisation des acides hyaluroniques. Ils agissent ainsi en diminuant la fonctionnalité du liquide synovial favorisant ainsi l'apparition de lésions chondrales secondaires (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

- **La substance P**

Il s'agit d'un neurotransmetteur issu des fibres nociceptives de type C présentes dans la membrane synoviale. Cette substance a été mise en évidence dans la synovie normale et surtout dans la synovie arthrosique. Des études sur l'administration intra-articulaire de cette substance P chez le rat ont montré que son administration induit une inflammation articulaire (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

In vitro, ce neurotransmetteur induirait la synthèse de prostaglandines et de collagénases par les synoviocytes. Il induirait également la synthèse d'IL-1 et de TNF par les monocytes qui stimuleraient eux-mêmes la libération de substance P (Cadoré J.L. and Donabedian M., 1997).

Il y aurait donc une coopération entre le système nerveux, immunitaire et inflammatoire.

β Les facteurs de croissance du cartilage

Ces facteurs de croissance sont représentés par l'"Insulin-like Growth Factor 1" (IGF-1), le "Transforming Growth Factor β" (TGF-β), le "Fibroblast Growth Factor" (b-FGF) et le "Platelet-Derived Growth Factor" (PDGF). Ils sont responsables de la stimulation de l'activité anabolique du cartilage.

- **L'Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1)**

Des études *in vitro* ont montré que l'IGF-1 augmente la synthèse des protéoglycanes et réduit la dégradation cartilagineuse en présence de cytokines (Hedbom E. and Häuselmann H.J., 2002). Ce rôle serait également présent chez l'adulte sain et le jeune en croissance.

L'IGF-1 favorise la production de collagène type II, il joue un rôle de facteur de différenciation du collagène (Hedbom E. and Häuselmann H.J., 2002).

La dégradation cartilagineuse lors de l'arthrose pourrait être, au moins en partie, mise en relation avec une diminution des effets de l'IGF-1 sur le cartilage. Aucun schéma pathogénique n'a encore pu être établi.

- **Le Transforming Growth Factor β (TGF-β)**

Le TGF-β semble activer la production du protéoglycanes et inhiber celle du collagène de type II. Des études récentes attribuent au TGF-β un rôle majeur dans la pathogénie de l'arthrose, il semble que l'expression de ses récepteurs cellulaires soit très diminuée dans le cartilage arthrosique (Felisaz N and Al., 1999).

- **Le Fibroblast Growth Factor (b-FGF)**

Le b-FGF stimule la synthèse d'ADN au sein des chondrocytes du cartilage de l'adulte. Il jouerait un rôle dans le processus de réparation (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

- **Le Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)**

Le PDGF semble jouer un rôle dans la réparation des lésions du cartilage articulaire (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

III. Altérations physiques des différentes structures d'un grasset arthrosique

A/ Altération du cartilage articulaire

1. Chondromalacie et fibrillation

Les modifications cellulaires et biochimiques étudiées dans le paragraphe précédent vont peu à peu aboutir à des modifications macroscopiques, notamment du cartilage articulaire.

Le cartilage articulaire est, en général, la première structure articulaire altérée lors d'arthrose. Ainsi, après rupture de LCA, seulement 3 à 4 semaines sont nécessaires à l'apparition d'anomalies macroscopiques (Drapé J. and Ghitalla S., 1992). La lésion cartilagineuse est primitive, puis elle initie secondairement les lésions osseuses et synoviales d'apparition plus tardive (Mitrovic D., 1984). Les lésions du cartilage vont principalement s'installer en zone de charge, c'est-à-dire sur les parties fonctionnellement très sollicitées (Fayolle P., 1997).

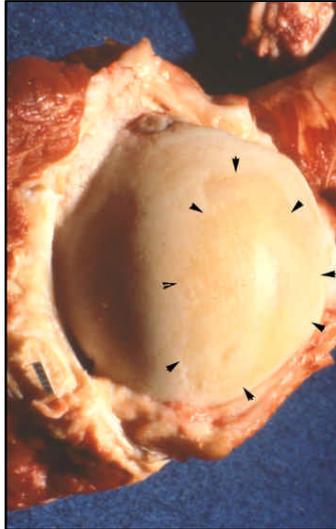
La modification du cartilage articulaire la plus précoce se traduit dans un premier temps (jusqu'à 1 mois après rupture de LCA) par un aspect dépoli et une augmentation du contenu en eau de la MEC, rendant le cartilage mou au toucher ; c'est la stade de chondromalacie (cf. : paragraphe II. B/ 1.). Elle n'engendre pas de symptômes, car est indolore (le cartilage n'étant pas innervé).

Puis, vers 14 à 45 jours après rupture de LCA, le cartilage subit une perte de substance fondamentale qui lui donne un aspect macroscopique opaque et dépoli, perdant son aspect lisse (Johnston S.A., 1997). C'est le stade de fibrillation, correspondant à une fuite du gel d'agrégats hors des mailles du filet collagénique, provoquant une aggravation de la perte d'élasticité et de résistance du cartilage et une exposition du réseau collagénique, puis par la suite une rupture des fibres de collagène par défaut de résistance aux contraintes mécaniques. Cette rupture est bien secondaire aux phénomènes cités ci-dessus car une étude portant sur le stade de fibrillation montre que le collagène de type II subit une dégradation débutant en surface, correspondant aux sites d'activité des collagénases et que cette altération n'est jamais détectée avant le stade de fibrillation ni présente dans les zones sans fibrillation (Stoop R., *et al.*, 2001).

Les causes de fibrillation, modification dégénérative précoce du cartilage articulaire, ne sont pas spécifiques et inclues les traumatismes, irritations, et lésion chimiques induites par les enzymes libérées par les leucocytes durant l'inflammation.

Macroscopiquement, le cartilage en fibrillation apparaît mat, opaque et présente une coloration jaunâtre et un aspect de velours (cf. : figure 14), à différencier de l'aspect blanc-bleu et brillant du cartilage normal (cf. : photographies 1 et 3).

Le cartilage articulaire apparaît fibrillaire et irrégulier au microscope optique.



Photographie 3 : aspect macroscopique d'une lésion de fibrillation du cartilage articulaire d'une tête fémorale de chien, entourée par les flèches noires, d'après (Lopez A., et al., 2005)

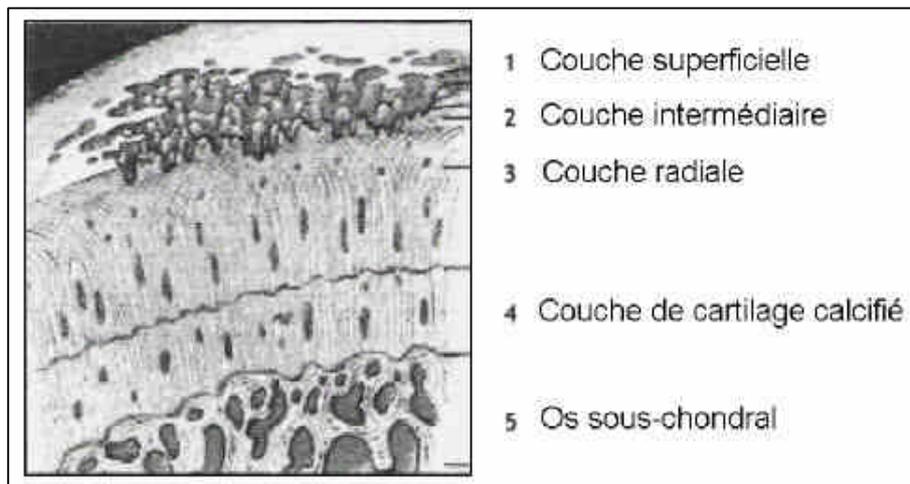


Figure 14 : coupe du cartilage articulaire lors de fibrillation, d'après (Budsberg S.C. and Fox S.M.)

2. Fissuration

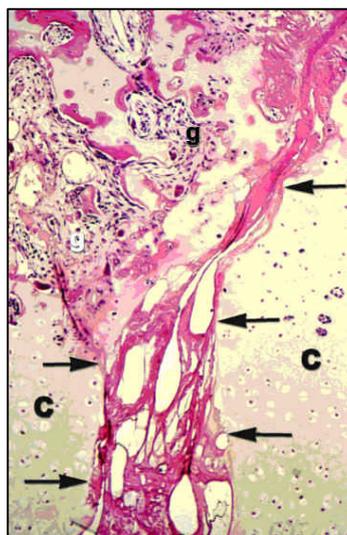
Suite à la perte de protéoglycanes, les fibrilles de collagène deviennent incapables de résister aux forces qui leur sont appliquées et se rompent en laissant apparaître leurs extrémités libres à la surface du cartilage ce qui crée un aspect de velours. La fissuration correspond donc à la rupture des fibres de collagène entraînant l'apparition de fissures cartilagineuses. Le phénomène est auto-aggravant, puisque cette évolution accentue le déficit de contention des protéoglycanes.

L'orientation des fissures va suivre l'orientation des fibres de collagène : dans un premier temps, les lésions sont superficielles et tangentielles à la surface, puis deviennent progressivement profondes et perpendiculaires à la plaque osseuse sous-chondrale (Johnston S.A., 1997). La fissuration aboutit ainsi à une perte progressive de tissu cartilagineux dont l'épaisseur s'amenuise (Fayolle P., 1997).

Microscopiquement, la fissuration se caractérise par des fissures verticales dans le cartilage articulaire (cf.: photographie 4). Ces fissures se combrent de liquide synovial et éventuellement de tissu de granulation. Ainsi, lors de lésion superficielle par rapport au "tidemark", les chondrocytes prolifèrent mais ne réparent pas le cartilage et lors de lésion profonde par rapport au "tidemark", la fissure se comble par du fibrocartilage (Saw S. and Mironowicz M., 1997). Le processus de réparation du cartilage est décrit dans le paragraphe I. B/ 1. c/ de la partie 1.

Les chondrocytes réagissent ainsi en s'hypertrophiant et en se multipliant, perdant progressivement leur disposition initiale en colonnes pour former des amas de clones (ou "clusters") à proximité des fissures (Carney S.L., *et al.*, 1992).

Au fur et à mesure de la progression de la fibrillation, la fissure s'étend sur toute l'épaisseur du cartilage articulaire, jusqu'à atteindre l'os sous-chondral, et l'exposer au liquide synovial. L'évolution des fissures aboutit à une perte progressive de tissu cartilagineux : l'épaisseur du cartilage s'amenuise.



Légende :

c : cartilage articulaire

g : tissu de granulation

→ : limites de la fissure verticale

Photographie 4 : aspect microscopique (x200) d'une fissure, entourée par les flèches noires, lors de lésion de fibrillation du cartilage articulaire, d'après (Lopez A., *et al.*, 2005)

3. Ulcération

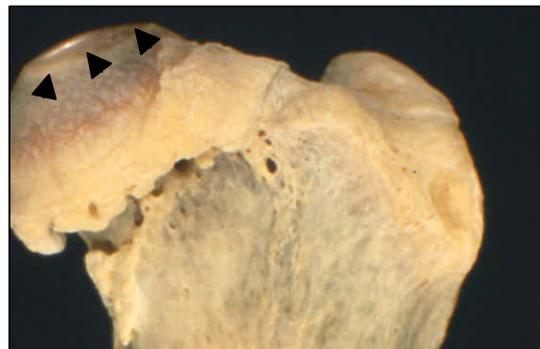
L'ulcération est le stade intermédiaire entre la fissuration, c'est-à-dire l'apparition de fissures verticales dans le cartilage articulaire et l'éburnation, c'est-à-dire l'atteinte par ces fissures des zones profondes du cartilage articulaire, mettant l'os sous-chondral à nu. Il correspond à une perte de substance, plus ou moins profonde, touchant le cartilage articulaire, mais n'atteignant pas l'os sous-chondral.

4. Éburnation

L'éburnation est un stade dégénératif caractérisé par une perte de substance profonde, voire totale du cartilage articulaire et l'exposition de l'os sous-chondral dans au moins une zone de l'articulation synoviale (cf. : figure 15) (Fayolle P., 1997).

L'éburnation est le stade terminal des lésions du cartilage articulaire. Elle est rarement observée sur les cartilages articulaires du grasset chez le chien lors de rupture du LCA (Adams M.E. and Brandt K.D., 1991), contrairement à ce qui est observé sur la tête fémorale de chien ci-dessous (cf. : photographies 5).

Avec la friction mécanique, l'os sous-chondral se polit et prend un aspect d'ivoire. Il s'épaissit, ce qui correspond au phénomène de sclérose de l'os sous-chondral et, dans les stades les plus avancés, va subir une abrasion.



Photographies 5 : aspect macroscopique de lésions d'éburnation du cartilage articulaire de condyles fémoraux de chien à gauche et de lésion d'abrasion de l'os sous-chondral d'une tête fémorale de chien à droite, entourées par les flèches noires, d'après (Lopez A., et al., 2005)

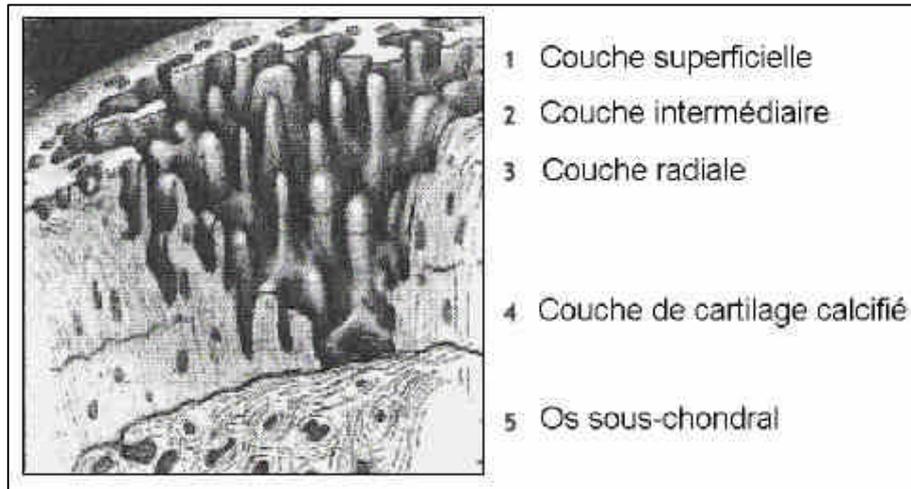


Figure 15 : coupe du cartilage articulaire lors d'éburnation, d'après (Budsberg S.C. and Fox S.M.)

Lors de lésion sévère, le cartilage environnant se détache de l'os sous-chondral, formant alors des souris articulaires flottant dans le liquide synovial.

Ainsi, les stades principaux des lésions du cartilage articulaire sont représentés dans la figure 16.

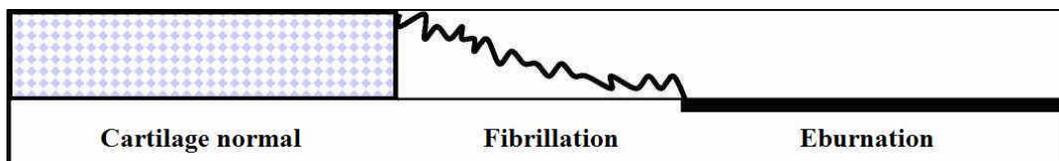
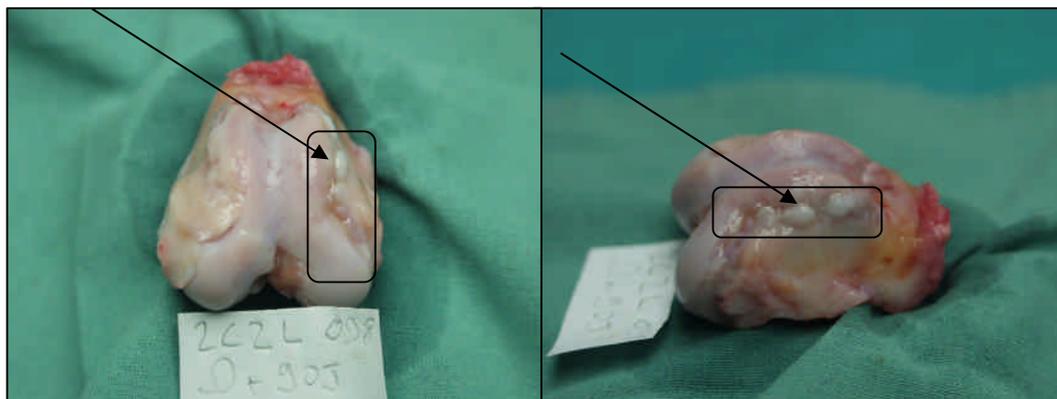


Figure 16 : illustration en coupe des stades principaux des lésions du cartilage articulaire

B/ Formation d'ostéophytes

Les ostéophytes sont des productions osseuses non spécifiques, que l'on retrouve dans de nombreuses affections inflammatoires ou dégénératives des articulations. La cause exacte de leur apparition est inconnue ; l'instabilité articulaire est considérée comme un facteur étiologique important, mais les ostéophytes peuvent se développer en l'absence d'instabilité (lors d'inflammation articulaire, par exemple) (Fayolle P., 1997). Ils sont principalement localisés dans les jonctions du cartilage avec le périoste ou le long des insertions de la capsule synoviale sur l'os (cf. : photographies 6).



Photographies 6 : aspect macroscopique d'ostéophytes sur la trochlée fémorale d'un chien, entourés par les rectangles noirs (crédit : E. Viguiet)

L'ostéophytose, processus de formation des ostéophytes, se déroule en périphérie de l'articulation, à la jonction des tissus synoviaux et périostés. Il se produit un processus d'ossification endochondrale, présent normalement uniquement lors de la période embryonnaire et pathologiquement lié à l'hypervascularisation sous-chondrale.

On distingue 2 types d'ostéophytes suivant leur origine tissulaire. Les ostéophytes marginaux naissent par prolifération de tissu fibreux d'origine synoviale qui se différencie et s'ossifie. Les ostéophytes centraux, apparaissant à un stade plus tardif, sont liés à la prolifération de tissu conjonctif d'origine médullaire traversant la plaque osseuse sous-chondrale et la couche de cartilage calcifié pour envahir et détruire la couche profonde du cartilage où il s'étend et s'ossifie. Cet os néoformé se développe et finit par confluer avec les ostéophytes marginaux, dont l'os spongieux devient continu avec la travée sous-chondrale adjacente. Ce remaniement osseux ne se limite pas à la formation des ostéophytes, mais affecte l'ensemble de l'os épiphysaire qui apparaît stimulé et hypervascularisé. La destruction de la couche profonde du cartilage est le fait des vaisseaux sanguins envahissant la partie encore intacte du cartilage articulaire et migrant vers la marge articulaire ; ils détruisent le cartilage et forment progressivement de fines lamelles osseuses recouvertes de fibrocartilage néoformé: les ostéophytes (Gilbertson E.M.M., 1975) (Mcdevitt C.A., *et al.*, 1977) (Fayolle P., 1997). Le cartilage sain ne peut être soumis à une néo-vascularisation car elle est empêchée par la présence en son sein d'inhibiteurs de protéases et d'inhibiteurs de croissance des cellules endothéliales (Epstein F. H. and Hamerman D., 1989)

L'ostéophytose débute 3 jours après l'apparition d'une lésion du LCA, mais les ostéophytes ne sont détectés macroscopiquement qu'après 3 à 4 semaines et radiologiquement qu'après 5 semaines (Drapé J. and Ghitalla S., 1992) (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993). Ils apparaissent d'abord sur les bords marginaux de la trochlée, puis au niveau de l'échancrure intercondylienne, des épines tibiales, des bords latéraux des plateaux tibiaux et de la rotule.

Ces formations réactionnelles élargissent et stabilisent le lit articulaire, sont responsables d'une douleur par distension du périoste et des structures péri-articulaires et gênent la mobilité entre les surfaces articulaires ou entre le cartilage et la membrane synoviale.

Si la cause de lésion articulaire disparaît, les ostéophytes ne grossissent plus, mais perdurent comme des éléments périarticulaires. Lorsqu'ils continuent à grossir progressivement, ils peuvent entraîner divers degrés de déformations des articulations. Ainsi, à 1 an après rupture de LCA, le grasset apparaît très hypertrophié, notamment au niveau de la trochlée.

C/ Fibrose de la capsule articulaire et modifications de la membrane synoviale et de la synovie

1. Fibrose et épaissement de la capsule articulaire

Lorsque l'inflammation devient chronique, la capsule articulaire s'épaissit et se sclérose (Martel-Pelletier J., 1997) (Lipowitz A.J., 1993).

Macroscopiquement, 3 à 4 semaines, voire 6 semaines (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993) après la section expérimentale du LCA, on observe une fibrose de la capsule (plus marquée en face interne de l'articulation), puis, plus tard, un épaissement considérable (Fayolle P., 1997).

La capsule articulaire peut même développer des adhérences avec les tissus environnants.

Ces phénomènes sont responsables d'une diminution de l'amplitude du mouvement, contribuent à l'apparition de la douleur et à la déformation articulaire cliniquement observée chez le patient arthrosique (Fayolle P., 2002).

2. Modifications de la membrane synoviale

Les lésions synoviales sont tardives lors d'arthrose, en tout cas d'un point de vue macroscopique. L'inflammation, réactionnelle aux destructions cartilagineuses, est discrète et apparaît sous formes d'infiltrats lymphoplasmocytaires modérés. Elle est secondaire à la présence de fragments cartilagineux dans la synoviale, mais également à la présence de cristaux, de produits de dégradation de la matrice et à des réactions immunologiques. D'abord localisée autour des fragments de cartilage libérés par la destruction de la matrice et fichés dans la membrane synoviale, l'inflammation peut évoluer ensuite par poussée pour s'étendre à toute la membrane synoviale (Fayolle P., 1997). La synovite peut également être présente sans lésions cartilagineuses. Elle est à l'origine de la majorité de la douleur arthrosique (Boulay J.P., *et al.*, 1995). Les mécanismes d'apparition de la synovite sont décrits dans le paragraphe II. B/ 1. c. de la partie I

L'absence de modifications macroscopiques cache néanmoins des modifications microscopiques très précoces, puisqu'observées 1 à 2 semaines après rupture du LCA, expérimentalement (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993). On constate une augmentation de la vascularisation et du nombre de couches cellulaires (réplication des assises cellulaires bordantes), un développement des villosités synoviales et une infiltration lymphoplasmocyttaire du tissu sous-synovial. Les infiltrats vus microscopiquement semblent vraisemblablement varier en fonction de l'état d'avancement de l'arthrose et des sites d'examen (Lindblad S. and Hedfors E., 1985) (Hutton C.W., *et al.*, 1987). Les synoviocytes de type B présentent une dilatation de leurs saccules de l'appareil de Golgi et de leur REG (Roy S., 1967). Plus tard, une fibrose apparaît. Une métaplasie chondroïde peut être présente.

D'une part, l'hyperplasie villositaire synoviale résultante est une modification non spécifique souvent présente lors d'affection articulaire dégénérative, qui provient d'une irritation persistante de la membrane synoviale.

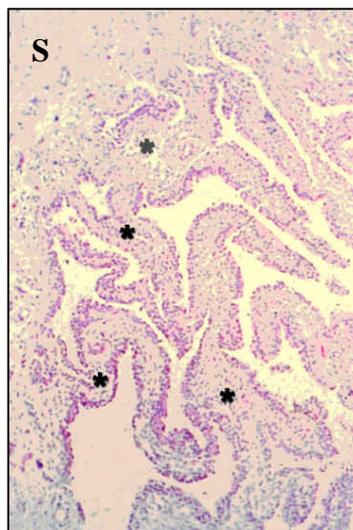
Ce phénomène est souvent accompagné d'une production excessive de liquide synovial (hydarthrose ou épanchement synovial).

Macroscopiquement, la membrane synoviale lors d'arthrose est couverte d'innombrables villosités, lui conférant un aspect de velours, que l'on met plus facilement en évidence en plongeant la membrane synoviale en question dans de l'eau (cf. : photographie 7).



Photographie 7 : aspect macroscopique d'une hyperplasie villositaire synoviale mise en évidence par immersion de la membrane synoviale dans l'eau, d'après (Lopez A., et al., 2005)

Histologiquement, les villosités synoviales sont bordées de synoviocytes hypertrophiques (cf.: photographie 8). Les synoviocytes prolifèrent rapidement en réponse à une lésion (hyperplasie réactionnelle).



Légende :

* : villosités hypertrophiques

S : membrane synoviale

Photographie 8 : aspect microscopique (x200) d'une hyperplasie villositaire synoviale, d'après (Lopez A., et al., 2005)

D'autre part, la fibrose de la membrane, fréquemment observée lors d'arthrose, serait liée à l'Il-1 stimulant la synthèse de collagène par les fibroblastes de la membrane synoviale, (Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., 1994).

3. Modifications de la synovie

Le liquide synovial est généralement d'aspect normal voire subnormal. Il peut devenir légèrement opalescent et perdre en partie son aspect jaune visqueux. Généralement, une augmentation de volume, liée à l'hydarthrose, est constatée.

La destruction des acides hyaluroniques, via la libération des enzymes de dégradation, et la dilution du liquide synovial par les liquides d'effusion provenant de la réaction inflammatoire entraînent une baisse de la viscosité du liquide synovial (Johnston S.A., 1997). La diminution significative du taux d'acide hyaluronique lors d'arthrose avancée est bien documentée (Balazs E.A., *et al.*, 1967) (Dahl L.B., *et al.*, 1985) et pourrait même servir de marqueurs de la progression de l'arthrose (Safari M., *et al.*, 1990) (Conrad B.P., *et al.*, 2003).

Cette modification des propriétés physicochimiques du liquide synovial entraîne des troubles mécaniques (phénomène de friction préjudiciable au cartilage articulaire) par perte des capacités viscoélastiques du liquide, ainsi qu'une diminution de l'effet barrière des acides hyaluroniques vis-à-vis des cellules et des molécules inflammatoires (Dougados M., 2000).

Le taux de cellules nucléées dans la synovie est corrélé à l'importance de l'inflammation de la membrane synoviale (Pedersen N.C., 1978).

L'arthrose se caractérise, par rapport aux arthropathies non dégénératives, par une augmentation modérée du taux de polynucléaires neutrophiles (2-25% des cellules totales) et de protéines (Werner L.L., 1979). Les autres arthropathies montrent des taux de neutrophiles et de protéines très élevés.

Les autres caractéristiques physico-chimiques et cytologiques du liquide synovial lors d'arthrose sont regroupées dans le tableau 1 (Fayolle P., 1997) (Genevois J.P., 1992) (Griffin D.W. and Vasseur P.B., 1992) (Lipowitz A.J., 1985) (Perman V., 1980) (Wilkins R.J., 1981) (Werner L.L., 1979) (Pedersen N.C., 1978) (Ellison R.S., 1988).

Il convient, néanmoins de se méfier de l'analyse du liquide synovial, car des études montrent que 80% des chiens avec des ruptures de LCA présentent des synovies dont les caractéristiques se situent dans les normes communément admises (Griffin D.W. and Vasseur P.B., 1992).

Type de critère	Critère	Valeur (articulation saine)	Valeur (articulation arthrosique)
Physico-chimique	Volume	0,1-1 mL	Variable (habituellement légèrement augmenté : 2-5 mL)
	Couleur	Jaune pâle	Jaune pâle (voire rosée due à arthrocentèse)
	Turbidité	Claire	Claire à légèrement trouble
	Viscosité	Élevée	Normale à diminuée
	Caillot de mucine *	Normal	Normal à diminué
	Protéines totales	2,0-2,5 g/dL	3,2 g/dL
Cytologique	Nombre de cellules nucléées	0-3,0 x 10 ³ /mm ³	Faible (0,2-5,0 x 10 ³ /mm ³)
	Globules rouges	0 voire traces	Peu nombreux
	Globules blancs	Peu nombreux	Peu nombreux (0,2-5,0 x 10 ³ /mm ³)
	Polynucléaires neutrophiles	1 à 10%	Peu nombreux (2-25%)
	Modification toxique	Aucune	Aucune
	Lymphocytes	Peu nombreux	Taux moyen
	Macrophages	Peu nombreux	Taux moyen
	Cellules synoviales	Peu nombreux	Taux moyen à important
	Micro-organismes	Aucun	Aucun

Légende : * : le caillot de mucine est obtenu après test à l'acide acétique à 2,5% (3/4 pour 1/4 de synovie), afin d'apprécier la teneur en acide hyaluronique (lorsqu'il est diminué, le taux d'acide hyaluronique l'est également)

Tableau 1 : caractéristiques physico-chimiques et cytologiques du liquide synovial d'une articulation saine et d'une articulation arthrosique chez le chien

D/ Sclérose de l'os sous-chondral

Le cartilage ayant perdu ses facultés d'amortissement, de par son amincissement puis sa disparition, l'os sous-chondral se retrouve alors soumis à des contraintes mécaniques trop importantes. De plus, le liquide synovial aurait un effet toxique sur l'os dénudé et la moelle osseuse.

La loi de Wolff va alors s'appliquer. Suite à ces sollicitations mécaniques trop importante, l'os sous-chondral réagit en s'épaississant, c'est le phénomène de sclérose (cf. : photographies 5) (Autefage A., 1995a) (Fayolle P., 1997).

L'ostéocondensation s'effectue par apposition de nouvelles travées osseuses à la face profonde de l'os sous-chondral et par renforcement des travées existantes. Elle débute par les zones correspondant au commencement des lésions cartilagineuses et elle est maximale lorsque l'os est à nu. Histologiquement, on observe une apposition ostéoblastique et une prolifération de la moelle, qui se métaplasie par endroits en îlots cartilagineux et osseux.

Des microfractures et un tassement des travées osseuses épiphysaires peuvent même apparaître, sous l'effet des contraintes anormales, responsables des déformations épiphysaires rencontrées lors d'arthrose évoluée (Fayolle P., 1997).

Plus tardivement, les excès de contrainte se répercutent sur l'os spongieux épiphysaire, avec une nécrose ostéocytaire rendant les travées osseuses épiphysaires plus fragiles. Ce phénomène est plus accentué aux endroits soumis à de fortes pressions et proportionnel à celles-ci (Stron H. and Svalastoga E., 1993).

Le matériel nécrotique peut s'éliminer dans l'espace articulaire ou cela peut conduire, lorsque le matériel nécrotique reste en profondeur du tissu spongieux, à la formation de pseudo-kystes ou géodes lorsque les lésions du cartilage atteignent l'éburnation. Néanmoins, les pseudo-kystes restent rares chez les Carnivores Domestiques, au contraire de l'Homme (Lipowitz A.J., 1993).

E/ Lésions des ménisques

Les lésions du LCA et celles du ménisque médial qui en découlent sont les causes les plus fréquentes d'arthrose du grasset et de la boiterie consécutive du membre postérieur chez le chien (Dupuis J. and Harari J., 1993).

D'autre part, selon la littérature, dans 10 à 76% des lésions du LCA rapportées, des lésions méniscales associées sont rapportées (Drapé J. and Ghitalla S., 1993). Les chiffres sont très variables : moins de 10% de lésions méniscales chez les petits chiens avec une rupture récente du LCA et plus de 70% de lésions méniscales dans les cas chroniques de rupture du LCA (Flo G.L., 1993). Les lésions méniscales apparaissent environ 7 semaines après rupture du LCA (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993).

1. Mécanismes

Les lésions méniscales liées à la rupture chirurgicale du LCA que nous avons réalisée s'apparentent aux lésions post-traumatiques observées chez le chien, hors du contexte expérimental. Les faits cliniques et expérimentaux montrent que les lésions méniscales sont secondaires à ces traumatismes (Chassaing P., 1985).

Les lésions post-traumatiques sont bien connues et sont dues à un traumatisme par surcharge excessive sur un ménisque normal. Le ménisque est soumis, à l'issue de la rupture de LCA, à des forces de glissement extra-physiologiques et anormales (essentiellement en rotation). Ainsi, la subluxation antérieure du tibia par rapport au fémur autorisée lors de la rupture du LCA par un mouvement anormal de tiroir entraîne les ménisques vers l'avant. Le ménisque latéral grâce à son ligament ménisco-fémoral et sa mobilité plus grande peut suivre le condyle fémoral latéral caudalement dans l'articulation. En revanche, le ménisque médial en est incapable ; la corne postérieure du ménisque médial qui supporte alors toute la pression du condyle fémoral médial se fait écraser par ce dernier. Aussi, des écrasements répétés peuvent provoquer des déchirures ou des décollements. Le cas le plus fréquent est une déchirure longitudinale de la corne caudale du ménisque médiale suite à une rupture du LCA (Kivumbi C.W. and Bennett D., 1981). La force liée à l'écrasement s'applique circonférentiellement en surface mais surtout au centre du corps méniscal et divise les fibres de collagène radiales qui se rompent progressivement et induisent une lésion en "anse de seau" (cf. : figures 20 et 21 et annexes 15 et 16). Ces ruptures seront suivies de relâchement des fibres circonférentielles. Cela correspond à une image IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) de dégénérescence centrale dans le corps méniscal sans aucune lésion superficielle décelable (Verdonk R., 1997).

Les lésions en "bec de perroquet" (cf. : figure 23 et annexe 16), quant à elles, sont progressives et peuvent rester asymptomatiques très longtemps. Leur origine est souvent un traumatisme en torsion-compression qui induit surtout des lésions du segment postérieur du ménisque médial puisque la surface méniscale portante est plus grande à cet endroit. Il n'est pas exclu non plus que, à la suite d'un accident brutal de ce type, la fonction lubrifiante du ménisque soit insuffisante induisant la lésion méniscale.

Parfois, le condyle fémoral médial passe complètement en arrière du ménisque médial, entraînant, à force de répétition, une désinsertion des attaches caudales du ménisques. Les désinsertions ou ruptures des attaches capsulaires ou ligamentaires des ménisques arrivent fréquemment aux attaches caudales du ménisque médial lors de la rupture du LCA. On citera, par exemple, la désinsertion ménisco synoviale de la corne postérieure du ménisque médial (cf. : figure 17).

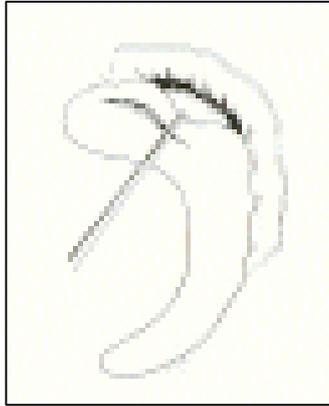


Figure 17 : illustration de désinsertion ménisco-synoviale de la corne postérieure du ménisque médial, d'après (Chassaing P., 1985)

Lors d'instabilité articulaire, les contusions -même minimes- répétées sur le ménisque vont engendrer un phénomène dégénératif appelé méniscope (le ménisque apparaît aminci et jaunâtre) qui va fragiliser le ménisque et, à terme, entraîner sa déchirure. Le nombre de lésions méniscales augmentant avec l'ancienneté de l'instabilité articulaire, on comprend l'importance d'une intervention précoce.

Enfin, le repliement vers l'avant de la corne postérieure du ménisque médial sur le corps du ménisque, sous l'action du condyle fémoral médial, lors des mouvements articulaires engendre alors un claquement ou "clic méniscal" (Drapé J. and Ghitalla S., 1993).

Toute lésion méniscale entraîne une synovite, une érosion du condyle fémoral et donc une évolution arthrosique du grasset. Cliniquement, les lésions méniscales sont douloureuses, la douleur étant attribuée au tiraillement que le ménisque lésé exerce sur la capsule articulaire, structure très innervée.

2. Répartition

Les lésions du ménisque médial sont plus fréquentes que celles du ménisque latéral. Ainsi, lors de rupture de LCA, les lésions méniscales sont réparties comme suit : 64,33% sur le ménisque médial, 6,73% sur le latéral et 28,94% sans lésions (Drapé J., *et al.*, 1990a). Cela signifie que lors de lésions méniscales, 90,53% concernent le ménisque médial et 9,47% le latéral. Dans 50 à 55 % des lésions du LCA rapportées, des déchirures méniscales médiales associées ont été décrites (Flo G.L. and Deyoung D., 1978) (Flo G.L., 1983) (Dupuis J. and Harari J., 1993) (Flo G.L., 1993). Une étude de Flo portant sur les lésions méniscales après rupture de LCA montre que, sur 26 ménisectomies réalisées par arthrotomie, on note 25 atteintes du ménisque médial pour une atteinte du latéral, 25 lésions de la corne caudale et 22 déchirures longitudinales (Flo G.L., 1983). Ainsi, les ruptures longitudinales sont les plus fréquentes.

La prévalence des lésions méniscales médiales par rapport aux latérales s'explique par le fait que le premier possède des attaches plus rigides que le second, il est donc moins mobile. En effet, le ménisque médial est solidement attaché au ligament collatéral médial et adhère à la capsule articulaire, au contraire du ménisque latéral (Drapé J., *et al.*, 1990a).

La majorité des lésions (85%) concerne la zone interne non-vascularisée (Arnoczky S.P., 1987) (Clamen C., 1979) (Flo G.L., 1983). Cela explique l'absence de cicatrisation souvent observée. En revanche, les lésions externes (zones vascularisées) seront comblées par du fibrocartilage, synthétisé par les fibroblastes et chondrocytes (Saw S. and Mironowicz M., 1997).

Dans l'étude de Drapé (portant sur 400 chiens), la lésion la plus fréquente est une désinsertion de la corne postérieure du ménisque médial (cf. : figure 18) (Drapé J., *et al.*, 1990a).

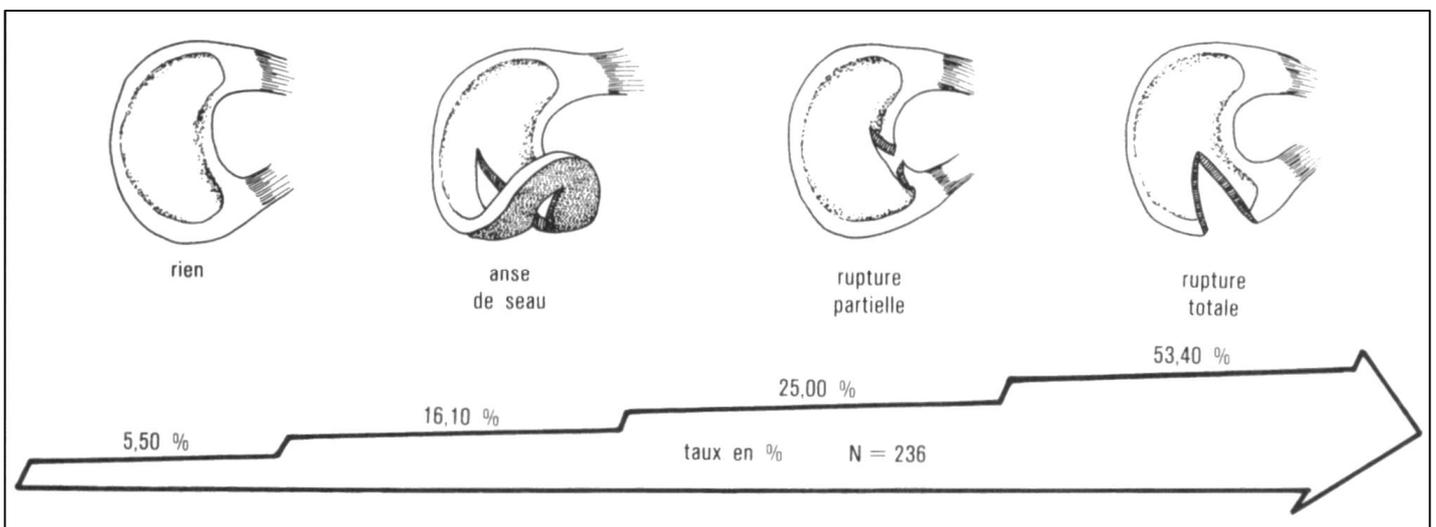


Figure 18 : illustration des différentes lésions de la corne postérieure du ménisque médial et de leurs pourcentages d'apparition chez le chien, d'après (Drapé J., *et al.*, 1990a)

Les lésions peuvent intéresser toute l'épaisseur du ménisque ou non et siègent à des distances variées du bord libre. Le segment postérieur du ménisque médial est le plus fréquemment touché, les segments postérieur et antérieur du ménisque latéral peuvent également être atteints. Les ruptures longitudinales sont évolutives et peuvent être classées en 4 stades selon la classification de Trillat (Trillat A., avril 1971) (Dulac O., 1983).

Le stade I est le stade initial de rupture longitudinale (cf. : figure 19 et annexe 15).

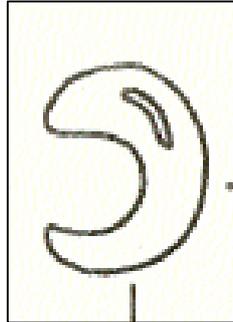


Figure 19 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade I selon la classification de Trillat, d'après (Flo G.L., 1993)

Le stade II est la poursuite de la déchirure longitudinale jusqu'à la déchirure en "anse deseau" (quand la partie déchirée du ménisque se positionne dans l'espace intercondylien et gêne l'extension du membre) (cf. : figure 20 et annexe 15).

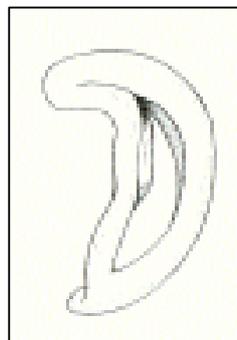


Figure 20 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade II selon la classification de Trillat, dite en "anse deseau", d'après (Flo G.L., 1993)

Le stade III est celui où l'"anse de seu" est perpétuellement luxée dans l'espace intercondylien (cf. : figure 21 et annexe 16).

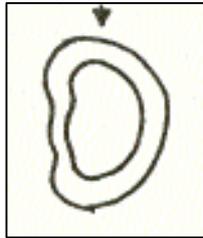


Figure 21 : illustration de lésion méniscale de rupture longitudinale de stade III selon la classification de Trillat, dite en "anse de seu", d'après (Flo G.L., 1993)

Il peut également se produire des double "anse de seu" (cf. : figure 22 et annexe 16).

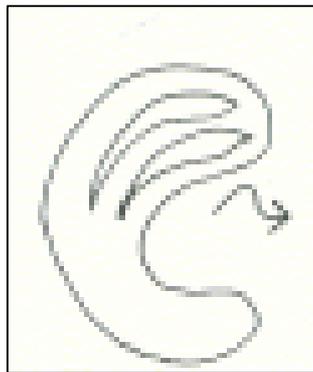
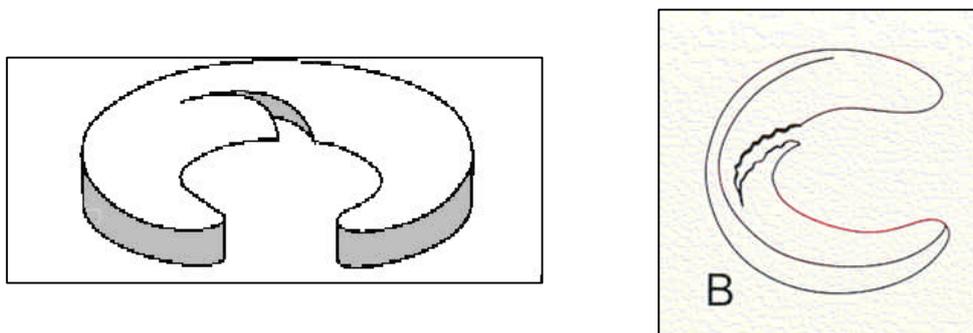


Figure 22 : illustration de lésion méniscale dite en double "anse de seu", d'après (Flo G.L., 1993)

Les ruptures obliques ou "becs de perroquet" sont des ruptures longitudinales ayant atteint le bord axial du ménisque.



Figures 23 : illustrations de lésion méniscale dite en "bec de perroquet", d'après (Beale B.S., et al., 2003)

Les ruptures transversales, plus rares, partent du bord axial vers le bord abaxial (cf. : figure 24). Elles sont dues au cisaillement du condyle fémoral lors de la rotation interne ; elles surviennent principalement au niveau de la corne antérieure ou du segment moyen du ménisque latéral et plus secondairement à la jonction du segment moyen et postérieur sur un ménisque médial dégénératif (Chassaing P., 1985).

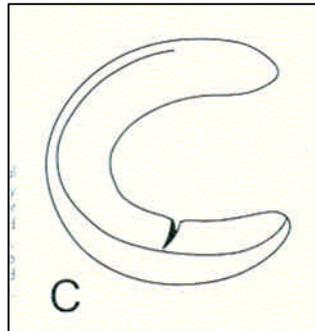


Figure 24 : illustration de lésion méniscale de rupture transversale, d'après (Beale B.S., *et al.*, 2003)

Les déchirures horizontales (dans l'épaisseur du ménisque) qui sont souvent associées aux autres types de déchirures, sont très difficilement visibles et sous diagnostiquées (cf. : figure 25). Ces dernières seraient responsables de nouvelles déchirures méniscales après traitement chirurgical (Beale B.S., *et al.*, 2003).

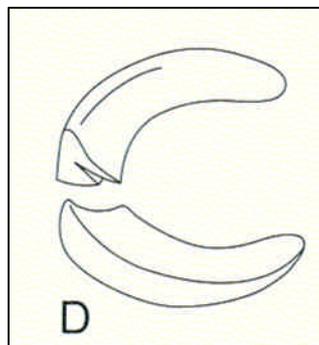


Figure 25 : illustration de lésion méniscale de déchirure horizontale, d'après (Beale B.S., *et al.*, 2003)

F/ Modifications diverses

1. Entésophytes

D'autres néo-formations que les ostéophytes sont produites au cours de l'arthrose. Elles peuvent apparaître tardivement, au sein des insertions capsulaires, ligamentaires ou tendineuses et sont nommées entésophytes (Fayolle P., 1997) (Fayolle P., 2002).

Lors d'arthrose du genou, elles sont observées régulièrement au pôle distal de la patella, dans l'insertion patellaire du ligament tibio-patellaire.

Ils correspondent à une manifestation d'arthrose avancée.

2. Nodules dans la membrane synoviale

Des nodules calcifiés sont occasionnellement observés dans la membrane synoviale lors d'arthrose avancée. Ce sont des zones de métaplasie cartilagineuse qui évoluent secondairement en ostéochondromes par ossification endochondrale (Fayolle P., 1997).

PARTIE 2 :
ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

I. But de l'étude

Le but de cette étude expérimentale est d'analyser les lésions macroscopiques et histologiques induites par l'utilisation d'un modèle d'arthrose sur le genou du chien. Un des intérêts est d'établir des corrélations entre les différents paramètres d'évaluation de l'arthrose utilisés (analyses macroscopique, histologique et orthopédique).

II. Matériel et méthodes

A/ Constitution de la population de chiens

1. Nature de la population

L'expérimentation, dirigée par le Pr. Eric Viguière, a été approuvée par le comité d'éthique de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon, suivant la législation sur le bien-être animal en vigueur en France.

Le protocole expérimental est effectué sur 21 chiens beagles, jeune adultes femelles de 10 mois, issus d'un élevage. Ils présentent un poids avoisinant 10 kg, un parfait état de santé et aucune anomalie visible à l'examen orthopédique. Ces chiens appartiennent à une étude plus importante dans le cadre de laquelle ont été réalisées à 1 mois une étude arthroscopique, à 3 mois une étude biomécanique d'analyse cinématique de la marche sur tapis de marche à capteurs de pression électroniques, ainsi que l'analyse de marqueurs de l'arthrose (CTX2 urinaires et sériques) en début et en fin d'étude.

La durée expérimentale sur l'animal a été de quatre mois.

Pendant le mois précédant le début de l'étude, les chiens ont été socialisés (caresses, promenades en laisse...) et habitués à leur nouvel environnement (2 box de 9m² chacun) et au personnel afin de pouvoir être examinés facilement, de près comme de loin. D'autre part, ils ont été habitués à marcher sur un tapis de 4m de long sur 0,80m de large, dans le but de réaliser une étude biomécanique de la marche.

Pour chaque animal, est créée une fiche d'identification avec photos, numéro de tatouage, numéro d'expérimentation, dates et nature des interventions subies ainsi que les remarques propres à chaque animal. Un cahier d'expérimentation est rempli quotidiennement, indiquant l'évolution des animaux concernant leur sociabilisation, les traitements donnés, les complications éventuelles rencontrées.

A 30 jours après la réalisation du modèle d'arthrose (J30), une arthroscopie du genou droit, effectuée sous anesthésie générale volatile, a permis d'évaluer les lésions post opératoires.

Des prélèvements (sérum par prise de sang à la veine jugulaire, urine par sondage urétral et liquide synovial par arthrocentèse) sont réalisés à J0, J30 et J90. Ils sont identifiés, datés et congelés.

Les chiens sont examinés quotidiennement voire biquotidiennement, moment au cours duquel un examen clinique avec prise de température rectale et un soin des éventuelles plaies sont réalisés.

2. Réalisation du modèle d'arthrose

Le modèle utilisé est basé sur le modèle expérimental classique par section du LCA du genou du membre postérieur droit, à l'aide d'une arthrotomie médiale selon la méthode de Schwartz ou de Palmoski (Schwartz E.R., 1980) (Palmoski M.J., *et al.*, 1980). La technique chirurgicale est néanmoins adaptée pour être la moins traumatisante possible. Le choix du modèle d'arthrose par rupture de LCA est effectué car les changements cliniques, radiographiques, morphologiques et biochimiques apparaissant après la chirurgie sont similaires à ceux apparaissant lors d'arthrose spontanée chez le chien (Mcdevitt C.A. and Muir H., 1976a) (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993) et l'homme (Adams M.E. and Pelletier J.P., 1988).

L'intervention est réalisée à J0 (du 26 au 29 avril 2004) sous anesthésie générale volatile (isoflurane), après prémédication par voie IM à l'acépromazine (0,05 g/kg) et au glycopyrrolate (0,01 mg/kg) et induction par voie IV à la kétamine (10 mg/kg) et au diazépam (0,5 mg/kg).

Le genou droit de l'animal est préparé de façon aseptique et drapé de façon stérile. Une arthrotomie limitée médiale permet l'accès au LCA, qui est sectionné. Après section, l'instabilité du genou est contrôlée par mise en évidence des signes du tiroir direct et indirect. L'abord chirurgical est refermé plan par plan. La capsule est refermée avec du fil monofilament résorbable PDS[®] décimal 2, le tissu sous cutané avec du fil tressé résorbable Vicryl[®] décimale 2 et le plan cutané avec du fil tressé résorbable Vicryl rapide[®] décimale 3. Les soins post opératoires immédiats consistent en une injection d'amoxicilline à 12,5 mg/kg BID (Clamoxyl LA[®]) par voie IM. La douleur est gérée en pré-opératoire par injection de morphine (0,1 mg/kg) par voie IM et en post-opératoire par injection de morphine (0,1mg/kg) à l'extubation et 4h après, ainsi que la mise en place d'un patch de fentanyl (Durogesic[®]) en région cervicale, retiré 48h après l'intervention. Les examens cliniques de l'animal et de la plaie sont effectués quotidiennement. Le pansement est retiré à trois jours et les points de suture à 12 jours.

Suite à l'arthrotomie, certaines chiennes présentent dès le 1^{er} mai des déhiscences de plaie, il est alors réalisé un nettoyage à la bétadine savon et un pansement bétadiné. Ces chiennes sont mises en box isolé et une collerette leur est posée. Une antibiothérapie à base de céfalexine à 15 mg/kg BID (Rilexine[®]) par voie SC est instaurée. Le 4 mai, une fois la phase de détersion achevée, les bords des plaies sont suturés. Toutes les plaies sont guéries avant le début des arthroscopies à J30.

B/ Analyse orthopédique des lésions

1. Nature des examens orthopédiques

Les chiens reçoivent un examen orthopédique à une semaine après création du modèle d'arthrose (soit les 4,5 et 7 mai), puis à 2 semaines, à 3 semaines, à 5 semaines, à 7 semaines, à 8 semaines, à 10 semaines et enfin à 12 semaines.

Un examen à distance est réalisé en premier, en laissant les chiens marcher en liberté ou en laisse pour les plus agités, dans une pièce de taille suffisante.

Puis un examen rapproché avec palpation, pression, mobilisation des articulations est accompli.

Les évaluations sont réalisées collégalement, en présence du Pr. Eric Viguière, les scores sont attribués après concertation entre les examinateurs. Cela permet de minimiser les variations de valeurs inter-opérateurs.

2. Grilles d'évaluation clinique

Les grilles d'évaluation clinique proviennent d'une réflexion de l'équipe travaillant sur l'étude (cf. : tableau 2).

Critères	0	1	2	3	4	5
Boiterie du membre opéré, au pas	Pas de boiterie	Boiterie après effort	Légère boiterie	Boiterie modérée	Boiterie sévère	Refus de marcher ou de se lever
Appui du membre opéré	Appui normal des 4 membres	Appui préférentiel, boiterie à peine détectable	Appui partiel, boiterie évidente	Aucun appui	/	/
Douleur à l'extension du genou	Pas de douleur	Douleur légère : réaction modérée, tourne la tête	Douleur modérée : retrait du membre, inconfort évident, plaintes	Douleur sévère : vocalisations, agression, refus de la palpation	/	/
Mobilité articulaire du membre opéré	Pas de limitation de la mobilité (<10° ou espace pointe de fesse-talon < 2cm))	Mobilité moyenne	Mobilité réduite	Très faible mobilité et douleur	Pas de mobilité	/

Tableau 2 : grille d'évaluation orthopédique de l'étude

En plus de l'évaluation orthopédique correspondant à la grille précédente, divers éléments cliniques sont vérifiés (cf. : tableau 3).

Leur présence est notée par le score 1, leur absence par 0.

Le poids des animaux est également mesuré à chaque examen orthopédique.

Critères
tiroir
plaie anormale
clic méniscal
gros genou
amyotrophie

Tableau 3 : grille d'évaluation orthopédique secondaire de l'étude

C/ Analyse macroscopique des lésions

1. Prélèvement et préparation préalable des structures du grasset

a/ Euthanasie des chiens

A J90, les chiens sont euthanasiés par injection intra-veineuse de pentobarbital (Dolethal®), après anesthésie suivant le même protocole que pour l'intervention chirurgicale.

b/ Coupe et dissection du grasset

Les grassets gauche et droit sont disséqués minutieusement et sciés au niveau du fémur distal, proximement à la trochlée fémorale et au niveau de l'ulna et radius proximaux, entre le plateau tibial et la tubérosité radiale.

Les pièces ainsi obtenues (condyles fémoraux et trochlées fémorales d'une part et plateaux tibiaux d'autre part) sont disposées de façon à en effectuer l'analyse macroscopique, puis photographiés suivant diverses incidences.

Ils sont ensuite placés dans un fixateur AFA (Alcool-Formol-Acide acétique) en attente de préparation histologique (cf. : tableau 4).

L'AFA permet d'éviter les inconvénients d'autres fixateurs, comme le formol (fixation lente et de qualité moindre) ou le liquide de Bouin (coloration jaunâtre des prélèvements).

Les membranes synoviales sont placées dans le même fixateur.

Ethanol absolu	75 %
Formol 40 %	20 %
Acide acétique glacial	5 %

Tableau 4 : composition du fixateur AFA utilisé dans l'étude

2. Grilles d'évaluation macroscopique

L'évaluation macroscopique est effectuée à 90 jours, elle a pour but de relever les lésions cartilagineuses, ostéophytiques, méniscales, après section du ligament croisé.

Les zones d'altérations du cartilage sont identifiées et mesurées selon le protocole EVA (Evaluation Visuelle Analogique) qui est un protocole d'optimisation de l'analyse lésionnelle du cartilage adapté par l'équipe prenant part à l'étude, notamment le Dr Rodrigo Cararo, à partir de celui de la Société Française d'Arthroscopie (SFA) (cf. tableau 6 et partie 2 IV B/ 2. de la thèse pour l'historique de ce score). A chaque profondeur de lésion est associée une gamme de score, la profondeur étant appréciée selon la classification de Béguin et Locker (Béguin J. and Locker B., 1983) et le pourcentage de la surface de la lésion par rapport à la surface articulaire totale venant pondérer la valeur du score. Les différentes profondeurs de lésions correspondent à celles décrites dans le paragraphe III. A/ de la partie 1. Seul le terme d'érosion superficielle est ajouté ; il correspond à une perte de substance fondamentale du cartilage plus superficielle que celle rencontrée lors de fibrillation.

La présence des ostéophytes est aussi signalée et quantifiée selon un score ostéophytique (SO) (cf. : tableau 5). Les évaluations sont effectuées par 3 opérateurs (Dr Rodrigo Cararo, Pr. Didier Fau et Pr. Eric Viguier) et moyennées.

Une tentative d'évaluation macroscopique des synoviales est effectuée, à l'aide d'une mesure d'épaisseur au cutimètre, et d'une grille d'évaluation basée sur l'aspect inflammatoire de la membrane (villosités, vaisseaux sanguins...) mais ces critères apparaissent non discriminants entre les chiens, par manque de précision. Les lésions méniscales et ligamentaires sont signalées mais non quantifiées.

Lésion observée	Score
Aucun ostéophyte	0
Petit ostéophyte ou discutable	1
Ostéophyte évident	2
Gros ostéophyte	3

Tableau 5 : évaluation macroscopique des lésions ostéophytiques

Lésion observée	Score
Surface lisse et intacte	0
Érosion superficielle ou chondromalacie	0 à 20
Fibrillation	21 à 40
Fissuration (25 à 50% de l'épaisseur)	41 à 60
Ulcération	61 à 80
Éburnation	81 à 100

Tableau 6 : évaluation macroscopique (EVA) des lésions du cartilage

D/ Analyse histologique des lésions

1. Réalisation des coupes histologiques

a/ *Décalcification du matériel ostéo-cartilagineux*

La partie histologique de l'analyse est effectuée au laboratoire NOVOTEC (15, rue Jacques MONOD 69007 LYON)

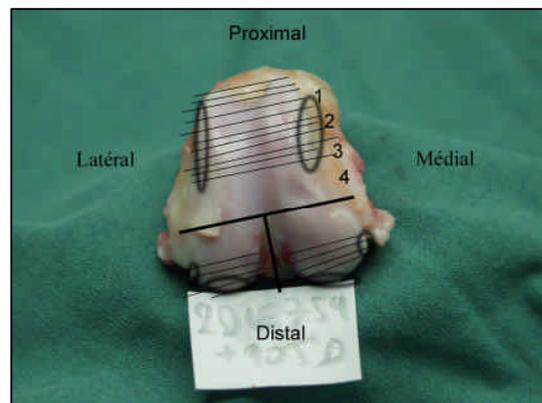
La pièce anatomique contenant la trochlée fémorale et les condyles fémoraux, ainsi que celle contenant les condyles du plateau tibial sont mis à décalcifier, après extraction de ces pièces hors du liquide de fixation. Le décalcifiant osseux rapide utilisé est le RDO d'EUROBIO[®], contenant de l'acide chlorhydrique et des adjuvants d'activation.

La durée totale de décalcification, processus permettant de couper les pièces anatomiques de façon plus aisée, est de 21 à 28 jours suivant l'épaisseur et la dureté des pièces.

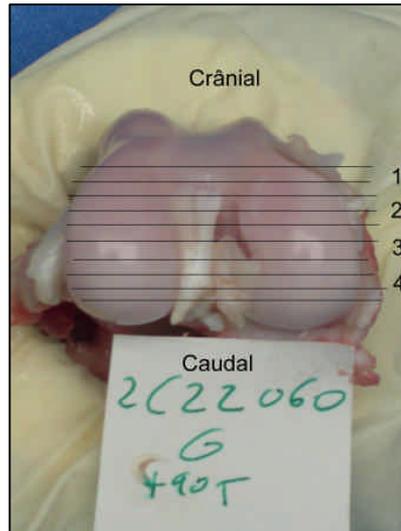
Les membranes synoviales ne sont pas décalcifiées.

b/ *Coupes fines*

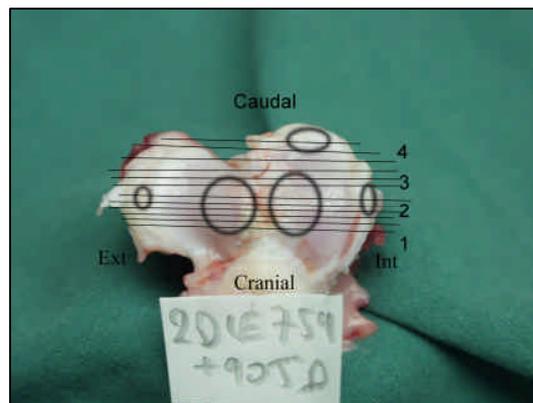
Les 2 pièces anatomiques (trochlée fémorale et condyles fémoraux d'une part et plateau tibial d'autre part) sont séparées à l'aide d'un cutter en 3 à 4 coupes transversales pour la trochlée fémorale, 3 à 4 coupes transversales pour les condyles fémoraux et 3 à 4 coupes longitudinales pour le plateau tibial (cf. : photographies 9, 10 et 11). L'épaisseur des coupes est d'environ 5 mm.



Photographies 9 : représentation des coupes des trochlées fémorales et condyles fémoraux (crédit : E. Viguier)



Photographie 10 : représentation des coupes des condyles fémoraux (crédit : E. Viguié)



Photographie 11 : représentation des coupes des condyles tibiaux (crédit : E. Viguié)

Puis les éléments coupés et décalcifiés (trochlées fémorales, condyles fémoraux et plateaux tibiaux) ou non décalcifiés (membranes synoviales) sont placés dans des cassettes d'histologie.

c/ Déshydratation

Les cassettes contenant les coupes fines effectuées précédemment sont placées dans une unité d'inclusion MICROM® HMP 110, machine automatisée permettant la déshydratation des prélèvements et leur passage à un état lipophile autorisant leur inclusion ultérieure en paraffine.

Ce processus s'effectue par le passage automatique des prélèvements dans 11 bains successifs à température adaptée, réglée par la machine, pour une durée totale de 12 heures et 45 minutes (cf. : tableau 7).

Alcool absolu	1h 30 mn
Acétone	1h
Acétone	1h 15 mn
Xylène	1h
Xylène	1h
Xylène	1h
Paraffine	1h 30 mn
Paraffine	1h 30 mn

Tableau 7 : déroulement du processus de déshydratation

d/ Inclusion en paraffine

Les prélèvements déshydratés sont inclus dans de la paraffine à + 70 °C, dans une unité MICROM® AP280.

Ils sont ensuite refroidis sur la plaque réfrigérante de la machine, à -8 °C, afin d'accélérer la solidification.

e/ Coupe microscopique

Des coupes microscopiques de 5 µm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome, ces prélèvements sont déposés sur lames en verre blanc, préalablement recouvertes de glycérine albuminée. Les lames sont immédiatement placées sur une plaque chauffante à + 38-40 °C, afin d'assurer une adhésion correcte sur la lame de verre.

On utilisera des lames en verre habituelles pour les colorations HES et TMG et des lames en verre silanisées pour les colorations immunohistochimiques (cf. : tableau 8).

<u>1ère MÉTHODE :</u>	
Acétone	5 min
Acétone + silane à 2%	5 min
Acétone	30 s
Séchage à température ambiante et à l'abri de la poussière	
<u>2ème MÉTHODE :</u>	
Acétone	5 min
Acétone + silane à 2%	5 min
2 bains successifs d'eau distillée	5 min
Séchage à température ambiante et à l'abri de la poussière	

Tableau 8 : déroulement du processus de silanisation des lames

f/ Déparaffinage

L'étape préalable à la coloration est le retour à un état hydrophile du prélèvement, assuré par le processus de déparaffinage (cf. : tableau 9).

Xylène	15 min
Xylène-alcool (v/v)	15 min
Alcool 95°	15 min
Alcool 95°-eau distillée (v/v)	15 min
Eau courante	30 min

Tableau 9 : déroulement du processus de déparaffinage des lames

g/ Colorations et immunohistochimie

Les quatre colorations utilisées peuvent se subdiviser en colorations classiques (Hématoxyline Eosine Safran ou HES, Trichrome de Masson variante de Goldner ou TMG et Rouge Picro-Sirius ou RPS) et immunohistochimie du collagène de type I, II et III (IHC).

α Hématoxyline Eosine Safran (HES)

Le HES, dont le principe de réalisation est décrit dans le tableau 9, est une coloration trichromique alliant une laque nucléaire (l'hématoxyline de Harris de nature basique), un colorant cytoplasmique (l'éosine de nature acide) et un colorant du collagène (le safran).

Les résultats obtenus sont une coloration des noyaux cellulaires (de nature basophile) en bleu à bleu-noirs, des cytoplasmes (de nature acidophile) en rose, du collagène en jaune-orangé, des fibres musculaires en rouge vif, des fibres élastiques en rose et des globules rouges en rouge-orangé (Sheehan D. and Hrapchak B., 1980).

L'intérêt de cette coloration dans notre étude est de visualiser correctement les cellules sur coupes histologiques, ainsi que les fibres de collagène.

β Trichrome de Masson variante de Goldner

Le TMG, dont le principe de réalisation est décrit dans le tableau 10, est également une coloration trichromique, se composant d'une application successive d'une laque nucléaire (hématoxyline de Groat de nature basique), d'un colorant cytoplasmique (fuschine ponceau de nature acide) et d'un colorant du tissu conjonctif (vert lumière).

Les résultats obtenus sont une coloration des noyaux cellulaires (de nature acidophile) en noir, des cytoplasmes (de nature basophile) en rouge, du collagène en vert, des fibres musculaires en rouge vif, des kératines et globules rouges en orange, des fibres élastiques en rose (Luna L., 1968).

Le TMG présente un intérêt semblable dans notre étude, mais son avantage par rapport au HES apparaît ainsi être le bon contraste obtenu (Gray P., 1954).

γ Rouge Picro-Sirius

Le RPS est une coloration simple et spécifique du collagène, mais ne comporte pas de coloration nucléaire (on peut utiliser une contre-coloration des noyaux cellulaires par l'hématéine pour obtenir un bon contraste).

Les résultats obtenus sont une coloration du collagène de type I et de type III (réticuline) en rouge, du fond de la lame en jaune (et des noyaux cellulaires en bleu si une contre-coloration par l'hématéine est utilisée) (Bancroft J. and Stevens A., 1982).

L'intérêt du RPS dans l'étude histologique des synoviales est de visualiser la matrice collagénique et son éventuelle fibrose, mais les inconvénients principaux sont l'impossibilité de visualiser les structures cellulaires et un manque de résolution quant à l'observation des lames où apparaît essentiellement un gros amas rouge.

Cette coloration sera donc, finalement, peu utilisée dans l'interprétation des coupes.

δ Immunohistochimie du collagène

L'IHC, dont le schéma technique est décrit dans la figure 19, est une technique développée récemment (Yuehuei H. A., 1999), reposant sur la propriété qu'ont les anticorps de former, avec les antigènes correspondants, des complexes immuns stables. Ainsi, l'utilisation d'anticorps dirigés contre une molécule (le collagène dans le cas présent) située dans une structure permet-elle de l'identifier et de la localiser (localisation intra-nucléaire, cytoplasmique ou membranaire) (Danguy A., 2005).

Après étalement, déparaffinage et séchage des coupes, l'anticorps primaire est déposé directement sur le tissu et reconnaît, s'il existe, le récepteur antigénique recherché. Le complexe antigène-anticorps obtenu est par nature invisible. Il est donc nécessaire de recourir à des artifices susceptibles de le visualiser. A cette fin, on utilise, le plus souvent, des anticorps secondaires couplés à une autre molécule, qui est elle-même spontanément colorée ou qui le devient aisément (sous lumière ultra-violette, par exemple). Ces anticorps secondaires se fixent aux anticorps primaires. Le marqueur des anticorps utilisé dans notre étude fait appel à une technique immuno-enzymatique utilisant la peroxydase, qui donne secondairement avec la para-aminobenzidine (chromogène) un précipité brun foncé. Une contre-coloration douce avec l'hématoxyline recoloré le tissu et rend possible une détermination topographique du marquage.

Le principe de réalisation de l'IHC utilisée pour l'histologie de notre expérimentation est décrit dans le tableau 11.

Les résultats connaissent des variations importantes d'un laboratoire à l'autre, d'un tissu à l'autre, d'un cas à l'autre. Ils dépendent de plusieurs étapes d'amont à commencer par la fixation, en particulier sa durée et le type de fixateur. Il est ainsi recommandé de tester les fixateurs utilisés, lors de l'étude de faisabilité préliminaire (Gruber H. E. and Stasky A. A., 1999). D'autres facteurs sont capitaux, notamment la dilution de l'anticorps et le mode de démasquage antigénique (par la chaleur). Il est indispensable de s'assurer, par des témoins positifs et négatifs de la fiabilité des réactions (Heron J. F., 2005) et de la spécificité des anticorps utilisés (souvent anticorps anti-molécules humaines).

En revanche, la coloration est stable et peut être analysée à tout moment, même plusieurs années après (études rétrospectives possibles). De même, le bloc en paraffine archivé peut être recoupé et donne la possibilité de réactions complémentaires ultérieures.

L'analyse impose une critique technique, une interprétation quant à la positivité ou négativité, la localisation du marquage et enfin une confrontation précise avec les hypothèses émises au vu de l'étude morphologique.

L'intérêt de l'IHC dans notre étude est de visualiser la production de collagène de type I, II et III par les chondrocytes du cartilage articulaire.

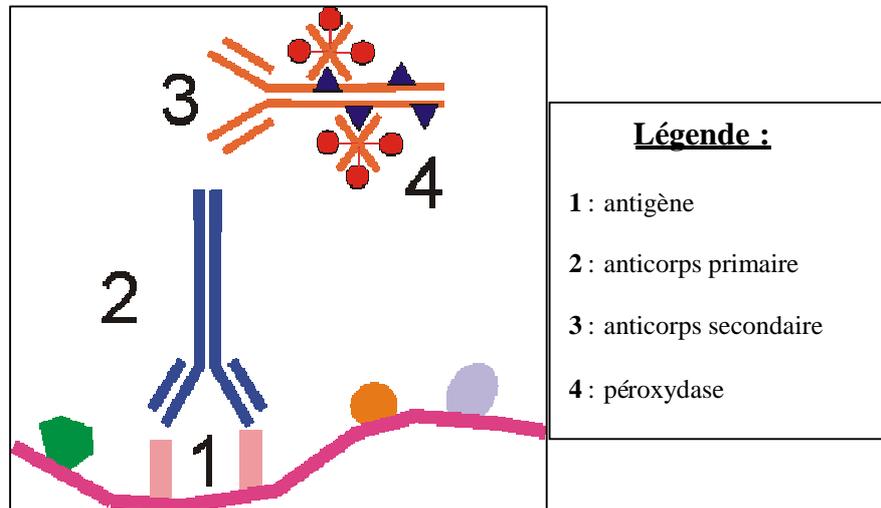


Figure 26 : schéma technique de l'immunohistochimie, d'après (Heron J. F., 2005)

Réactifs :

- OTTIX (Microstain lot 1403419)
- OTTIX SHAPER (Microstain , lot 4802513)
- Harris Hematoxylin modified for histology (Microstain , lot 4701113)
- Eosine G or Y polychrome (Microstain, lot 4302123)
- Safran dilué dans de l'alcool absolu
- Alcool 95° (Carloerba RE , code n° 528142)

Mode opératoire :

Placer les lames quelques minutes à 63°C avant l'incubation dans le bac d'OTTIX

OTTIX	10 mn
OTTIX	10 mn
OTTIX SHAPER	3 mn
Eau courante	15 mn
Hématoxyline	6 mn
Eau courante	5 mn
Carbonate de lithium	1 passage (3 s)
Eau courante	2 mn
Eosine	1 mn
Eau courante	1 mn
OTTIX SHAPER	30 s
OTTIX	5 mn
Safran	1 passage (3 s)
OTTIX	30 s
OTTIX	4 mn

Tableau 10 : réalisation de la coloration HES

Réactifs :

Hématoxyline de Groat (Hématoxyline Ferrique selon Weigert A et B , réf 02091092, DIAPATH)

Fuschine ponceau (selon Masson , réf 02090962, DIAPATH)

Orange G-molybdique

Vert lumière (Vert Luce Sec. Goldner, réf 02090572, DIAPATH)

Solution aqueuse à 1% d'acide acétique

Mode opératoire :

Coloration par l'hématoxyline de Groat 2 à 5 min

Rinçage à l'eau courante 5 min

Coloration par le mélange fuschine-ponceau 5 min

Rinçage à l'eau acétique

Coloration par l'orangé-G molybdique 5 min

Rinçage à l'eau acétique

Coloration par le vert lumière 5 min

Rinçage à l'eau acétique

Tableau 11 : réalisation de la coloration TMG

Traitement :

Hyaluronidase à 0.5% / PBS 1h, 20°C

(Sigma réf. H3506 type I-S)

Rinçage PBS 1 rapide, puis 10 min

Immunomarquage :

20°C

Anticorps primaire (dilution dans PBS + 3% BSA) 1 nuit à 20°C

Rinçages PBS /Tween 20 (0.2%) 1 rapide, puis 10 min

Inhibition des peroxydases endogènes 20 min

10 ml PBS + 3% BSA + 500µl H2O2 à 30 vol

Rinçages PBS 1 rapide, puis 10 min

Révélation :

Kit Envision (Dako, réf. K 4000) 45 min

Rinçages PBS 1 rapide, puis 10 min

Chromogène : DAB+ (Dako ,réf. K3468) 2-3 min

(1ml PBS + 1ml tampon du kit + 2 gouttes de DAB+)

Rinçage à l'eau courante 30 min

Contre-coloration :

Hématoxyline de Harris (diluée 2/3 dans eau distillée) quelques secondes

Rinçage eau courante 20 min

Différenciation :

Eau ammoniacuée (250 ml eau + 2 ml NH3 à 30%) 2 min

Tableau 12 : réalisation de la coloration IHC du collagène I, II et III

h/ Déshydratation

Le matériel histologique coloré avec le HES et le TMG doit ensuite être déshydraté avant son montage sur lame en milieu hydrophobe (cf. : tableau 12).

Le matériel histologique coloré avec l'IHC ne sera pas déshydraté.

Eau	1-2 mn
Eau/alcool	1-2 mn
Alcool	1-2 mn
Alcool/xylène	1-2 mn
Xylène	1-2 mn
Tableau 13 : déroulement du processus de déshydratation	

i/ Montage des lames

Concernant les colorations HES et TMG, des lamelles sont apposées sur les lames de verre, après application d'une résine d'enrobage composée de polymères à affinité pour le xylène (Entellan®).

Concernant l'IHC, le montage s'effectue sur un milieu aqueux (Faramount®).

Les régions d'intérêt des lames étudiées sont photographiées à l'aide de la caméra reliée au microscope.

2. Grilles d'évaluation histologique

Les grilles d'évaluation histologique, inspirées de celles de Colombo (Colombo C., *et al.*, 1983), sont effectuées de façon relative, en prenant le score le moins élevé pour le chien le moins atteint et le plus élevé pour le chien le plus atteint. L'adaptation du score de Colombo nous permet d'avoir une meilleure discrimination entre les chiens présentant des lésions.

Les grilles sont réalisées conjointement avec le Pr. Thierry Roger.

a/ Trochlées fémorales

Les lames analysées sont celles qui correspondent aux sites où les ostéophytes sont le plus développés.

Les colorations utilisées sont le TMG et le HES.

L'objectif des critères retenus est la détermination du stade d'évolution des lésions en caractérisant les éléments du tissu de recouvrement superficiel (évolution vers un tissu cartilagineux) et du plan profond (évaluation de l'importance du socle osseux) (cf. : tableau 13).

CRITÈRES	MÉTHODOLOGIE	0 (très précoce)	1 (précoce)	2 (moyen)	3 (avancé)	4 (très avancé)
Nature du tissu de recouvrement superficiel	Photos de l'ensemble du cartilage en x20 et 1 photo caractéristique en x100	Pas de tissu pathologique de recouvrement	Tissu fibreux à cellularité très faible	Tissu fibreux à cellularité très moyenne	Tissu fibreux avec tissu cartilagineux ou fibro-cartilagineux cellulaire minoritaire	Tissu fibreux avec tissu cartilagineux ou fibro-cartilagineux cellulaire majoritaire
Poussée osseuse dans le cartilage depuis la profondeur	Photos de l'ensemble du cartilage en x20 et 1 photo caractéristique en x20	Nulle	Légèrement augmentée (pas étendue sur toute la base de l'ostéophyte)	Nettement augmentée (étendue sur toute la base et épaisseur <50% de l'épaisseur du tissu de recouvrement fibreux)	Fortement augmentée (étendue sur toute la base et épaisseur >50% de l'épaisseur du tissu de recouvrement fibreux)	Totale (étendue sur toute la base et atteignant la couche superficielle)

Tableau 14 : grille d'évaluation histologique des lésions des trochlées fémorales

b/ Condyles du plateau tibial

Les lames analysées sont celles dont la coupe passe par l'éminence inter-condyloire et qui correspondent aux sites où les ostéophytes sont le plus développés, soit les sites du condyle médial.

Les colorations utilisées sont le TMG, le HES et l'immunohistochimie (immunomarquages des collagènes de type I, II, III).

L'objectif des critères retenus est l'évaluation de la dégénérescence du cartilage articulaire. D'une part l'évaluation est quantitative, par la mesure de l'épaisseur du cartilage définissant l'érosion de celui-ci via une méthode histomorphométrique. D'autre part, l'évaluation est également qualitative, par l'analyse de la cellularité et de la continuité de la couche superficielle de recouvrement définissant l'altération de celle-ci, ainsi que l'évaluation de la désorganisation des chondrocytes des couches intermédiaire et profonde définissant l'hypertrophie chondrocytaire (cf. : tableau 14).

L'érosion du cartilage est définie par l'épaisseur du cartilage, mesurée à partir des coupes réalisée en immunohistochimie pour le condyle médial du tibia en deux points définis précisément : le bord médial du condyle (valeur minimale de l'épaisseur) et la marge de l'aire inter-condyloire (valeur maximale de l'épaisseur).

La valeur du paramètre érosion du cartilage est la somme des épaisseurs mesurées sur ces 2 localisations anatomiques, cette valeur de la somme est étalée sur un score de 0 à 4.

L'altération de la couche cellulaire superficielle est évaluée d'une part à l'aide de la persistance d'une organisation tangentielle de chondrocytes allongés en superficie, qui caractérise une surface de contact et de glissement saine, alors que des chondrocytes plus ronds signent un phénomène de remaniement de la couche de recouvrement. D'autre part, une continuité de la couche cellulaire de recouvrement signe une altération moins marquée que lors de discontinuité de celle-ci ou que lors d'absence de cellules dans cette couche.

La valeur du paramètre altération de la couche superficielle est la somme des paramètres morphologie des cellules et continuité de la couche, cette valeur de la somme est étalée sur un score de 0 à 4.

L'hypertrophie chondrocytaire signant une dégénérescence du cartilage est évaluée en % sur la longueur et l'épaisseur du condyle médial, au niveau de la couche intermédiaire ainsi que de la couche profonde.

La valeur du paramètre hypertrophie chondrocytaire est la somme des paramètres épaisseur et longueur appliqués sur les couches profonde et intermédiaire, cette valeur de la somme est étalée sur un score de 0 à 4.

CRITÈRES		MÉTHODOLOGIE		0	1	2	3	4
Érosion du cartilage	Épaisseur du bord latéral (valeur maximale) en µm	Photos des parties latérales et médiales des surfaces articulaires en x20 et x100 et mesures de l'épaisseur du cartilage avec le logiciel de capture en x100 (en µm)	> 750	700-750	650-700	600-650	< 600	
	Épaisseur du bord médial (valeur minimale) en µm		> 550	500-550	450-500	400-450	< 400	
Altération de la couche superficielle	Valeur du paramètre érosion du cartilage	Somme des 2 épaisseurs	0	1	2-3	4-6	7-8	
	Morphologie des cellules	Photos de l'ensemble du cartilage en x20 et 1 photo caractéristique en x100 de la cellularité de la couche de recouvrement	Cellules tangentielles	Cellules tangentielles et	Cellules rondes	/	/	
	Continuité de la couche		Continuité	Discontinuité	/	/	Absence de cellules	
Hypertrophie chondrocytaire	Valeur du paramètre altération de la couche superficielle	Somme des 2 paramètres morphologie des cellules et continuité de la couche	0	1	2	3	4-6	
	Dans la couche intermédiaire	Évaluation en % de la longueur de la photo	Pas d'hypertrophie 0 %	Hypertrophie < 25 %	Hypertrophie 25-50 %	Hypertrophie 50-75 %	Hypertrophie > 75 %	
		Évaluation en % de l'épaisseur de la photo	Pas d'hypertrophie 0 %	Hypertrophie < 25 %	Hypertrophie 25-50 %	Hypertrophie 50-75 %	Hypertrophie > 75 %	
	Dans la couche profonde	Évaluation en % de la longueur de la photo	Pas d'hypertrophie 0 %	Hypertrophie < 25 %	Hypertrophie 25-50 %	Hypertrophie 50-75 %	Hypertrophie > 75 %	
Évaluation en % de l'épaisseur de la photo		Pas d'hypertrophie 0 %	Hypertrophie < 25 %	Hypertrophie 25-50 %	Hypertrophie 50-75 %	Hypertrophie > 75 %		
Valeur du paramètre hypertrophie chondrocytaire	Somme des % d'épaisseur et longueur dans les couches profonde et intermédiaire		0	1-4	5-9	10-14	15-16	

Tableau 15 : grille d'évaluation histologique des lésions des condyles du plateau tibial

c/ Membranes synoviales

Les lames analysées sont celles qui correspondent à des coupes transversales en regard d'une seule couche mésothéliale (afin de s'assurer d'être bien en coupe transversale).

Les colorations utilisées sont le HES et le RP.

L'objectif des critères retenus est la caractérisation d'une lésion chronique se manifestant au niveau de la matrice fibreuse et pouvant entraîner une gêne mécanique à la mobilisation articulaire. Ainsi, on procède à une évaluation de la fibrose par une évaluation de la densité et de l'organisation des fibres de collagène, de l'orientation des fibres et de l'épaississement relatif de la matrice par mesures histomorphométriques (cf. : tableau 15).

N.B. : l'évaluation de l'infiltration de cellules inflammatoires est impossible car à 90 jours, on se trouve dans un phénomène de chronicité expliquant l'absence de cellules inflammatoires présentes dans des stades inflammatoires plus précoces.

CRITÈRES	MÉTHODOLOGIE	0	1	2	3	4
Densité en profondeur ET organisation des fibres	Photos de l'ensemble de la pièce en x100 et 1 photo caractéristique en x100	Lâches ET ondulées ou très ondulées	Lâches ET pas ou peu ondulés	Densité moyenne ou hétérogène ET ondulées	Denses ET ondulées ou très ondulées	Très denses ET pas ou peu ondulés
Orientation des fibres par rapport à l'axe de synoviale	Photos de l'ensemble de la pièce en x100 et 1 photo caractéristique en x200	Non parallèles	Parallèles	/	/	/
Rapport épaisseur mésothélium/fibres	Photos de l'ensemble de la pièce en x100 et plusieurs mesures avec logiciel de capture en x100	< 0,05	0,05-0,1	0,1-0,15	0,15-0,2	> 0,2

Tableau 16 : grille d'évaluation histologique des lésions de la membrane synoviale

E/ Traitement statistique des données

Pour des raisons de durée très importante de l'étude expérimentale et des analyses histologiques ultérieures, les analyses statistiques n'ont pu être réalisées.

Les corrélations entre paramètres cliniques, macroscopiques et histologiques seront effectuées ultérieurement.

III. Résultats orthopédiques, macroscopiques et histologiques des lésions d'arthrose

A/ Résultats orthopédiques

Les résultats des 7 examens orthopédiques sont consignés dans les annexes 1, 2, 3 et 4.

B/ Lésions macroscopiques

1. Lésions ostéophytiques

a/ Photographies macroscopiques des condyles fémoraux

Les photographies macroscopiques des condyles fémoraux sont consignées dans l'annexe 5.

b/ Photographies macroscopiques des trochlées fémorales

Les photographies macroscopiques des trochlées fémorales sont consignées dans les annexes 6, 7, 8 et 9.

c/ Photographies macroscopiques des condyles tibiaux

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans l'annexe 10.

2. Lésions cartilagineuses

a/ Photographies macroscopiques des condyles fémoraux

Les photographies macroscopiques des condyles fémoraux sont consignées dans l'annexe 11.

b/ Photographies macroscopiques des trochlées fémorales

Les photographies macroscopiques des trochlées fémorales sont consignées dans les annexes 12 et 13.

c/ Photographies macroscopiques des condyles tibiaux

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans l'annexe 14.

3. Lésions méniscales

Les lésions méniscales observées concernent uniquement les ménisques médiaux et sont constatées sur 5 chiens parmi les 21 (soit 23,8%). Elles prennent la forme de lésions dites en "anse de seau" pour 4 d'entre elles et en "bec de perroquet" pour la dernière (cf. : annexes 15 et 16).

4. Tableaux de résultats des lésions ostéophytiques et cartilagineuses

Le tableau de résultats des lésions ostéophytiques et cartilagineuses est consigné dans l'annexe 17.

L'analyse du tableau de résultats simplifiés (cf. : tableau 16) révèle différents éléments.

Le score ostéophytique moyen le plus élevé de l'ensemble des structures du grasset est celui qui correspond à la trochlée fémorale (2,3), puis au condyle fémoral médial (1,4), au condyle tibial médial (1,2), au condyle fémoral latéral (0,9), au condyle tibial latéral (0,6) et enfin à la rotule (0,4).

Ainsi, en utilisant ces moyennes et notre grille d'évaluation, on peut conclure que, **à 90 jours, les ostéophytes de la trochlée sont évidents, ceux des condyles médiaux du fémur et du tibia sont petits ou discutables et ceux des autres localisations anatomiques sont nuls voire petits ou discutables.**

Le score EVA moyen le plus élevé de l'ensemble des structures du grasset est celui qui correspond au condyle tibial médial (15,0), puis au latéral (9,2), au condyle fémoral latéral (8,0), à la trochlée fémorale (5,5), au condyle fémoral médial (4,7) et enfin à la rotule (1,6).

Ainsi, en utilisant ces moyennes et notre grille d'évaluation, on peut conclure que, **à 90 jours, les lésions du cartilage articulaire du genou sont des lésions d'érosion superficielle, donc de même profondeur, mais d'étendue plus ou moins importante. Cette étendue est décroissante du condyle tibial médial, au latéral, au condyle fémoral latéral, à la trochlée fémorale, au condyle fémoral médial et enfin à la rotule. Les lésions de chondromalacie ne sont jamais observées.**

Type d'évaluation	Localisation	Moyenne	Écart-type
Score ostéophytique	Condyle Fémoral Médial	1,4	0,5
	Condyle Fémoral Latéral	0,9	0,6
	Condyle Tibial Médial	1,2	0,6
	Condyle Tibial Latéral	0,6	0,5
	Rotule	0,4	0,5
	Trochlée Fémorale	2,3	0,6
	SO total	6,9	1,9
Score EVA	Condyle Fémoral Médial	4,7	3,1
	Condyle Fémoral Latéral	8,0	5,0
	Condyle Tibial Médial	15,0	6,6
	Condyle Tibial Latéral	9,2	6,0
	Rotule	1,6	2,1
	Trochlée Fémorale	5,5	3,8
	Score EVA total	44,0	12,8

Tableau 17 : résultats simplifiés de l'analyse macroscopique des lésions cartilagineuses et ostéophytiques

C/ Lésions histologiques sur les trochlées fémorales et condyles du plateau tibial

1. Lésions des trochlées fémorales

a/ Photographies microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score)

- **Nature du tissu de recouvrement superficiel**

Les photographies macroscopiques des trochlées fémorales sont consignées dans les annexes 18, 19 et 20.

- **Poussée osseuse dans le cartilage depuis la profondeur**

Les photographies macroscopiques des trochlées fémorales sont consignées dans les annexes 21 et 22.

b/ Tableau de résultats

Le tableau de résultats des lésions histologiques sur les trochlées fémorales est consigné dans l'annexe 23.

L'analyse du tableau de résultats simplifiés (cf. : tableau 17) montre qu'en moyenne, la nature du tissu de recouvrement superficiel du cartilage articulaire en regard des ostéophytes des trochlées fémorales à 90j présente un score de 2,1 soit un tissu fibreux à cellularité très moyenne.

A 90 jours, le tissu de recouvrement superficiel du cartilage articulaire en regard des ostéophytes présente des remaniements situés à la médiane de l'intervalle constitué par entre ceux des témoins négatifs et ceux des individus de grade terminal.

De plus, la poussée osseuse dans le cartilage articulaire depuis la profondeur en regard des ostéophytes, à 90 jours, est de 0,8, soit légèrement augmentée (pas étendue sur toute la base de l'ostéophyte).

A 90 jours, la poussée osseuse dans le cartilage articulaire depuis la profondeur, en regard des ostéophytes, est peu avancée (légèrement plus avancée que les témoins négatifs) indiquant un processus de sclérose de l'os sous-chondral peu avancé.

Type d'évaluation	Moyenne	Écart-type
Nature du tissu de recouvrement superficiel	2,1	1,3
Poussé osseuse dans le cartilage depuis la profondeur	0,8	0,4

Tableau 18 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des trochlées fémorales en coloration HES

2. Lésions des condyles du plateau tibial

a/ Photographies microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score)

- Érosion du cartilage**

Les mesures sont effectuées en temps réel sur le logiciel de capture vidéo couplé au microscope (photos non disponibles).

- Altération de la couche superficielle – Morphologie des cellules**

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans l'annexe 24.

- Altération de la couche superficielle – Continuité de la couche**

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans l'annexe 25.

- **Hypertrophie chondrocytaire dans les couches intermédiaire et profonde**

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans les annexes 26, 27 et 28.

b/ Photographie microscopique (x100) en immunohistochimie collagène de type I, II et III

Les photographies macroscopiques des condyles tibiaux sont consignées dans l'annexe 29.

c/ Tableau de résultats en coloration classique

N.B. : les résultats concernant le condyle latéral, bien que disponibles, sont volontairement écartés car présentant moins d'intérêt au vu des moindres lésions observées sur le condyle latéral par rapport au condyle médial.

Ils sont disponibles dans le tableau en annexe 30.

L'analyse du tableau de résultats simplifiés (cf. : tableau 18) montre qu'en moyenne, l'altération de la couche superficielle du cartilage articulaire des condyles tibiaux à 90 jours, présente un score de 1,2 soit la présence de cellules tangentielles (pathologiques) et rondes (physiologique) associée à une discontinuité anormale de cette couche de recouvrement.

A 90 jours, la couche superficielle du cartilage articulaire des condyles tibiaux présente des remaniements intermédiaires entre ceux des témoins négatifs et ceux des individus de grade terminal.

De plus, l'érosion du cartilage articulaire des condyles tibiaux à 90 jours, présente un score de 3,2, soit une érosion supérieure à la médiane de l'intervalle défini dans la grille d'évaluation.

Enfin, l'hypertrophie chondrocytaire dans les couches intermédiaire et profonde du cartilage articulaire à 90 jours, présente un score de 1,6, soit une hypertrophie < 25% en largeur et en épaisseur de ces-dites couches.

A 90 jours, l'hypertrophie chondrocytaire dans les couches intermédiaire et profonde du cartilage articulaire des condyles tibiaux est inférieure à la médiane de l'intervalle constitué par l'hypertrophie nulle des témoins négatifs et l'hypertrophie maximale de grade terminal. Le phénomène est donc peu avancé.

Type d'évaluation	Moyenne	Écart-type
Altération de la couche superficielle	1,2	1,1
Érosion du cartilage	3,2	1,3
Hypertrophie chondrocytaire	1,6	1,0

Tableau 19 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en coloration HES

d/ Tableau de résultats en immunohistochimie collagène de type I, II et III

L'IHC collagène de type III permet de mettre en évidence la présence de collagène de type III, en région péri-cellulaire des chondrocytes dans la couche superficielle du cartilage articulaire. Les IHC collagène de types I et II présentent des résultats nuls.

Les résultats obtenus sont retranscrits dans le tableau en annexe 31.

On peut conclure qu'une synthèse de collagène de type III et non de collagène I et II est en cours au niveau des chondrocytes des zones superficielles du cartilage, chez la moitié des chiens (10 sur 21).

D/ Lésions histologiques sur les membranes synoviales

1. Photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES (1 exemple par score)

- **Densité en profondeur et organisation des fibres de collagène**

Les photographies des coupes microscopiques des membranes synoviales sont consignées dans les annexes 32 et 33.

- **Orientation des fibres de collagène par rapport à la synoviale**

Les photographies des coupes microscopiques des membranes synoviales sont consignées dans l'annexe 34.

- **Rapport épaisseur mésothélium/fibres de collagène**

Les mesures sont effectuées en temps réel sur le logiciel de capture vidéo couplé au microscope (photos non disponibles).

2. Tableau de résultats

Le tableau de résultats des lésions histologiques sur les membranes synoviales est consigné dans l'annexe 35.

L'analyse du tableau de résultats simplifiés (cf. : tableau 19) montre qu'en moyenne, la densité en profondeur et l'organisation des fibres de collagène de la membrane synoviale à 90 jours présente un score de 2,1, soit une densité moyenne ou hétérogène et des fibres ondulées.

A 90 jours, la densité en profondeur et l'organisation des fibres de collagène des membranes synoviales indique des remaniements de la membrane synoviale situés à la médiane de l'intervalle constitué par ceux des témoins négatifs et ceux des individus de grade terminal.

De plus, l'orientation des mêmes fibres de collagène par rapport à l'axe de la synoviale à 90 jours présente un score de 0,8, soit des fibres globalement parallèles à l'axe de la synoviale, ce qui indique un processus arthrosique déjà avancé.

Enfin, le rapport épaisseur du mésothélium sur celle des fibres présente un score de 2,0 soit un rapport situé sur la médiane de l'intervalle défini dans la grille d'évaluation.

Type d'évaluation	Moyenne	Écart-type
Densité en profondeur ET Organisation des fibres	2,1	1,3
Orientation des fibres/synoviale	0,8	0,4
Rapport épaisseur mésothélium /fibres	2,0	1,5

Tableau 20 : résultats simplifiés de l'analyse microscopique des membranes synoviales en coloration HES

IV. Discussion

A/ Biais, difficultés et inconvénients de l'étude

1. Matériel et méthodes

Le choix des beagles femelles est discutable. Leur âge est judicieusement choisi, puisqu'ils sont suffisamment âgés pour que leurs cartilages de conjugaison soient fermés (condition pour la validité du modèle d'arthrose) et suffisamment jeunes pour ne pas développer, à priori, d'arthrose liée à l'âge. En revanche, le choix de femelles est discutable. Cela apporte, certes, un confort dans la manipulation des animaux (poids réduit, caractère plus docile...), mais il existe une controverse dans la littérature, concernant l'influence des œstrogènes sur le développement de l'arthrose (Rosner I.A., *et al.*, 1979).

L'analyse histologique des membranes synoviales n'a pas été facilitée par la préparation insuffisante de celles-ci. Leur passage dans le fixateur AFA directement après prélèvement a entraîné leur repliement sur elles-mêmes, d'où une difficulté d'analyse histologique du point de vue du plan de coupe microscopique. Il aurait été judicieux de les disposer à plat avant fixation (en les tendant à l'aide d'une planche de liège et de quelques épingles, par exemple). L'expérimentateur aurait ainsi eu la certitude d'avoir un plan de coupe correct, au lieu de se demander si cette coupe ne passait pas par un repliement de la synoviale.

Les pièces ostéo-cartilagineuses ont été laissées, au total, 3 à 4 semaines dans le décalcifiant, alors que la notice du produit indique, suivant la nature des pièces à décalcifier, que quelques heures suffisent en général. Ceci fut la cause d'un retard de l'analyse histologique.

Ce retard à la décalcification est à mettre en relation avec la dureté importante des pièces anatomiques utilisées, à l'absence d'agitation mécanique durant la décalcification, au non respect du rapport volume de l'échantillon sur celui de RDO (recommandé à 1/20 par le fabricant) pour des raisons de coût.

Le moment adéquat pour sortir la pièce du décalcifiant et commencer à la traiter est ainsi laissé à l'appréciation de l'expérimentateur. En évaluant la dureté des pièces, plusieurs fois par semaine, par un test à l'aide d'une pointe de ciseaux ou d'une pince, on obtient un résultat satisfaisant. Les pièces, d'une part, ne semblent pas souffrir d'un excès de décalcification lors de l'observation microscopique et, à contrario, se laissent couper sans trop de difficultés.

Pour l'évaluation macroscopique, concernant l'EVA, l'utilisation de l'encre de Chine aurait été intéressante pour faciliter la visualisation des changements précoces du cartilage articulaire (Meachim G., 1972) (Ehrlich M.G., *et al.*, 1975). Il faut souligner, d'autre part, que la distinction entre le stade d'érosion superficielle et celui de fibrillation n'est pas facile à l'œil nu. En outre, l'évaluation des lésions cartilagineuses fait appel à différents critères de profondeur et/ou étendue selon les auteurs (cf. : infra) d'où la difficulté de créer une grille universelle (EVA), comme nous avons tenté de le faire à partir de la bibliographie.

Le choix d'effectuer une analyse histologique des zones des trochlées fémorales les plus riches en ostéophytes introduit un biais dans l'étude, mais il ne semblait pas possible de toujours effectuer cette analyse sur la même zone de la trochlée entre les différents chiens, pour des raisons anatomiques. Au contraire, concernant les condyles des plateaux tibiaux, les coupes histologiques passent toujours par le même repère anatomique (éminence inter-condyloire).

De même, concernant l'immunohistochimie, un marquage anti-collagène de type X aurait été riche en informations, puisque ce-dernier est synthétisé physiologiquement par les chondrocytes hypertrophiques des plaques de croissance du cartilage articulaire fœtal et pathologiquement par ces-mêmes chondrocytes en profondeur du cartilage articulaire arthrosique (type X retrouvé autour des clusters de chondrocytes du cartilage en fibrillation) (Vondermark K., *et al.*, 1992) (Aigner T., *et al.*, 1993b) (Girkontaite I., *et al.*, 1996) (Boos N., *et al.*, 1999).

Une des difficultés présente lors d'une étude comme la notre est la quantité de matériel à traiter (des dizaines de cassettes histologiques et donc des centaines de lames microscopiques), difficulté encore accentuée par la multiplicité des opérations de traitement de celles-ci.

2. Analyse des résultats

Dans l'idéal, pour pondérer les résultats des lésions observées, il aurait fallu tenir compte du niveau d'activité physique des animaux. En effet, cette meute de beagle présente des variations individuelles de caractère importantes, entre les individus inhibés et prostrés dans un coin de leur box et ceux, au contraire, d'un naturel hyperactif. Ceci entraînant une différence d'activité physique et peut-être une différence de gravité ou de rapidité d'apparition des lésions du genou opéré. Même si les manipulateurs sont, à l'issue de l'étude et au vu du temps passé avec les animaux, capables de reconnaître chaque chien et de décrire son tempérament, nous n'avons pas de solutions pour quantifier l'impact du caractère des animaux sur leur dynamisme et encore moins pour pondérer les lésions observées par le critère de comportement des chiens.

Concernant les résultats histologiques des membranes synoviales, il est difficile de faire la part des modifications de ces membranes propres au phénomène arthrosique en cours au niveau du genou et de celles induite par l'arthrotomie nécessaire à la réalisation du modèle d'arthrose. En se plaçant suffisamment longtemps (3 mois) après cette intervention chirurgicale et en la pratiquant de façon la moins invasive possible, on considère, par approximation, que les lésions observées n'ont pas d'origine iatrogène. Mais il existe une controverse au sujet de l'influence de l'arthrotomie sur les lésions articulaires. Certains ont démontré l'absence de conséquence de l'arthrotomie sur des lésions articulaires (Mcdevitt C.A., *et al.*, 1977). D'autres mettent en évidence une modification transitoire du cartilage secondaire à la synovite induite par arthrotomie (Frost L. and Ghosh P., 1984) (Lukoschek M., *et al.*, 1988). La synovite seule ne semble pas pouvoir conduire à des destructions cartilagineuses (Lukoschek M., *et al.*, 1988) et inversement les lésions cartilagineuses lors de modèle d'arthrose peuvent apparaître en l'absence de synovite (Walker E.R., *et al.*, 1991). Peut-être y a-t-il effectivement lors de synovite une modification transitoire du cartilage, dépendant de la taille de l'arthrotomie mais conduisant à des lésions arthrosiques de destruction du cartilage uniquement lors d'instabilité mécanique associée à cette synovite ?

Il aurait donc été intéressant d'effectuer des arthrotomies sans rupture du LCA et d'analyser selon la même méthodologie les lésions de ces animaux témoins. L'absence de lésions marquées sur ces animaux n'aurait pas pour autant permis d'exclure totalement le fait que les traumatismes chirurgicaux de la membrane synoviale concourent au développement de l'arthrose lors d'instabilité induite par rupture du LCA. Il faudrait pour cela effectuer des ruptures de LCA sans intervenir sur la membrane synoviale, ce qui semble difficilement réalisable.

B/ Comparaison avec d'autres études expérimentales similaires

1. Méthodologie

Cette partie s'attache à montrer les différentes possibilités étudiées lors de l'étude de faisabilité préalable au commencement de l'étude expérimentale.

a/ Différents modèles d'arthrose

Un article récent définit les critères importants de choix des modèles animaux d'arthrose : coût, recherche antérieure sur ce modèle (incluant des antécédents d'utilisation, connaissances du modèle et accord de son utilisation), facilité de manipulation lors de l'expérimentation, possibilité d'approvisionnement d'animaux de l'âge, de la taille et du sexe approprié, disponibilité de techniques expérimentales pour l'évaluation et la manipulation du modèle. Mais également, caractéristiques anatomo-physiologiques dont : tissus articulaires et synovie en quantité suffisante, similitude quantitative aux tissus humains, articulation portante ou non. Ainsi que : possibilité d'effectuer des contrôles avec la même méthodologie, durée de vie de l'animal par rapport aux premiers signes de la maladie et à la durée de l'évolution de la maladie, disponibilité d'historiques concernant l'alimentation ou l'exercice, données génétiques. On peut éventuellement y ajouter : nature de la phase à modéliser (précoce, avancée ou terminale), différence éventuelle de physiologie et de qualité concernant les tissus prélevés, pertinence de l'utilisation d'animaux immatures, adultes ou âgés, conséquences éventuelles de la présence de cartilage de conjugaison encore ouverts (Pritzker K.P., 1994).

Ainsi, on peut séparer les modèles en 3 types : spontanés (dont les animaux manipulés génétiquement), induits chimiquement et induits mécaniquement ou chirurgicalement (Moskowitz R.W., 1992). Il est à noter que les modèles de type mixte n'ont pas eu une utilisation fréquente.

α Modèles spontanés

Les modèles spontanés regroupent quelques espèces dont certaines races possèdent une prédisposition à développer de l'arthrose. Des modèles génétiquement modifiées (souches de souris) évitent l'inconvénient des lignées "naturelles" à savoir le temps assez long de développement de l'arthrose, tout en permettant une croissance normale de l'animal. Ce type de modèle représente probablement l'avenir de la recherche, car il permettra d'étudier la contribution de protéines spécifiques au phénomène arthrosique.

β Modèles induits mécaniquement ou chirurgicalement

Les modèles induits mécaniquement ou chirurgicalement furent développés pour permettre un modèle d'arthrose accéléré mais maîtrisé ou, dans certains cas, démontrer la contribution de composantes mécaniques particulières ou d'éléments structuraux particuliers au phénomène arthrosique. Aucune tentative de réparation de l'altération initiale ou de réversibilité du modèle n'a été tentée. Les modèles plus anciens faisaient appel à l'immobilisation et la compression. Ainsi, des mises en charges de l'articulation, de façon répétitive et avec des fréquences élevées induisent des destructions cartilagineuses focales de façon lente (visibles dès la 9^e semaine) (Walker E.R., *et al.*, 1991). Les modèles utilisant la chirurgie, quant à eux, miment l'étiologie traumatique des arthroses. Ils sont les plus utilisés et présentent plusieurs avantages : une incidence de 100%, une durée d'apparition des modifications et une localisation des ostéophytes bien connues, une durée expérimentale pouvant être courte. En revanche, des inconvénients sont présents et concernent la variabilité de la sévérité des lésions, de la taille ou de l'âge des différents animaux concernés et l'existence d'une arthrose préexistante ou apparaissant naturellement (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

La première méthode chirurgicale publiée date de 1972, appliquée au lapin et consistant en une section des 2 ligaments croisés, une résection du ligament collatéral médial ainsi qu'une ménisectomie médiale (Telhag H., 1972). Elle fut reprise par d'autres chercheurs (Ehrlich M.G., *et al.*, 1975) (Gold E.W., *et al.*, 1976) (Lane J.M., *et al.*, 1979). Par la suite, un modèle moins agressif, engendrant une arthrose d'évolution plus lente, fut utilisé : section du ligament croisé postérieur (LCP) (Davis W. and Moskowitz R.W., 1973) et surtout ménisectomie médiale totale ou partielle (Moskowitz R.W., *et al.*, 1973) (Moskowitz R.W., *et al.*, 1979) (Moskowitz R.W., *et al.*, 1980) (Shapiro F. and Glimcher M.J., 1980). Cette dernière méthode fut également utilisée chez le singe (Lufti A.M., 1975).

Des déchirures profondes du LCA du chien, produites naturellement ou provoquées expérimentalement, ont servi de modèle pour étudier la physiopathologie et l'efficacité des traitements de l'arthrose (Arnoczky S.P and Marshall J.L., 1977) (Vasseur P.B., *et al.*, 1985) (Brandt K.D., *et al.*, 1991) (Johnson R.J., *et al.*, 1992) (Dupuis J. and Harari J., 1993) (Brandt K.D., 1994). Le seul modèle d'arthrose utilisé chez le chien est d'ailleurs la rupture de LCA.

Au départ de l'utilisation de ce modèle, l'intervention était pratiquée avec une lame de bistouri par voie externe, à l'aveugle, ce qui correspond au modèle de Pond et Nuki (Pond M.J. and Nuki J., 1973), repris par de nombreux auteurs (Mcdevitt C.A. and Muir H., 1976a) (Mcdevitt C.A., *et al.*, 1977) (Eyre D.R., *et al.*, 1980) (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993) (Visco D.M., *et al.*, 1996).

Depuis 1980 et encore à l'heure actuelle, l'instabilité articulaire est créée de préférence par arthrotomie, qui offre l'avantage du contrôle visuel du geste chirurgical. Cette arthrotomie peut-être médiale, comme dans notre étude (Schwartz E.R., 1980) (Palmoski M.J., *et al.*, 1980) (O'connor B.L., *et al.*, 1989) (Visco D.M., *et al.*, 1996) ou latérale (Adams M.E. and Pelletier J.P., 1988).

Le modèle faisant appel à la rupture du LCA est ainsi considéré comme celui de référence ; les différents stades d'avancement de l'arthrose induite ayant été richement documentés. Les changements cliniques, radiographiques, morphologiques et biochimiques apparaissant après la chirurgie sont similaires à ceux apparaissant lors d'arthrose spontanée chez le chien (Mcdevitt C.A. and Muir H., 1976a) (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993) et l'homme (Adams M.E. and Pelletier J.P., 1988). Néanmoins, la durée nécessaire à l'établissement d'une arthrose clinique avancée est assez longue (3 à 4 ans) (Brandt K.D., *et al.*, 1991), ce qui représente un frein à l'étude de l'efficacité des traitements anti-arthrosique.

Le modèle de méniscectomie, quant à lui, se décline dans différentes versions, chacune conditionnant une extension et une évolution de l'arthrose différentes. Il n'est pas pratiqué chez le chien. La méniscectomie partielle médiale chez le lapin produit une arthrose modérée et progressive (Moskowitz R.W., 1992). La méniscectomie totale chez le mouton entraîne une progression rapide (Smith M.M., *et al.*, 1997). La méniscectomie partielle associée à une rupture de LCA produit une arthrose étendue chez le lapin (Moskowitz R.W., 1992) (Hulth A., *et al.*, 1971) (Ehrlich M.G., *et al.*, 1975). La méniscectomie latérale partielle (résection d'une portion de 4-5 mm), associée à une section des ligaments fémoro-patellaires et du ligament collatéral latéral du grasset, aussi appelée modèle de Colombo, produit une arthrose progressive mais sévère débutant vers 1-2 semaines et atteignant son maximum de sévérité vers 3 mois post-chirurgie (Colombo C., *et al.*, 1983). D'une façon générale, au vu des précédentes études, la méniscectomie induit une arthrose plus rapide que la rupture de LCA.

Un modèle développé plus récemment, appelé "canine groove model", semble particulièrement intéressant. Il consiste à créer des sillons dans le cartilage articulaire et à mettre en charge l'articulation de façon intense. Les lésions histologiques et modifications biochimiques du cartilage et des marqueurs d'arthrose montre des lésions cartilagineuses à 10 semaines après induction similaires à celles obtenus avec le modèle de rupture de LCA. Son avantage par rapport à ce dernier semble être une inflammation synoviale moins importante, ainsi qu'une sensibilité au traitement plus importante, puisque l'effet du traitement administré n'est pas neutralisé par l'instabilité articulaire permanente (comme dans le modèle de rupture de LCA) ou gêné par l'inflammation. C'est sans doute pourquoi les lésions dégénératives montrent-elles une progression modérée entre 20 et 40 semaines après induction (Marijnissen A.C.A., *et al.*, 2002a) (Marijnissen A.C.A., *et al.*, 2002b). En revanche, la réalisation de l'étude semble moins pratique (contraintes liées à la mise en charge de l'articulation, plusieurs heures par jour).

Des chirurgies extracapsulaires, comme une ostéotomie en varus ou valgus, ou des résections musculaires entraîne une évolution plus lente (Oegema-Jr. T. R. and Visco D., 1999). Les ostéotomies nécessitent, par ailleurs, un temps d'intervention plus long, une maîtrise technique supérieure et une instrumentation plus conséquente que les techniques précédentes.

Il est à noter que, tout particulièrement dans les modèles d'arthrose induite mécaniquement ou chirurgicalement, l'animal modifie souvent son utilisation du membre controlatéral, ce qui peut entraîner des changements persistants mais dénués de progression. C'est pourquoi, son utilisation comme témoin négatif, en évaluation macroscopique ou histologique, pour des études sur des arthroses avancées ou terminales est possible, mais pas pour des études plus fines (Jortikka M.O., *et al.*, 1997).

γ Modèles induits chimiquement

Les modèles induits chimiquement font appel à des injections intra-articulaires de molécules actives (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999). On citera, par exemple, l'injection de papaïne (Kitoh Y., *et al.*, 1992). Les lésions induites par ces modèles sont en général dose-dépendantes et réversibles, en ce qui concerne les doses faibles (Williams J.M., *et al.*, 1993). D'une façon générale, les lésions débutent en surface du cartilage articulaire et dépendent de l'articulation concernée, à cause des différents sites d'injection du réactif et des différences de composition du cartilage. Les zones endommagées sont ensuite soumises aux forces normalement appliquées au niveau de l'articulation. La progression de l'arthrose peut-être accélérée par de l'exercice, retardée par une immobilisation (Williams J.M. and Brandt K.D., 1984), ou bien encore améliorée par une mobilisation passive de l'articulation (Williams J.M., *et al.*, 1994). Le réactif peut également induire des dommages secondaires dans l'articulation, altérant les propriétés mécaniques de cette-dernière (Vanosch G.J., *et al.*, 1996).

Tous les différents modèles d'arthrose et leurs indications sont regroupés dans différents articles de synthèse (Vignon E. and Mazières B., 1987) (Mazières B., 1989) (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

b/ Préparation des pièces anatomiques à analyser

D'une façon générale, avant de se lancer dans une étude faisant appel à l'histologie ou l'immunohistochimie, il est recommandé de consulter des ouvrages de référence, comme celui-ci : (Gardner D.L., *et al.*, 1997).

α Fixation

D'autres fixateurs que l'AFA (utilisés dans notre étude) sont disponibles sur le marché, les principaux étant le formol et le liquide Bouin.

Le formol est un liquide incolore utilisé dilué à 10%. Ses avantages sont : son faible coût, son respect des différentes tonalités de couleur des pièces à l'histologie, sa préservation de l'ADN des tissus (en vue de techniques de biologie moléculaire). En revanche, son inconvénient se situe au niveau d'une fixation lente et de qualité moindre.

Le liquide de Bouin est composé d'eau, de formol, d'acide picrique et d'acide acétique (une variante est le liquide de Duboscq-Brasil = «bouin» alcoolique).

Il s'agit d'un très bon fixateur (fixation plus rapide), mais l'on obtient une coloration en jaune des prélèvements et il ne permet pas l'étude de l'ADN. En outre, il est plus cher que le formol. L'AFA (Acide acétique, Formol, Alcool) évite une partie de ces inconvénients.

Selon Troyer, la préparation d'échantillons ostéo-cartilagineux en vue d'inclusion en paraffine passe par une étape de fixation faisant appel à un fixateur tamponné, comme le formaldéhyde, en utilisant la plus petite taille d'échantillon possible (Troyer H., 1982).

β Inclusion et décalcification

L'inclusion en paraffine demeure la méthode la plus utilisée en histologie des tissus mous, cartilagineux et osseux des articulations (Yuehuei H. A., 1999).

L'inconvénient de cette méthode est l'obligation de décalcifier les pièces osseuses. Or, il faut suffisamment décalcifier pour obtenir une coupe aisée des pièces, mais éviter de sur-décalcifier pour conserver l'architecture tissulaire et les détails cellulaires intacts ; ce dernier point étant important pour la qualité des colorations immunohistochimiques ou enzymatiques ultérieures (Gruber H. E. and Stasky A. A., 1999).

En revanche, l'avantage de cette méthode est le coût bien plus abordable que celui de l'inclusion en résine.

Selon Troyer, la décalcification dans le citrate et l'EDTA, à froid, est la méthode la plus douce, mais malheureusement très chronophage (Troyer H., 1982). Ainsi, l'acide formique à 10% ou le mélange acide formique à 10%-formaldéhyde à 3,7% à température ambiante donne de bons résultats. Pour empêcher le durcissement des échantillons au moment de l'inclusion, la paraffine doit être maintenue juste au dessus de la température de fusion et le xylène peut être remplacé par du chloroforme au moment de la déshydratation (Troyer H., 1982).

L'inclusion en résine est une procédure réservée aux tissus durs, tels que les tissus osseux, implants métalliques...(Yuehuei H. A., 1999) Les pièces sont incluses dans du méthylméthacrylate ou de la résine de Spurr et ne nécessitent pas de décalcification préalable. Par contre, les coûts et le matériel nécessaire pour la coupe des pièces, ainsi que la durée relativement longue du processus sont un frein à l'utilisation de cette méthode.

γ Autres colorations histologiques

Au cours de l'étude de faisabilité, d'autres colorations conventionnelles ont été testées.

Le Bleu Alcian (BA), est une coloration composée d'un groupe de colorants polyvalents basiques. La couleur bleue est due à la présence de cuivre dans la molécule mise en évidence. L'utilisation d'une contre-coloration avec du Rouge Nucléaire permet d'obtenir un meilleur contraste (visualisation des noyaux cellulaires).

Les résultats obtenus sont une coloration des mucopolysaccharides acides sulfatés ou carboxylés et des glycoprotéines carboxylées en bleu turquoise sur fond rosé (et des noyaux cellulaires en rouge si une contre-coloration par le Rouge Nucléaire est utilisée) (Carson F., 1990). On rappelle que ces molécules citées précédemment sont des composants des protéoglycanes de la matrice extra-cellulaire du cartilage articulaire.

L'intérêt de cette coloration dans notre étude est de visualiser les protéoglycanes, mais la quantification de la perte de protéoglycanes, classiquement décrite lors de phénomène arthrosique, ne s'avère pas réalisable dans notre étude. La coloration par le BA est donc abandonnée à l'issue de l'étude de faisabilité.

La safranine est une coloration très ancienne, permettant de colorer les protéoglycanes en rouge (Sheehan D. and Hrapchak B., 1980).

Cette coloration a été abandonnée pour les mêmes raisons que le BA.

c/ Différents critères d'évaluation macroscopique et histologique

α Évaluation macroscopique

L'évaluation macroscopique peut se faire de façon directe, *ante-* ou *post-mortem*, ou en utilisant l'arthroscopie (cf. : infra).

Depuis une quarantaine d'années, un nombre conséquent d'études visant à classifier les lésions d'arthrose d'une façon logique, accessible, reproductible et précise, peut être rapporté. Au départ, l'apparence de la surface du cartilage articulaire constituait un critère d'évaluation majeur. La taille et la profondeur de la lésion furent souvent pris en compte et utilisés pour grader l'importance de la lésion. La plupart de ces systèmes numériques d'évaluation possèdent une échelle de 0 ou 1 à 4, la valeur du score étant fonction de la sévérité ou l'étendue des lésions. (Insall J., *et al.*, 1976) (Bentley G. and Dowd G., 1984) (Noyes F.R. and Stabler C.L., 1989) (Giurea M., *et al.*, 1998).

Aux Etats-Unis, plusieurs classifications sont souvent retenues. Elles comportent plusieurs stades, le stade 0 étant celui du cartilage normal.

Celle d'Outerbridge (Outerbridge R.E., 1961), dont l'inconvénient principal est le mélange de la profondeur et de la surface :

- 0 : normal
- I : chondromalacie vraie (ramollissement ou gonflement du cartilage lié à l'œdème)
- II : fibrillation de la moitié de la surface
- III : fibrillation sévère de la surface et/ou perte de 50% de l'épaisseur du cartilage sans exposition de l'os sous-chondral
- IV : perte complète du cartilage et mise à nu de l'os sous-chondral.

Celle de Noyes (Noyes F.R. and Stabler C.L., 1989) :

- 1A et 1B : ramollissement du cartilage
- 2A : cloques, fêlures et érosion touchant moins de la moitié de l'épaisseur
- 2B : érosion plus profonde ou fêlure sans exposition de l'os sous-chondrale
- 3A : érosion exposant l'os
- 3B : érosion de l'os

Celle de Shahriaree (Hayes C.W., *et al.*, 1990) :

- I : ramollissement palpable
- II : formation de cloques avec surface du cartilage intacte
- III : ulcération, fibrillation du cartilage n'atteignant pas l'os sous-chondral
- IV : ulcération, fibrillation du cartilage avec exposition de l'os sous-chondral

En France, 2 classifications sont utilisées : la classification de Béguin et Locker, comportant 4 stades sans notion de surface (Béguin J. and Locker B., 1983). Le stade II concerne les chondropathies ouvertes superficielles, n'atteignant pas l'os sous-chondral. Elles deviennent profondes pour le stade III. La distinction entre stades II et III n'étant pas toujours facile, Dorfmann a regroupé les chondropathies ouvertes en un seul stade : le stade II, divisé en superficiel et profond (Dorfmann H., 1986).

D'autres auteurs ont développés des systèmes descriptifs, utilisant plus de critères simultanés, comme la taille, profondeur ou localisation d'une lésion, pour décrire ces lésions de façon plus précise. Ainsi, certaines de ces échelles descriptives sont très complexes et nécessitent beaucoup de temps et d'application pour les remplir (Bauer M.D. and Jackson R.W., 1988) (Dzioba R.B., 1988) (Koshino T. and Machida J., 1993) (Lewandrowsky K.U. and Ekkernamp A., 1996).

En France, le score de la Société Française d'Arthroscopie ou SFA (que nous avons repris et adapté pour effectuer les Evaluations Visuelles Analogiques ou EVA) est utilisé en routine en orthopédie humaine (Ayrat X., 1996). Il provient d'une étude multicentrique, pendant laquelle a été montrée la reproductibilité du score (Giurea M., *et al.*, 1998) (Dougados M., *et al.*, 1994a) (Dougados M., *et al.*, 1994b) (Ayrat X., *et al.*, 1994), après avoir été proposé pour la première fois en 1992 (Dougados M., *et al.*, 1992).

Cette étude impliquant divers centres orthopédiques français a été réalisée sur 450 genoux. Les résultats furent projetés sur une échelle linéaire de 0 à 100mm en utilisant une méthode d'analyse statistique multivariée, et le score fut baptisé du nom de la société qui initia le projet.

Ainsi, le score est compris entre 0 et 100 ; à chaque profondeur de lésion est associée une gamme de score, le pourcentage de la surface de la lésion par rapport à la surface articulaire totale venant pondérer la valeur du score (cf. : partie 2 II C/ 2. de la thèse). La profondeur est appréciée selon la classification de Béguin et Locker (Béguin J. and Locker B., 1983). Le score simplifié est calculé suivant la formule suivante :

Score simplifié = (% de surface des lésions de stade I x 0,14) + (% de surface des lésions de stade II x 0,34) + (% de surface des lésions de stade III x 0,65) + (% de surface des lésions de stade IV x 1,00)

Au départ développé pour une utilisation arthroscopique, une utilisation en observation *post-mortem*, comme nous l'avons fait, ne pose aucun problème.

Une étude à paraître montre la pertinence et la fiabilité de l'utilisation du score SFA pour quantifier les lésions du cartilage articulaire sur un modèle d'arthrose du genou de lapin (Cararo R.R., *et al.*, 2005), c'est pourquoi nous l'avons adapté à l'espèce canine.

L'utilisation de l'encre de Chine peut permettre de souligner des changements précoces du cartilage articulaire (Meachim G., 1972) (Ehrlich M.G., *et al.*, 1975).

β Évaluation microscopique

La difficulté lors de l'utilisation de l'histopathologie sur des études expérimentales ayant trait à l'arthrose, est l'absence d'un système d'évaluation reconnu universellement. De nombreux systèmes ont été développés et utilisés pour décrire les changements intervenant dans le cartilage articulaire arthrosique (Visco D.M., *et al.*, 1996) (Kammermann J.R., *et al.*, 1996) (Mankin H.J., *et al.*, 1971) et certains sont même semi-automatisés (Yoshioka M., *et al.*, 1996).

La grille d'évaluation des modifications du cartilage hyalin la plus largement adoptée est celle développée par Mankin *et al.*, connue sous le nom de "score de Mankin" (Mankin H.J., *et al.*, 1971). Néanmoins, le score de Mankin est décrit par certains auteurs comme reproductible (Vandersluijs J.A., *et al.*, 1992) et par d'autres comme inadéquat (Visco D.M., *et al.*, 1996) (Ostergaard K., *et al.*, 1997). De plus, l'utilisation de la safranine O, coloration utilisée par Mankin pour évaluer la perte de protéoglycanes, est remise en cause ; certains auteurs lui reprochent un manque de reproductibilité (Getzy L.L., *et al.*, 1982).

Par conséquent, le besoin d'une grille d'évaluation reproductible, standardisée et validée est toujours d'actualité et pourrait inclure l'évaluation de la surface et la profondeur des lésions de fibrillation du cartilage. Notre étude est une première étape dans ce sens.

Une autre grille d'évaluation de la dégénération du cartilage est celle développée par Colombo (Colombo C., *et al.*, 1983), qui est adaptée dans certaines études (Kikuchi T., *et al.*, 1996). Les principaux critères sont : des pertes de substance du cartilage, la présence d'ostéophytes, la perte de protéoglycanes colorés à la safranine, la désorganisation des chondrocytes et la formation de clones, la perte de chondrocytes...

Pour les animaux de petits gabarits, l'évaluation des lésions de fibrillation du cartilage est possible, à condition qu'aucune autre analyse ne soit prévue, par microscopie électronique (Bendele A.M., *et al.*, 1989). Les inconvénients de cette méthode sont le coût du matériel et la technicité requise pour l'appliquer, mais la précision de la technique et très importante.

Des grilles d'évaluation des modifications touchant la membrane synoviale ont également été mises au point. Les principaux critères en sont l'infiltration de cellules mononucléées, le dépôt d'hémosidérine, voire la présence de mastocytes résistants au formol (Visco D.M., *et al.*, 1996) (Myers S.L., *et al.*, 1992).

Dans notre étude, la majorité de l'évaluation histologique utilisée consiste en une histologie dite descriptive. Seule la mesure de l'épaisseur du cartilage articulaire des condyles du plateau tibial se rapporte à de l'histomorphométrie.

Cette technique se définit comme une méthodologie pour analyser de façon quantitative une longueur, la distance entre 2 points, une surface ou un nombre de composants histologiques ou cellulaires (Yuehuei H. A., 1999). Elle est très utile et fréquemment employée en expérimentation orthopédique.

Elle permet une évaluation plus objective que l'histologie descriptive, mais nécessite un matériel plus important, allant de la caméra couplée à un logiciel de mesure pour évaluer des distances en 2 dimensions, à des scanners, IRM, voire microscopes à laser confocal pour des reconstructions tridimensionnelles.

d/ Différents moyens d'évaluation des lésions articulaires et leurs intérêts comparés

α L'histologie

L'inconvénient de l'histologie est que celle-ci ne permet pas d'utiliser les pièces anatomiques (dont les cartilages articulaires) pour d'autres types d'évaluations, à moins de l'utiliser en dernier critère dans le temps imparti pour l'étude, comme nous l'avons fait. De plus, elle se réalise obligatoirement en ce qui concerne les animaux vivants sur des biopsies, qui sont des procédures invasives, ou en ce qui concerne l'expérimentation sur des pièces anatomiques d'animaux morts, ce qui peut poser des problèmes d'éthique, de coût et empêche tout suivi de l'évolution du processus arthrosique (Spriet M.P., *et al.*, 2005). La durée nécessaire aux différentes étapes de préparation des pièces pose des problèmes de prolongation d'études sur des temps longs. On peut également lui reprocher son manque de représentativité des phénomènes de déroulant dans une articulation, celle-ci ne tenant compte que d'une infime portion de cette-dernière. Ce défaut peut être néanmoins en partie corrigé par une sélection rigoureuse des sites où seront pratiquées les évaluations histologiques.

β L'évaluation macroscopique "visuelle"

L'évaluation macroscopique des pièces anatomiques assurée directement par l'observation de l'opérateur est assurément le moyen le plus simple, le plus rapide et le moins coûteux d'évaluation des lésions visibles des structures articulaires.

Elle peut s'accompagner d'un prélèvement de liquide synovial, de cartilage, de membrane synoviale ou bien encore de pièces osseuses, en vue d'analyses ultérieures.

Elle doit être complétée de photographies, permettant d'analyser ultérieurement les résultats ou d'en conserver une trace (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

γ L'arthroscopie

L'arthroscopie peut-être utilisée pour visualiser directement la surface de la plupart des structures articulaires du grasset (cartilage articulaire, ligaments croisés, ménisques, membrane synoviale). On peut par exemple, faire appel au score SFA (cf. : supra.) afin de quantifier et qualifier les lésions articulaires d'arthrose. Un examen tactile peut également être réalisé en sondant et/ou en appliquant une force de compression (permettant de détecter une chondromalacie, par exemple). Elle n'est plus utilisée en médecine humaine comme moyen diagnostique pur ; l'IRM et l'arthroscanner, non invasifs, l'ayant supplantée. Malheureusement, en médecine vétérinaire, l'arthroscopie du genou reste, avant tout, un moyen diagnostique d'actualité par manque de grands centres d'imagerie vétérinaire.

Une étude récente montre l'intérêt de l'arthroscopie sur l'évaluation des lésions cartilagineuses précoces lors d'arthrose induite par un modèle de ménisectomie sur des ovins. La sensibilité de l'arthroscopie avoisine 91-100%, la spécificité 62-88%, la précision 75-93%, les variations de valeurs intra-opérateurs sont faibles et la qualité des images n'influençait que peu la qualité de la précision et de la fiabilité des mesures (Oakley S.P., *et al.*, 2005).

Les différentes grilles d'évaluation arthroscopique sont décrites dans un article (Giurea M., *et al.*, 1998) et comparées dans un autre article de synthèse, mettant en évidence la multiplicité des méthodes d'évaluation de lésions arthrosiques cartilagineuses (52 systèmes différents dans 60 publications) et le peu de crédit à accorder à certaines d'entre elles. Ainsi, seules 6 publications entreprennent une étude de fiabilité, généralement basée sur des analyses statistiques erronées ; et 35 une étude de validité (faisant appel à la clinique , l'IRM, la radiographie ou d'autres systèmes de score arthroscopique) parmi lesquelles une seule étude montre une sensibilité du système utilisé (Oakley S.P. and Lassere M.N., 2003). Il s'agit, d'ailleurs, du score SFA utilisé dans notre étude (cf. : supra).

Un des inconvénients de l'arthroscopie est l'impossibilité de réaliser l'examen des structures articulaires profondes (comme l'os sous-chondral), de même que celui des épanchements articulaires et des structures extra-articulaires. Les paramètres quantitatifs, tels que l'épaisseur ou le volume du cartilage ne peuvent être appréciés. De même, actuellement, au vu de la taille des instruments, l'arthroscopie se limite à l'exploration d'animaux d'une certaine taille. Ainsi, la réalisation de l'arthroscopie dans notre étude a montré qu'avec un arthroscope de 2,7 mm chez des chiens pesant environ 10 kg, il est très difficile de réaliser une exploration complète du genou en raison de l'étroitesse du genou par rapport à l'arthroscope. Cela entraîne la création de nombreuses lésions iatrogènes. De plus, c'est une méthode invasive, ce qui n'est pas dénué de conséquences sur l'articulation, douloureuse et nécessitant une anesthésie et des soins ultérieurs. Une maîtrise technique est requis pour l'opérateur et cette méthode revient cher (coût du matériel et de son entretien ou réparation éventuelle) (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

δ La radiographie et l'arthrographie

La radiographie est probablement le moyen le plus simple et le plus accessible pour l'évaluation de l'arthrose. Les critères classiquement utilisés en radiographie pour objectiver la présence d'arthrose sont ceux de la "triade arthrosique" :

- le pincement de l'interligne articulaire (constant et précoce), dû au rapprochement des épiphyses osseuses autorisé par l'usure ou la disparition focale du cartilage articulaire, il n'est pas toujours facile à mettre en évidence chez les petits animaux (Lipowitz A.J., 1993) et la radiographie devrait s'effectuer sur l'animal portant une charge (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999), ce qui est impossible
- la sclérose de l'os sous-chondral (d'apparition plus tardive), apparaissant sous la forme d'une ostéocondensation de la plaque osseuse sous-chondrale, liée aux contraintes auquel l'os se trouve soumis et débutant aux zones de pincement de l'interligne articulaire
- l'ostéophytose, ou formation d'ostéophytes (d'apparition tardive, lors d'arthrose chronique), aux marges de l'articulation à la jonction chondrosynoviale, voire la présence de néoformations intraligamentaires ou tendineuses, les entésophytes (lors d'arthrose avancée), fréquemment visibles au pôle distal de la patella

Il existe également d'autres critères, non constants ou tardifs :

- la distension de la capsule articulaire (visualisation pas toujours possible, suivant les constantes radiologiques choisies) et son épaissement
- la présence d'un épanchement articulaire (rare chez le chien, sauf au niveau du genou)
- la présence d'éléments radio-opaques intra-articulaires, correspondant à des dépôts minéraux au sein du cartilage, des ménisques ou de la membrane synoviale, présent lors d'arthrose sévère
- la présence d'érosions ou de cavités (géodes) dans l'os sous-chondral, peu fréquents et rarement visibles chez les Carnivores Domestiques. C'est pourquoi la définition radiologique de l'arthrose chez l'Homme (Vignon E. and Arlot M., 1978), basée sur l'association des 3 critères de la "triade arthrosique" et sur celui de la présence de géodes ne peut-être appliquée aux Carnivores
- la déformation de l'os épiphysaire, résultant des microfractures et du tassement de l'os spongieux, lors d'arthroses anciennes
- la présence de lésions kystiques (rarement observées chez les Carnivores Domestiques, contrairement aux grands animaux), visibles sous la forme de zones radiotransparentes rondes, entourées d'un mince liseré de tissu sclérotique

(Altman R., *et al.*, 1986) (Altman R., *et al.*, 1991) (Blackburn W. D., *et al.*, 1996) (Fayolle P., 1997) (Vignon E., *et al.*, 1999).

Ainsi, des systèmes de gradation des articulations synoviales, faisant appel à des vues radiographiques bien précises, ont été utilisés pour décrire les changements des tissus mous et durs lors d'arthrose induite expérimentalement et d'apparition spontanée, dans la plupart des espèces (Widmer W.R., *et al.*, 1994).

L'arthrographie, quant à elle, permet de visualiser les contours des structures intra-articulaires : cartilage, membrane synoviale, ménisques (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999). Elle peut montrer des lésions cartilagineuses (aspect rugueux et irrégulier reflétant une fibrillation) voire un amincissement du cartilage, grâce à l'injection d'air ou de produit de contraste radio-opaque. Elle n'est pas plus informative que la radiographie en cas d'atteinte sévère avec un gros pincement. Par contre, elle permet, dans le compartiment le moins touché, d'apprécier l'état du cartilage, des ménisques et de visualiser les corps étrangers radio-transparents (Colette-Cedoz M.E., 1999). Ainsi, elle est performante dans le diagnostic des lésions méniscales, avec une sensibilité et spécificité supérieures à 90% (Dion E., *et al.*, 1991).

Les inconvénients sont un positionnement du malade parfois difficile, la nécessité, pour une étude fine et complète du grasset, de multiplier les incidences en faisant varier la position du patient et le caractère invasif et irradiant de la méthode (Thomas R.H., *et al.*, 1975).

Si le matériel radiographique est présent sur le site, les clichés reviennent peu chers, sont faciles à prendre et présentent l'autre avantage d'être non invasifs. Par contre, leur analyse peut présenter des difficultés et nécessite de l'entraînement et une standardisation rigoureuse (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

L'inconvénient des moyens utilisant les rayons X (radiographie, arthrographie, tomodensitométrie ou TDM) en plus de leur caractère ionisant est leur incapacité à détecter des lésions précoces du cartilage (Blackburn W. D., *et al.*, 1996). Ainsi, les ostéophytes que l'on peut détecter macroscopiquement vers 3 à 4 semaines après rupture du LCA ne le seront que vers 5 semaines par le biais de la radiographie (Drapé J. and Ghitalla S., 1992). Cette donnée doit être nuancée, car une étude expérimentale affirme la possibilité de détecter les ostéophytes à 2 semaines après rupture du LCA, en utilisant 5 incidences radiographiques différentes (Widmer W.R., *et al.*, 1994).

D'autre part, l'évaluation du cartilage n'est qu'indirecte car celui-ci est radiotransparent. Il n'a pas été prouvé que les mesures d'interligne reflètent vraiment l'épaisseur du cartilage (Lequesne M., *et al.*, 1994). D'où un problème de fiabilité de la radiographie. Au mieux, elle reflète l'épaisseur maximale des 2 couches attenantes de cartilage, mais lors d'épanchement articulaire, par exemple, l'épaisseur est surestimée. Or les épanchements sont fréquents lors d'arthrose. De plus, la mesure de l'interligne ne donne pas d'information sur la qualité du cartilage et la régularité de sa surface. L'arthrographie peut pallier à ceci, mais son caractère invasif constitue une limite au suivi des patients.

Un des inconvénients de la radiographie classique est le faible grossissement obtenu. Récemment, des radiographies microfocales ont été développées ; elles font appel à une source de rayons X plus petite, permettant un fort grossissement et donc une meilleure visualisation des espaces articulaires (Buckland-Wright J.C., 1994) (Buckland-Wright J.C., *et al.*, 1994). Leur association à une standardisation de la position de l'articulation et à un ordinateur de mesure des interlignes et des surfaces permet des mesures précises. Mais cela nécessite un appareillage de contention de l'articulation et l'équipement est cher et peu disponible.

En outre, l'importante distorsion radioclinique chez les Carnivores Domestiques et l'Homme implique que la gravité des signes cliniques n'est pas obligatoirement corrélée à l'importance des lésions radiologiques, bien que dans bon nombre de cas, l'évolution clinique soit à peu près parallèle à l'évolution radiographique (Fayolle P., 1997).

ε L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'IRM appliquée aux articulations est un outil reconnu pour le diagnostic de nombreuses pathologies (Ehman R., *et al.*, 1988) (Deutsch A.L. and Mink J.H., 1989). Elle a ainsi été utilisée pour décrire la progression de l'arthrose sur de nombreuses espèces, notamment le chien (Brandt K.D., *et al.*, 1991) (Widmer W.R., *et al.*, 1994) (Libicher M., *et al.*, 2005).

On peut ainsi visualiser des modifications précoces dès 6 semaines (œdème au niveau de la moelle osseuse et épanchement synovial) (Libicher M., *et al.*, 2005). L'IRM permet de mesurer l'épaisseur du cartilage, son volume et de visualiser l'ostéophytose, les anomalies sous-chondrale (Colette-Cedoz M.E., 1999).

Par rapport à la radiographie, l'arthrographie ou la TDM, l'IRM possède les avantages d'une image multiplan, d'un excellent contraste concernant les tissus mous, et d'une innocuité importante (pas d'émission de radiations ionisantes et technique non-invasive) (Mink J.H. and Deutsch A.L., 1989) (Peterfy C.G., *et al.*, 1994). La qualité du contraste différenciant les tissus mous permet ainsi de visualiser les structures intra- et extra-articulaires (structures ménisco-ligamentaires, liquide synovial, cartilage articulaire, membrane synoviale, os, muscles...). Son intérêt dans les pathologies ménisco-ligamentaires du genou est bien souligné dans une thèse récente (Gonzalez J.F., 1997). L'IRM est également plus sensible que la radiographie ou la TDM dans l'évaluation de l'étendue et de la sévérité des lésions cartilagineuses (Chan W.P., *et al.*, 1991). Elle donne une visualisation directe du cartilage dans tous les plans de l'espace, permettant une analyse qualitative et quantitative, contrairement à l'arthroscopie. Elle permet ainsi de détecter des lésions arthrosiques plus précocement.

La corrélation entre des signaux IRM d'intensités différentes et la localisation histologique correspondante est source de controverse, les résultats de nombreuses études s'opposant à ce sujet, mais ce-dernier ne sera pas abordé ici.

L'inconvénient de l'IRM est son coût plus élevé que l'arthroscopie au regard d'une qualité à peu près comparable du diagnostic final (Tyrell R.L., *et al.*, 1988) (Heron C.W. and Calvert P.T., 1992) (Mccauley T.R., *et al.*, 1992) (Ruwe P.A., *et al.*, 1992) (Broderick L.S., *et al.*, 1994) (Bredella M.A., *et al.*, 1999), bien que l'IRM soit, pour sa part, non-invasive et qu'elle permette une évaluation de la profondeur des lésions (Bredella M.A., *et al.*, 1999). Son coût et le temps nécessaire à sa réalisation sont également plus élevés que ceux des méthodes utilisant les rayons X, mais pour une qualité diagnostique bien meilleure. En médecine vétérinaire, nous ne disposons à l'heure actuelle que d'un centre d'imagerie possédant l'IRM (à Maisons-Alfort), soulevant ainsi le souci de la disponibilité de la technique.

Le problème majeur concernant l'IRM semble résider dans le choix de la séquence à utiliser, celle-ci déterminant ses performances diagnostiques (Raberin F., 1997); de nombreuses études ayant tenté de déterminer la séquence optimale (Colette-Cedoz M.E., 1999) (Bredella M.A., *et al.*, 1999). Selon Hayes, 3 critères conditionnent une évaluation précise du cartilage articulaire : une bonne résolution spatiale pour détecter des petites lésions, un bon contraste du sujet examiné et de l'image pour détecter des changements d'intensité du signal et une distinction fiable du cartilage par rapport aux structures environnantes pour évaluer ses contours et son épaisseur (Hayes C.W. and Conway W.F., 1992).

De plus, la taille des animaux examinés à l'IRM constitue un frein, ainsi que l'entraînement nécessaire pour interpréter l'IRM (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999). Il faut noter que l'IRM de petits animaux requiert des appareils à fort champ magnétique pour obtenir des bonnes résolutions (Watson P.J., *et al.*, 1996). L'utilisation sur des animaux porteurs de matériel d'ostéosynthèse métallique est à proscrire ; dans ces cas, on se tournera vers la TDM ou l'arthrographie.

ζ L'arthroscanner

L'arthroscanner, quant à lui, fait appel à la tomodensitométrie (TDM) appliquée aux articulations. Il est particulièrement performant dans le diagnostic des chondropathies, grâce à des coupes fines (Pelousse F. and Olette J., 1993) et peut être proposé dans la détection des lésions cartilagineuses sévères, puisque les performances de l'IRM dans ce domaine sont variables et dépendantes des séquences utilisées (Raberin F., 1997). L'arthroscanner est performant dans le diagnostic des lésions méniscales traumatiques et des ruptures chroniques de LCA. Par contre, il ne permettrait pas de diagnostiquer les lésions dégénératives des ménisques (Gagliardi S., *et al.*, 1995). D'autres auteurs soulignent, au contraire, que la TDM ne présente pas l'inconvénient de l'IRM dans le cas de dénégérescence méniscale (Raberin F., 1997).

Quoi qu'il en soit, la sensibilité et la spécificité de la TDM semblent être correctes et comparables à celles de l'arthrographie concernant les lésions méniscales, avec en outre l'avantage pour la TDM de l'absence de superposition des récessus synoviaux et kystes poplités (retrouvée sur les clichés d'arthrographie) et de la possibilité d'effectuer un examen des lésions cartilagineuses et osseuses associées (Raberin F., 1997).

L'arthroscanner reste la technique de choix pour la recherche de corps étrangers intra-articulaires (Sartoris D.J., *et al.*, 1985) (Brossmann J., *et al.*, 1996).

Actuellement, chez l'Homme, l'arthroscanner est relégué au second plan par l'IRM, tout comme l'arthrographie, devant l'innocuité de l'IRM. En effet, la TDM présente un caractère invasif (injections intra-articulaires de produit de contraste iodé) et ionisant. Néanmoins, les complications sévères de l'injection intra-articulaire sont exceptionnelles en terme de fréquence. Ainsi, chez l'Homme, Newsberg rapporte 5 cas d'allergie sévère, 4 cas de complication infectieuse et 150 cas de synovite chimique entraînant une douleur, sur un total de 126 000 patients examinés (Newsberg A.H., *et al.*, 1985).

η L'échographie

L'échographie permet ainsi la visualisation des structures articulaires profondes, de façon non-invasive. Aussi, la structure échographique normale du grasset du chien a été décrite il y a plus d'une décennie (Brandt K.D., 1994).

Ces dernières années, le développement technologique de l'imagerie médicale par échographie a permis d'obtenir des transducteurs de très haute fréquence. Récemment, un transducteur de 100 MHz, autorisant une résolution de 17,5 µm a été mis au point. Des systèmes à haute fréquence d'ultrasons de 40 et 60 MHz ont été mis en pratique en ophtalmologie et dermatologie, notamment et plus récemment dans l'imagerie du cartilage articulaire.

En outre, une étude de 1997 a montré l'intérêt de l'échographie (sonde de 50 MHz) dans la détection de modification précoce de la MEC du cartilage et de l'os sous-chondral, avec des premières modifications observées 3 jours après induction de l'arthrose selon un modèle chimique, donc rapide. Une résolution excellente permet d'observer des fissures inférieures à 50 µm, un système de reconstruction 3D permettant une visualisation plus complète du cartilage (Saïed A., *et al.*, 1997).

Une autre étude, datant de 2005, a permis de valider leur intérêt dans la détection des lésions d'arthrose (Spriet M.P., *et al.*, 2005). Un microscope à rétrodiffusion associé à un transducteur de 40 MHz a été utilisé pour objectiver les lésions d'arthrose du grasset sur un modèle expérimental d'arthrose obtenu par section du ligament croisé crânial de lapin. Les mesures ont été effectuées 2 mois après la chirurgie et comparées avec une évaluation macroscopique de la fibrillation/ulcération du cartilage articulaire, cette dernière étant objectivée par une évaluation histologique.

Les résultats montrent une sensibilité/spécificité supérieure ou égale de l'échographie par rapport à l'évaluation macroscopique en ce qui concerne la détection de la fibrillation/ulcération du cartilage et la possibilité pour l'échographie de détecter des irrégularités de ce cartilage.

Ainsi, cet outil très récent, qui mériterait des études plus poussées semblent être intéressant dans l'évaluation des lésions arthrosiques, tant en surface qu'en profondeur du cartilage articulaire. Une association avec d'autres systèmes classiques d'évaluation pourrait permettre une évaluation précoce et un suivi de l'évolution de l'arthrose.

Les inconvénients de l'échographie concernent la haute technicité nécessaire concernant l'opérateur, ainsi que les coûts importants des sondes de très haute fréquence (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

θ L'arthrocentèse

Lors d'arthrose, le liquide synovial présente des modifications physico-chimiques et cellulaires, permettant de différencier l'arthrose des autres arthropathies (arthrite immune ou septique) (Werner L.L., 1979). Ainsi, lors d'arthrose, l'augmentation du taux de cellules et de celui de polynucléaires neutrophiles, ainsi que l'augmentation du taux de protéines restent modérées, alors qu'elle est très augmentée lors d'autres arthropathies.

Les modifications du liquide synovial sont reportées dans le tableau 1 et décrites dans le paragraphe III. C/ 3 de la partie 1.

Il convient, néanmoins de se méfier de la valeur diagnostique de l'analyse du liquide synovial, car des études montrent que 80% des chiens avec des ruptures de LCA présentent des synovies dont les caractéristiques physico-chimiques et cellulaires se situent dans les normes communément admises (Griffin D.W. and Vasseur P.B., 1992).

ι Marqueurs sanguins, urinaires et articulaires de l'arthrose

Des recherches ont été effectuées pour mettre en évidence des marqueurs précoces de l'arthrose pouvant être utilisés en routine (Thonar E.J.M.A., *et al.*, 1993) (Thonar E.J.M.A., *et al.*, 1995) (Innes J.F., *et al.*, 1999) (Loneux P. and Balligand M., 1999b). Des évaluations utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des marqueurs candidats à ce titre ont été réalisées (Lohmander L.S., *et al.*, 1995).

Le sérum, l'urine et le liquide synovial peuvent subir une évaluation biochimique de leur contenu en produits de dégradation du cartilage (le kératane-sulfate, par exemple) (Thonar E.J.M.A., *et al.*, 1995) et/ou cytokines (Il-1, TNF, par exemples), ou enzymes (MMP), ou composés natifs ou bien encore métabolites (Saxne T. and Heinegard D., 1995).

Ainsi, une étude sur des chiens ayant subi une rupture du LCA montre que l'augmentation du taux sérique de kératane-sulfate précède le développement d'altérations cliniquement mesurables et permet un diagnostic précoce, plus tôt que la radiologie. Ce taux augmente 1 à 3 semaines après la rupture de LCA et reste élevé (Thonar E.J.M.A. and Manicourt D.H., 1994). Cette étude fait suite à une étude équivalente sur des lapins (Williams J.M., *et al.*, 1988).

Une expérimentation montre l'utilité de l'association du dosage sérique du propeptide-N du procollagène de type IIA (PIIANP), et du dosage urinaire du télépeptide C-terminal du collagène de type II (CTX-II), respectivement marqueurs de synthèse et de dégradation de collagène de type II, dans la détection de l'arthrose. Ces dosages semblent particulièrement intéressants dans le cas de patients avec des risques importants de progression rapide de l'arthrose (Garnero P., *et al.*, 2002).

Deux populations de patients arthrosiques (hauts et bas producteurs) ont été isolées en fonction du taux de production d'Interleukine (Il-6) et de Prostaglandine E₂ (PGE₂) par les ostéoblastes. Il a également été montré que le taux d'Il-1 était identique quel que soit le degré d'arthrose, et que le taux de Transforming Growth Factor β (TGF- β) était augmenté chez tous les patients arthrosiques (Massicotte F., *et al.*, 2002).

Il semblerait que l'utilité des cytokines cataboliques en tant que marqueurs de l'activité arthrosique soit limitée, puisqu'il faut surveiller un grand éventail de molécules et de leurs inhibiteurs en même temps. En revanche, les métabolites produits par les cellules osseuses, cartilagineuses et synoviales sont de bons marqueurs de cette activité et peuvent fournir une information pronostique (Westacott C.I. and Sharif M., 1996).

κ Techniques de biologie moléculaire et immunohistochimie

L'hybridation *in situ* présente l'intérêt d'offrir une immunolocalisation, la réponse cellulaire dans différentes zones du cartilage pouvant être déterminées et même quantifiée (Lefkoe T.P., *et al.*, 1997).

Le principe de l'immunohistochimie est rappelé dans le paragraphe II. D/ 1. g/ de la partie 2. L'avantage principal de l'hybridation *in situ* par rapport à cette dernière technique est l'évaluation de la réponse cellulaire à court-terme, puisque l'on peut chercher les messages d'Acide RiboNucléique (ARN). En revanche, il convient d'être prudent, puisque tous les fragments d'ARNm ne sont pas transcrits en protéines. Les messages ARN en faible quantité peuvent être amplifiés en utilisant le RT-PCR *in situ* (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

L'extraction et la purification de l'ARNm du cartilage et d'autres tissus nécessite des précautions particulières pour libérer l'ARNm de ces tissus de relative acellularité et enlever les protéoglycanes contaminants le prélèvement. Elles peuvent s'effectuer sur des faibles quantités de tissu (10 mg) (Adams M.E., *et al.*, 1992) (Reno C., *et al.*, 1997). En revanche, chez les petits animaux, même sur des quantités aussi infimes de tissus, les échantillons sont mélangés, contenant des tissus intéressants et d'autres inutiles.

Une étude récente montre que la RT-PCR appliquée à la détermination du ratio collagène type II/agrécanes, en terme de nombre de copies d'ARN permet de situer le stade précoce d'évaluation de l'arthrose (Matyas J.R., *et al.*, 2002).

λ Scintigraphie

La scintigraphie, utilisant des radio-éléments à affinité osseuse, fournit de bonnes informations physiologiques et des informations anatomiques plus limitées sur le turn-over osseux et les modifications précoces des tissus mous lors d'arthrose. L'évaluation scintigraphique en phase osseuse (quelques heures après injection) détecte de façon sensible l'initiation de l'ostéophytose et du remodelage de l'os sous-chondral. L'évaluation scintigraphique en phase de tissus mous (quelques minutes après injection) détecte les changements inflammatoires liés à la synovite (Canapp S.O. Jr., *et al.*, 1999). Cette technique semble ainsi fournir de nombreuses informations, notamment pour les chiens chez lesquels l'affection est bénigne (Macphail C.M., 2000). Mais la fixation du marqueur, bien que très sensible, manque de spécificité (Engel A., 1990) (Canapp S.O. Jr., *et al.*, 1999).

Ainsi, une étude expérimentale sur un modèle d'arthrose du grasset de lapin montre une augmentation du radio-élément ^{99m}Tc méthylène diphosphate (se fixant dans les zones riches en phosphatases alcalines donc zones d'ostéogénèse) dans la zone d'ostéophytose, une semaine après déstabilisation du genou. Cela permet une détection plus précoce qu'avec la radiographie. Une capture de ce même élément est présente plus tard, au niveau des sites de l'os sous-chondral en regard des lésions cartilagineuses (Christensen S.B., 1983).

L'utilisation de technetium ^{99m} permet de détecter l'arthrose précocement (Egund N., *et al.*, 1988), de même que l'utilisation de macrophages marqués permet de détecter des synovites très précocement sur des modèles d'arthrose chez le lapin (Goupille P., *et al.*, 1997).

μ Analyse de la marche

L'analyse de la marche, utilisant un plateau de force avec indicateur de contrainte, est une technique applicable à des animaux de tailles très différentes (de la souris au cheval). La description des forces appliquées au pied au moment du contact avec le sol et de leurs moments peut être utilisée comme un indicateur de l'utilisation du membre sous différentes conditions. L'analyse de la marche a ainsi été utilisée à la fois pour décrire la marche normale du chien (Rumph P.F., *et al.*, 1994) et la marche lors d'arthrite aiguë ou chronique (Brandt K.D., *et al.*, 1991) (O'connor B.L., *et al.*, 1989) (Rumph P.F., *et al.*, 1995).

Le coût de l'équipement de base est élevé (aux alentours de 30000 \$), comprenant un ordinateur, un plateau de force et le programme d'analyse. En revanche, le coût journalier d'utilisation est très réduit (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999).

v **Analyse cinématique de la marche**

La cinématique, science étudiant les mouvements des membres, a été utilisée pour étudier la démarche normale du chien et les changements induits par une rupture du LCA, ou une dénervation massive du membre postérieur (Korvick D.L., *et al.*, 1994) (Vilensky J.A., *et al.*, 1997).

Dans l'étude de Korvick sur 5 chiens sains et 5 avec rupture de LCA, la rupture de LCA altère tout le cycle de la démarche, entraînant une sub-luxation crâniale du tibia à l'appui, compensée de façon imparfaite par le chien. La cinématique, méthode très reproductible, lui permet de penser que c'est cette sub-luxation dynamique et répétitive qui est à l'origine des phénomènes dégénératifs (Korvick D.L., *et al.*, 1994).

Les modifications des paramètres cinématiques après rupture du LCA semblent ainsi toucher d'autres articulations du membre opéré que le grasset, les articulations du membre controlatéral ainsi que les mouvements verticaux de la croupe (Vilensky J.A., *et al.*, 1994).

Son utilisation semble prometteuse et riche en informations, notamment pour les chiens chez lesquels l'affection est bénigne (Macphail C.M., 2000).

ξ **Propriétés biomécaniques**

Les composants et la structure du cartilage articulaire et de l'os sous-chondral déterminent leurs propriétés mécaniques et peuvent être modifiés par des facteurs intrinsèques (effets de l'âge, par exemple) et/ou extrinsèques (instabilité articulaire, par exemple).

Les propriétés mécaniques peuvent fournir des données importantes sur le processus arthrosique, en particulier des données plus précoces que les modifications histologiques (Oegema T. R. Jr. and Visco D., 1999). Les mesures très particulières de biomécaniques permettent de séparer les propriétés mécaniques intrinsèques du cartilage de celles des structures environnantes et plusieurs études se sont intéressées aux propriétés mécaniques du cartilage lors de rupture du LCA (Setton L.A., *et al.*, 1994) (Sah R.L., *et al.*, 1997) (Setton L.A., *et al.*, 1997).

Les propriétés physiques du liquide synovial peuvent être intéressantes dans l'évaluation de la progression de l'arthrose. Ainsi, une étude s'est intéressée à l'intérêt de la viscosité du liquide synovial (dépendant de la concentration d'acide hyaluronique) comme indicateur de la maladie et comme paramètre corrélé à des paramètres cliniques de douleur et fonctionnalité articulaire. Elle a étudié une population de chiens avec rupture de LCA et d'humains arthrosiques. Concernant les chiens, il a été montré que la viscosité est décroissante pour les éléments suivants : articulations saines, puis celles avec une pathologie chronique et enfin celles avec une pathologie aiguë (effet de dilution causé par l'épanchement lié à l'inflammation). Concernant les humains, la viscosité est significativement corrélée à des paramètres cliniques et des échelles de douleur. La viscosité donc représenter un marqueur intéressant lors d'arthrose, étant le seul indiquant la condition mécanique (lubrification, protection du cartilage) de l'articulation à un moment donné (Conrad B.P., *et al.*, 2003). Les résultats sont en accord avec une précédente étude (Safari M., *et al.*, 1990).

2. Résultats

Cette partie a pour but de comparer les résultats obtenus dans notre étude, 90 jours après rupture du LCA, avec d'autres études similaires.

a/ Lésions cartilagineuses et ostéophytiques

Chez l'Homme, lors de rupture du LCA, les lésions du cartilage deviennent très profondes (ulcération, voire éburnation). Au contraire, l'éburnation, stade terminal des lésions du cartilage articulaire, est rarement observée chez le chien lors de rupture du LCA. On observe, en général, une lésion maximale de fibrillation. Ceci s'explique car l'éburnation prend 3 à 4 années à apparaître (Brandt K.D., *et al.*, 1991) (Brandt K.D., 1994), ce qui est rarement un délai compatible avec l'expérimentation, n'excédant en général pas 1 an. Nos résultats de lésions cartilagineuses, relativement superficielles à 90 jours, sont en accord avec cette observation. L'absence de lésions de chondromalacie s'explique car nous nous situons à 90 jours dans un stade plus avancé que celui de chondromalacie. En effet, après une rupture de LCA, seulement 3 à 4 semaines sont nécessaires à l'apparition d'anomalies macroscopiques se traduisant par un aspect dépoli et une augmentation du contenu en eau de la MEC, rendant le cartilage mou au toucher (cf. : paragraphe II. B/ 1.) (Drapé J. and Ghitalla S., 1992).

Au bout de 15 à 45 jours après rupture de LCA chez le chien, on peut déceler une érosion superficielle. Certains observent que ces lésions se localisent préférentiellement au niveau du plateau tibial médial, près de l'épine tibiale (en dehors de la zone recouverte par le ménisque médial), puis évoluent en 6 à 8 mois vers une fissuration profonde de cette zone, alors que les autres zones cartilagineuses du grasset sont normales à légèrement fissurées (Mcdevitt C.A. and Muir H., 1976b) (Mcdevitt C.A., *et al.*, 1977) (Broche R., 1981). D'autres considèrent qu'aucune zone particulière n'est prédisposée à ces lésions et que les lésions les plus sévères se localisent à 4 mois sur les condyles fémoraux (Schwartz E.R., 1980). Cette différence est peut-être liée à la technique opératoire, par arthrotomie -donc plus précise- dans le deuxième cas, ou peut-être pas, puisque notre étude montre que les lésions les plus importantes sont également localisées au niveau de plateau tibial médial, bien que l'intervention ait également été réalisée avec une arthrotomie.

Une étude similaire à la notre (Broche R., 1981) montre que le cartilage fémoro-patellaire reste relativement préservé jusqu'à 8 mois après l'intervention, celui du plateau tibial est érodé superficiellement surtout en partie médiale, avec des lésions bien plus importantes à 7-8 mois. Tout cela concorde avec nos résultats. En revanche, dans cette même étude, les condyles fémoraux érodés superficiellement sont surtout les médiaux, avec des lésions bien plus importantes à 7-8 mois, ce qui ne concorde pas avec nos résultats (lésions des condyles latéraux essentiellement). La méthode de rupture du LCA fait pourtant appel, dans les 2 cas, à une arthrotomie médiale.

Une étude faisant appel à une rupture à l'aveugle du LCA de chiens montre des lésions d'érosion superficielle débutant à une semaine sur les plateaux tibiaux et évoluant par une fibrillation totale en terme de surface touchée vers 16 semaines (Lipowitz A.J., *et al.*, 1985). Le progression plus rapide de l'arthrose est probablement liée, là encore, à la technique opératoire plus invasive que dans notre étude.

Dans une étude, 3 ans après section expérimentale du LCA, on observe même une augmentation de l'épaisseur et de la densité du cartilage (Adams M.E. and Brandt K.D., 1991). Suit-elle ou précède-t-elle la destruction du cartilage et quels en sont les mécanismes ?

Dans le modèle de méniscectomie partielle de Colombo (Colombo C., *et al.*, 1983), 3 mois après l'opération, les observations macroscopiques sont les suivantes : concernant les condyles médial et latéral du tibia une dégradation étendue du cartilage articulaire et concernant les surfaces articulaires fémorales une ulcération, la présence d'ostéophytes et d'exposition de l'os sous-chondral. Les observations microscopiques révèlent des fissures et érosions au niveau des articulations tibiale et fémorale, une éburnation avec mise à nu de l'os sous-chondral sur 2 lapins sur 3, une formation de clones importante, de gros ostéophytes et une perte massive de protéoglycanes. Cela confirme la rapidité de progression de l'arthrose sur ces modèles de méniscectomie, par rapport au modèle de rupture du LCA, puisque ces lésions sont bien plus sévères et/ou étendues que celles observées dans notre étude.

Une étude sur le développement et la régulation de la formation d'ostéophytes lors d'arthrose expérimentale induite par une rupture de LCA sur des lapins montre qu'à 90 jours après la chirurgie, des ostéophytes sont présents dans 100% des condyles du fémur et du plateau tibial (Hashimoto S., *et al.*, 2002). Cela est en accord avec nos observations. De même, il est admis que les ostéophytes apparaissent environ 3 semaines après rupture du LCA chez le chien et principalement sur la trochlée, en accord avec les résultats de score ostéophytique les plus élevés sur les trochlées de nos beagles (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993).

L'analyse histologique des trochlées fémorales dans l'étude de Broche montre des lésions correspondantes aux lésions maximales de notre grille d'évaluation au bout de 6 mois (Broche R., 1981). Celle des condyles fémoraux montre des lésions d'hypertrophie chondrocytaire à partir de 3 mois, les lésions du cartilage débutant vers 7 mois, le tout uniquement sur le condyle médial. La durée plus faible de notre étude ne nous permet pas d'observer des phénomènes aussi évolués ; néanmoins, les lésions histologiques observées concernent également le condyle médial.

D'autre part, l'analyse histologique des trochlées fémorales en regard des ostéophytes, dans notre étude, montre que le tissu de recouvrement superficiel est de nature fibreuse, à cellularité modérée et que la poussée osseuse depuis la profondeur ne concerne pas toute la largeur de l'ostéophyte. Il aurait été intéressant d'ajouter aux colorations classiques employées dans notre étude sur les trochlées fémorales, une immunohistochimie des collagènes I, II et III, comme cela a été fait sur les condyles tibiaux médiaux. En effet, une expérimentation récente a permis de définir 4 stades de formation des ostéophytes, par l'association de critères histomorphologiques, histochimiques, immunohistochimiques et d'hybridation *in situ* (Gelse K., *et al.*, 2003). Nos résultats histologiques placent, à priori, les ostéophytes observés sur les beagles à 3 mois dans un stade I, l'immunohistochimie aurait permis de vérifier ce classement, voire de préciser l'étude citée ci-dessus.

b/ Lésions de la membrane synoviale

L'évaluation de l'infiltration de cellules inflammatoires n'est pas effectuée car, selon nos observations microscopiques, à 90 jours après intervention chirurgicale, on se trouve dans un phénomène de chronicité expliquant l'absence de cellules inflammatoires présentes dans des stades inflammatoires plus précoces, la synovite apparaissant environ 15 jours après rupture du LCA (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993). Une étude similaire à la notre (rupture chirurgicale de LCA à l'aveugle) montre que les lésions synoviales sont maximales 8 semaines après rupture de LCA, avec des lésions d'hypervascularisation, hypertrophie des synoviocytes et hyperplasie villositaire (maximale à l'écart des sites d'arthrotomie) (Lipowitz A.J., *et al.*, 1985). Ceci concorde avec nos observations (augmentation du rapport mésothélium/fibres sur les genoux opérés). En revanche, dans cette étude, les infiltrats de cellules mononuclées (plasmocytes et lymphocytes) apparaissent au bout d'une semaine et sont encore présents à 8 et 13 semaines. Cela n'est pas le cas pour nous. Peut-être est-ce lié à la technique opératoire, plus fine et donc moins invasive dans notre étude ?

c/ Lésions méniscales

Selon la littérature, dans 10 à 76% des lésions du LCA rapportées, des lésions méniscales associées sont rapportées (Drapé J. and Ghitalla S., 1993), apparaissant vers 7 semaines après rupture du LCA (Johnson J.M. and Johnson A.L., 1993).

De plus, dans 50 à 55 % des lésions du LCA rapportées, des déchirures méniscales médiales associées ont été décrites (Flo G.L. and Deyoung D., 1978) (Dupuis J. and Harari J., 1993) (Flo G.L., 1993).

Dans notre étude, seuls 5 chiens présentaient des ménisques lésés (23,8%), soit la moitié des chiffres publiés habituellement. En revanche, seuls les ménisques médiaux étaient touchés, en accord avec les études portant sur le sujet.

Ceci est probablement à mettre en relation avec la nature de la rupture du LCA, qui est volontaire, provoquée et totale dans notre étude alors qu'elle est spontanée et totale ou partielle dans les études rétrospectives citées.

Or parmi les ruptures spontanées, on distingue, d'un point de vue descriptif, les ruptures partielles et totales et, d'un point de vue étiologique, les ruptures traumatiques (traumatisme direct ou fonctionnel) des ruptures secondaires (à une fragilisation des structures articulaires ou à une dégénérescence de celles-ci) (Ghitalla S., 1990).

Chez l'homme, les ruptures de LCA semblent en majorité apparaître suite à des causes purement traumatiques (Akeson W.H., *et al.*, 1985).

Chez le chien, au contraire, les ruptures de LCA semblent moins souvent causées uniquement par des traumatismes et sont le fait, bien souvent, de processus dégénératifs progressifs et irréversibles touchant le ligament (Arnoczky S.P. and Marshall J.L., 1981) (Arnoczky S.P., 1984) (Chaudieu G. and Fonck Y., 1984) (Vasseur P.B., *et al.*, 1985) (Drapé J., *et al.*, 1990b). Aussi, le concept de maladie ligamentaire du LCA, s'appuyant sur le fait que les ruptures diagnostiquées sont bien souvent partielles, a été proposé (Bennett D., *et al.*, 1988). Cette pathologie semble toucher des chiens d'âge moyen à avancé et semble associée fréquemment avec des lésions méniscales.

C'est pourquoi, en utilisant des jeunes chiens dans notre étude et en effectuant une section ligamentaire, on élimine la part des lésions méniscales (associées aux ruptures de LCA) qui sont liées à ce processus dégénératif. Le faible poids et l'activité physique réduite des chiens explique, en plus de l'âge des animaux, les taux de lésions méniscales inférieurs aux études rétrospectives.

d/ Résultats d'immunohistochimie

L'IHC réalisée dans notre étude ne montre pas de modifications majeures du type de collagène dans le cartilage (type II) et l'os (type I), indiquant que les remaniements biochimiques des fibres de collagène liés à l'arthrose ne sont pas encore effectués à 90 jours. Seules sont observées de petites concentrations péri-cellulaires de marqueurs de collagène de type III dans les zones superficielles et intermédiaires du cartilage (activité de synthèse de tissu conjonctif indifférencié par les chondrocytes), marquant le début des remaniements biochimiques des fibres de collagène liés à l'arthrose. La seule réponse de l'IHC collagène de type III est cohérente avec la littérature, puisque les chondrocytes des zones superficielle et intermédiaire du cartilage peuvent synthétiser du collagène type III. Ainsi, des études sur ces synthèses de collagène, par hybridation *in situ* et immuno-marquages, montre que le cartilage normal ne présente pas de traces d'expression de collagène I, II ou III. En revanche, le cartilage arthrosique présente une expression de collagène de type III dans les zones superficielle et intermédiaire et de type II en zones intermédiaire et profonde (Aigner T., *et al.*, 1992) (Aigner T., *et al.*, 1993a) (Pullig O., *et al.*, 1999), bien que l'IHC de type II montre une diminution de sa coloration en zone profonde (Pullig O., *et al.*, 1999).

Or, la réparation des lésions complètes du cartilage lors d'arthrose suit la séquence suivante : fibrine, tissu de granulation, tissu conjonctif, chondrocyte dans le conjonctif, fibrocartilage, puis cartilage hyalin (Shands A.R. Jr., 1931) (Depalma A.F., *et al.*, 1966). Les chondrocytes synthétisent donc du collagène de type I (tissu conjonctif) en plus de celui de type III lors d'une évolution vers un type morphologique de fibroblaste. Pourquoi ne trouve-t-on qu'une synthèse de collagène de type III dans notre étude ? Les synthèses des collagènes I et III seraient-elles décalées dans le temps ? Il semblerait effectivement que la synthèse de collagène type I augmente progressivement avec l'évolution du processus arthrosique (Miosge N., *et al.*, 2004). Elle est le fait de chondrocytes particuliers, d'allure fibroblastique (Tesche F. and Miosge N., 2005) et serait massive lors de la présence de fibrocartilage, formé lors de lésions touchant l'os sous-chondral, c'est-à-dire lors des stades terminaux d'arthrose (Goldwasser M., *et al.*, 1982) (Grynepas M.D., *et al.*, 1994) (Miosge N., *et al.*, 1998). A 90 jours, la synthèse de collagène type I n'était donc pas démarrée dans notre étude.

CONCLUSION

Cette étude a été menée dans le but de décrire et de quantifier les lésions macroscopiques et histologiques d'arthrose rencontrées lors de l'utilisation d'un modèle d'arthrose par rupture chirurgicale du ligament croisé antérieur du genou.

Cette action participe ainsi à la compréhension de l'évolution de l'arthrose et donc, probablement, à celle des moyens de la traiter.

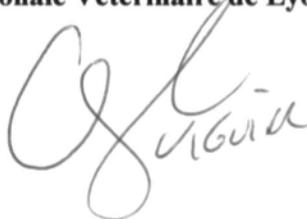
Notre travail s'est également inscrit dans une étude plus large, nécessitant un travail soutenu et pour laquelle un calendrier prévisionnel très précis a dû être respecté. Cette étude a permis la validation d'un tapis de marche et de son logiciel d'analyse biomécanique de la marche, ainsi que la réalisation d'arthroscopies.

Bien qu'ayant utilisé des éléments d'évaluation déjà décrits (le score EVA, par exemple), cette étude nous a néanmoins conduit à établir des critères d'évaluation inédits (la partie d'analyse histologique). Cela explique, en plus de la quantité de matériel biologique à traiter, sa durée relativement longue.

Les résultats obtenus semblent cohérents avec ceux d'autres études similaires, bien que la méthodologie ou bien encore le délai de 3 mois après le début de l'étude ne puissent pas permettre de comparer de façon parfaite notre étude avec d'autres.

Enfin, cette étude expérimentale a permis, d'une part, d'effectuer une revue des différents moyens disponibles pour l'évaluation des lésions articulaires et, d'autre part, de définir des bases de méthodologie et un atlas de lésions d'arthrose que pourront emprunter d'autres études dans sa continuité, par exemple pour objectiver l'efficacité de médicaments à visée anti-arthrosique (anti-inflammatoires, chondroprotecteurs...)

**Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**



Le Président de la thèse



Vu et permis d'imprimer

21 SEP. 2005

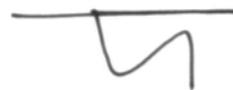
Lyon, le

**Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur D. VITAL-DURAND**



**Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**

**Pour le Directeur empêché,
Le Directeur - Assesseur**



Professeur Gilles BOURDOISEAU

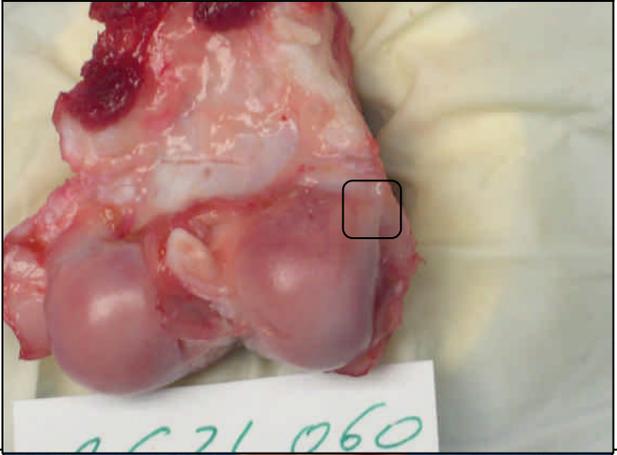
ANNEXES

Numéro d'expérimentation	2czi066	2dce757	2czi092	2czi757	2dce837	2czi060	2czi161	2czi098	2czi083	2czi116	2czi057	2dce732	2dce759	2dce739	2dce792	2dce840	2dce797	2dce799	2czi504	2czi095	2czi016
Premier examen clinique	05-mai 9,8	07-mai 11,8	05-mai 10	07-mai 10,2	07-mai 12,2	04-mai 11,4	04-mai 12,8	07-mai 11,2	04-mai 10	04-mai 10	07-mai 8,6	05-mai 10	04-mai 12	04-mai 9,8	07-mai 9	05-mai 10	05-mai 9,8	05-mai 12	04-mai 11,2	07-mai 10	05-mai 9,6
Poids																					
Score orthopédique	3	2	2	3	2	4	4	3	2	3	4	2	2	3	2	3	3	2	2	2	3
Boiterie																					
Appui	2	1	0	1	1	2	2	1	1	1	3	1	1	1	0	2	2	0	0	1	2
Douleur	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Mobilité articulaire	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Somme score ortho.	5	3	2	4	3	6	8	4	4	4	9	3	3	4	2	5	5	2	3	4	5
Remarques																					
Tiroir	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Clic méniscal	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0
Pièie anormale	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Somme remarques	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	3	1	2	1
Somme totale	7	5	3	5	4	7	10	6	6	5	11	4	4	5	4	7	7	5	4	6	6
Deuxième examen clinique	12-mai 10,2	12-mai 11,8	11-mai 10	12-mai 10,4	11-mai 12,6	11-mai 12	11-mai 13,2	11-mai 11,6	11-mai 10	11-mai 10,4	12-mai 8,6	12-mai 10,6	11-mai 11,8	12-mai 10	11-mai 9	12-mai 10,4	12-mai 10,4	12-mai 11,8	12-mai 11	12-mai 10,6	12-mai 9,8
Poids																					
Score orthopédique	3	2	2	3	2	3	3	2	2	2	3	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2
Boiterie																					
Appui	1	1	1	1	0	2	2	1	2	2	2	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1
Douleur	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Mobilité articulaire	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Somme score ortho.	4	3	4	4	2	5	5	4	2	4	5	3	4	6	3	6	3	3	3	3	3
Remarques																					
Tiroir	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Clic méniscal	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
Gros genou	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pièie anormale	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Somme remarques	2	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2	3	3
Somme totale	6	5	7	6	5	8	8	7	5	6	7	5	6	8	5	9	5	6	5	6	6

Annexe 1 : tableau de résultats des 1^{ers} et 2^e examens orthopédiques

Número d'expérimentation	2czi066 12-juil	2dce757 12-juil	2czi092 12-juil	2cui757 12-juil	2dce837 12-juil	2czi060 12-juil	2czi161 12-juil	2czi098 12-juil	2czi083 12-juil	2dju116 12-juil	2czi057 12-juil	2dce732 12-juil	2dce759 12-juil	2dce739 12-juil	2dce792 12-juil	2dce840 12-juil	2dce797 12-juil	2dce799 12-juil	2dft504 12-juil	2czi095 12-juil	2czi016 12-juil	
Septième examen clinique	11,2	13,2	11,4	12,6	13,8	13,2	14,6	11,8	11	11	9,2	12,4	13	13	9,4	9,4	11	12,2	12,2	12,4	9,8	
Poids																						
Score orthopédique																						
Ecarterie	3	2	2	2	2	2	3	4	1	2	1	0	3	2	1	1	1	3	3	2	2	2
Appui	2	0	0	0	1	1	2	2	0	1	0	0	1	0	1	1	1	2	2	1	1	1
Douleur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mobilité articulaire	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Somme score ortho.	5	2	3	2	3	3	5	6	1	5	2	0	4	2	2	2	2	5	5	3	3	3
Remarques																						
Tiroir	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Clic méniscal	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
Amvotrophie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sacs genou	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Platè anormale	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Somme remarques	3	4	3	3	3	3	4	4	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	4	3	3
Somme totale	8	6	6	5	6	6	9	10	4	8	5	3	7	6	5	6	5	9	8	7	7	6

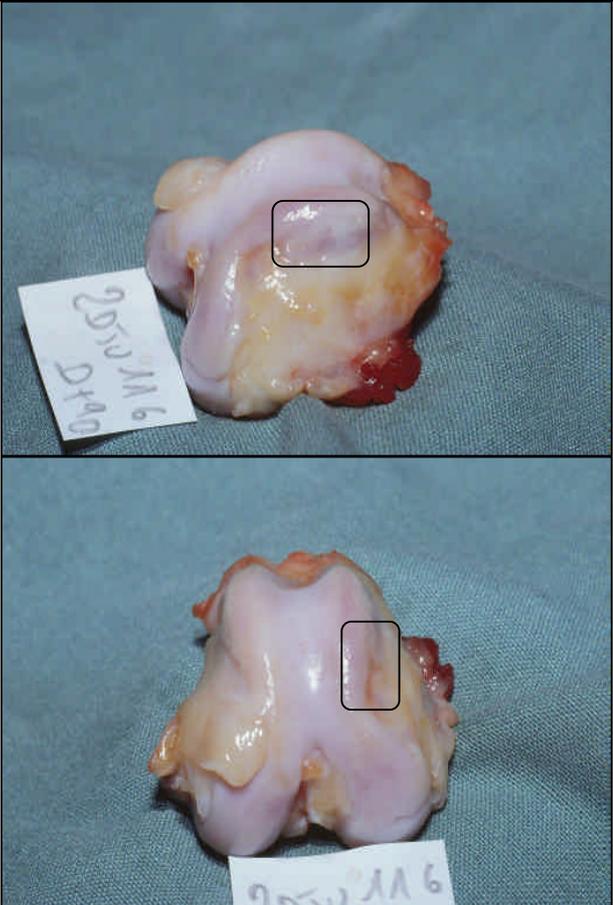
Annexe 4 : tableau de résultats du 7^e examen orthopédique

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Aucun ostéophyte	2CZL161	
1	Petit ostéophyte ou discutable	2CZL060	
2	Ostéophyte évident	2CZL161	
3	Gros ostéophyte	Pas d'exemple dans nos observations	

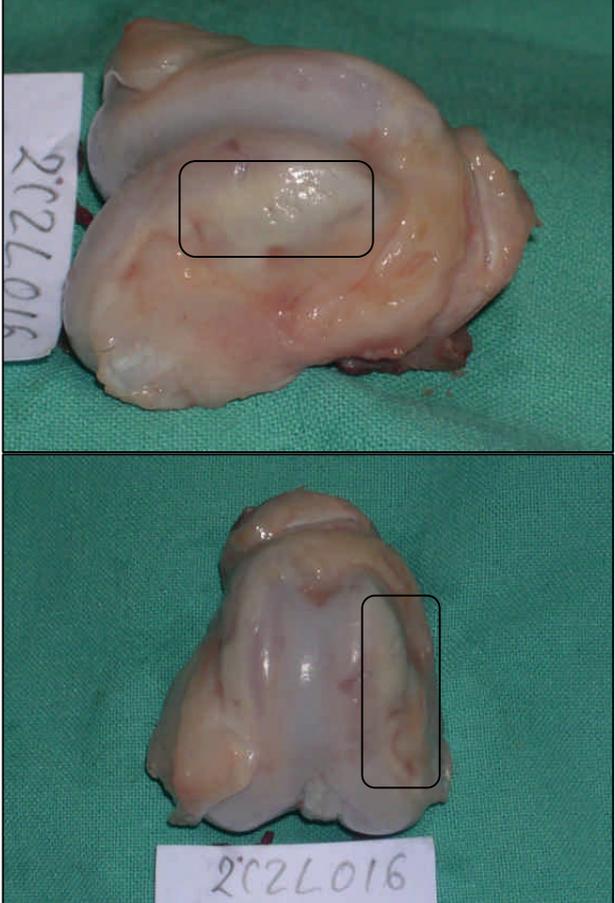
Annexe 5 : photographies macroscopiques des condyles fémoraux avec différents scores ostéophytiques (crédit : E. Viguiet)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
0 (témoin négatif genou gauche)	Aucun ostéophyte	2DCE759	

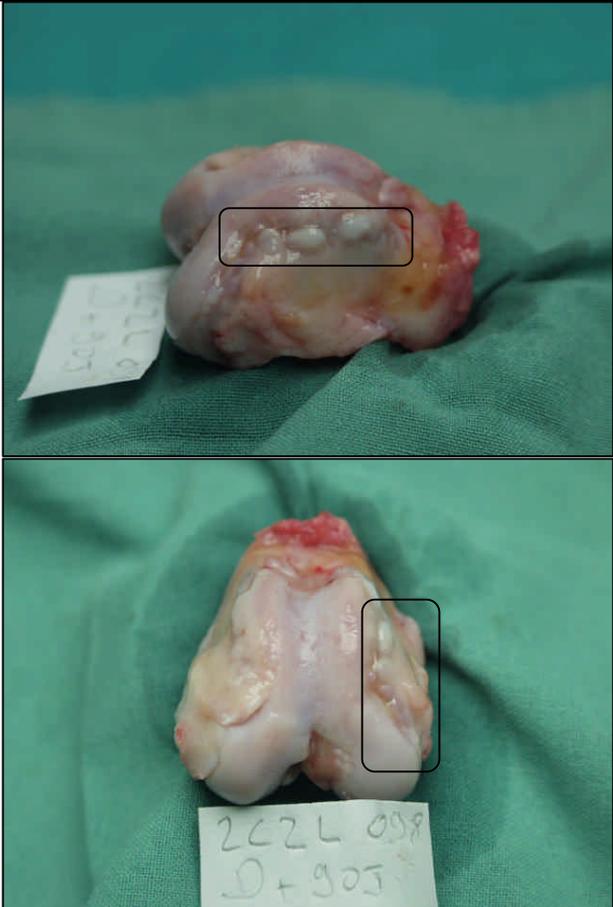
Annexe 6 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 0 (crédit : E. Viguié)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
1	Petit ostéophyte ou discutable	2DJU116	

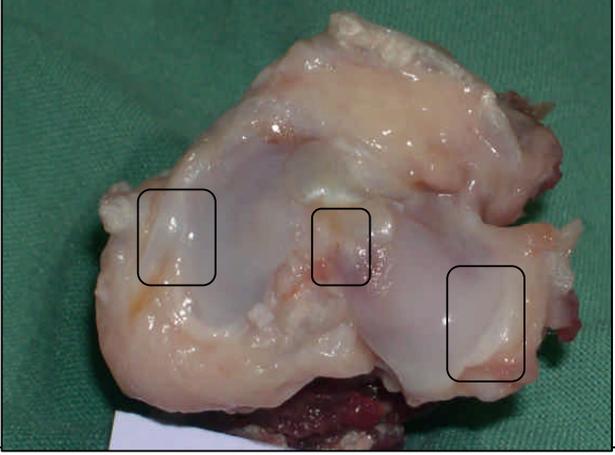
Annexe 7 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 1 (crédit : E. Viguier)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
2	Ostéophyte évident	2CZL016	

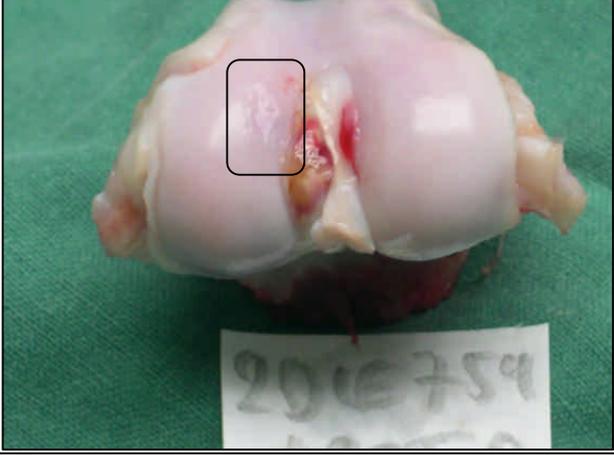
Annexe 8 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 2 (crédit : E. Viguié)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
3	Gros ostéophyte	2CZL098	

Annexe 9 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score ostéophytique de 3 (crédit : E. Viguié)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Aucun ostéophyte	2DJU116	
1	Petit ostéophyte ou discutable	2DJU116	
2	Ostéophyte évident	2DCE732	
3	Gros ostéophyte	Pas d'exemple dans nos observations	

Annexe 10 : photographies macroscopiques des condyles tibiaux avec différents scores ostéophytiques (crédit : E. Viguiet)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Surface lisse et intacte	2CZL161	
10	Erosion superficielle ou chondromalacie (ici : érosion superficielle)	2CZL095	
24	Fibrillation	2DCE759	

Annexe 11 : photographies macroscopiques des condyles fémoraux avec différents scores EVA (crédit : E. Viguiet)

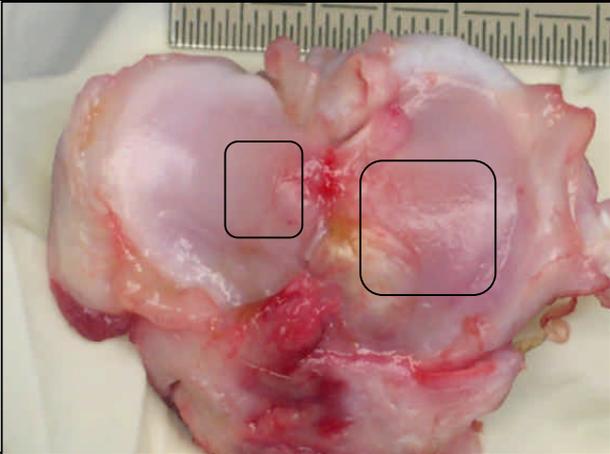
Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
0 (témoin négatif genou gauche)	Surface lisse et intacte	2DCE759	

Annexe 12 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score EVA de 0

(crédit : E. Viguier)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographies
10	Erosion superficielle ou chondromalacie (ici : érosion superficielle)	2CZL095	

Annexe 13 : photographies macroscopiques des trochlées fémorales avec score EVA de 10 (crédit : E. Viguiet)

Score	Signification	Numéro d'expérimentation	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Surface lisse et intacte	2DJU116	
16,5	Erosion superficielle ou chondromalacie (ici : érosion superficielle)	2DCE837	
28	Fibrillation	2DJU116	

Annexe 14 : photographies macroscopiques des condyles tibiaux avec différents scores

EVA (crédit : E. Viguiet)

Numéro d'expérimentation	Type de lésion	Photographie
2DFT504	Pas de lésion	
2DJU116	Lésion de rupture longitudinale de stade I	
2CZL016	En "anse de seau" de stade II	

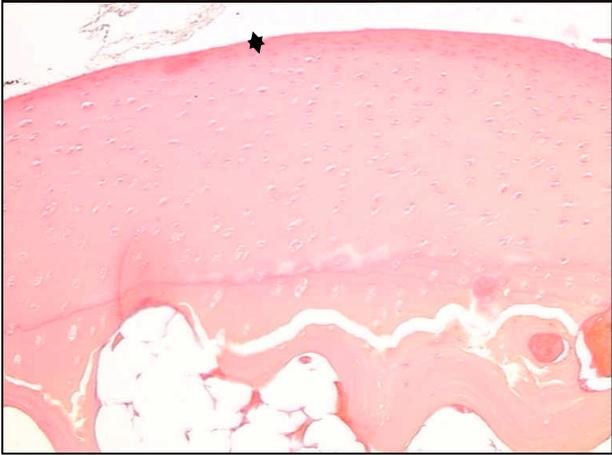
Annexe 15 : photographies macroscopiques des lésions des ménisques médiaux
(crédit : E. Viguiet)

Numéro d'expérimentation	Type de lésion	Photographie
2CZL098	En double "anse de seau" avec lésion de stade III	
2DCE840	En "bec de perroquet"	

Annexe 16 : photographies macroscopiques des lésions des ménisques médiaux
(crédit : E. Viguié)

Numéro d'expérimentation	SO condyle fémoral médial		SO condyle fémoral latéral		SO condyle tibial médial		SO condyle tibia latéral		SO rotule		SO trochlée fémorale		Somme SO		EVA condyle fémoral médial		EVA condyle fémoral latéral		EVA condyle tibial médial		EVA condyle tibial latéral		EVA rotule		EVA trochlée fémorale		Somme EVA		
2czl066	1,5	0,5	1	1	1	1	1	1	0,5	2	2	2	6,5	6	8,5	13,5	13,5	0	1,5	43									
2dce757	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	2	6	4,5	4	4	12	6,5	1	0	28									
2czl092	1	1,5	0,5	1	1	1	1	1	1	2,5	7,5	6	6	6,5	12	11,5	5	0	41										
2eul757	0,5	1,5	1	1	1	1	1	1	0,5	2	2	6,5	0	9	11	7,5	0,5	5	33										
2dce837	1,5	1	1	1	1	1	0,5	1	1	2	7	5	7	5	9,5	16,5	6	7,5	10,5	55									
2czl060	1	1,5	1	1	1	1	0,5	1	0	2	6	5,5	6	15,5	13	6	0	3,5	43,5										
2czl161	2	0	1	1	1	1	0,5	1	0	2	5,5	0	5,5	0	0	13,5	14	0	5	32,5									
2czl098	1	1,5	0,5	1	1	1	1,5	0	0	3	7,5	5	7,5	5	5,5	26	13	4	4	57,5									
2czl083	0,5	1	1	1	1	1	0	0	0	2	4,5	0	4,5	0	6	16	7,5	1	1,5	32									
2dju116	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	5	8	5	10	28	17,5	4,5	4	72										
2czl057	1	1	2	2	0	0	0	0	0	2	6	0	6	0	0	25,5	5	2	32,5										
2dce732	1	0	2	2	0	0	0	0	0	2	5	6	5	6	6	8	21	2	4	47									
2dce759	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	10	4	24	23	3	0	6	66										
2dce739	1	1	1	1	1	1	0	0	0	2	5	7	5	7	12,5	4,5	1,5	7	39,5										
2dce792	2	1	2	2	1	1	1	1	0	3	9	6	9	6	6	8	2	6	28										
2dce840	1	1	2	2	0	0	0	0	0	3	7	1,5	7	6,5	13	21	1,5	14	57,5										
2dce797	2	2	2	2	1	1	1	1	1	3	11	6	11	6	6	10	16	0	8	46									
2dce799	2	1	2	2	1	1	1	1	1	3	10	10	10	8	26	3	3	8	58										
2dft504	2	0,5	2	2	0,5	0,5	3	3	0,5	3	8,5	4	8,5	4	9	7	2	1	31										
2czl095	2	1	1	1	1	1	1	1	1	3	9	2	9	2	10	8	6	0	10	36									
2czl016	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	8	6	8	6	10	13	6	0	45										

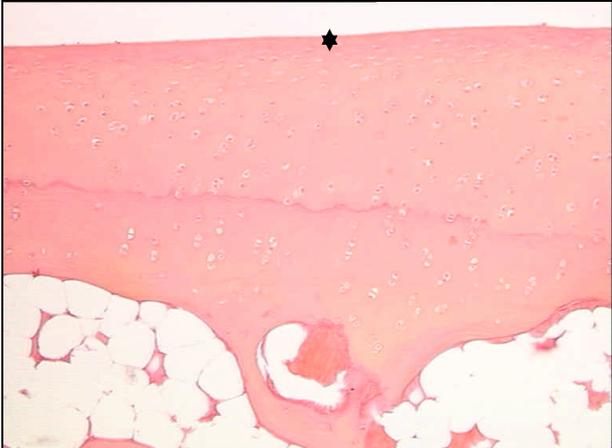
Annexe 17 : tableau de résultats de l'analyse macroscopique des lésions cartilagineuses et ostéophytiques

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographies
0 (témoin négatif genou gauche)	Pas de tissu pathologique de recouvrement	04E257 LM1	
1	Tissu fibreux à cellularité très faible	04E245 LM2	

Annexe 18 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Légende :

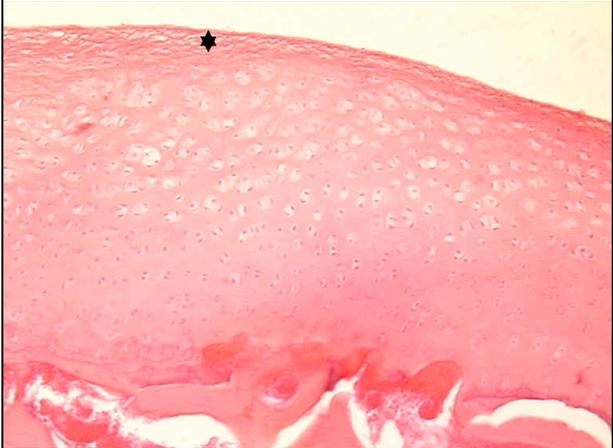
★ : épaisseur de la couche de recouvrement superficielle

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographies
2	Tissu fibreux à cellularité très moyenne	04E234 LM1	
3	Tissu fibreux avec tissu cartilagineux ou fibro-cartilagineux cellulaire minoritaire	04E269 LM2	

Annexe 19 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Légende :

★ : épaisseur de la couche de recouvrement superficielle

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
4	Tissu fibreux avec tissu cartilagineux ou fibro-cartilagineux cellulaire majoritaire	04E233 LM3	

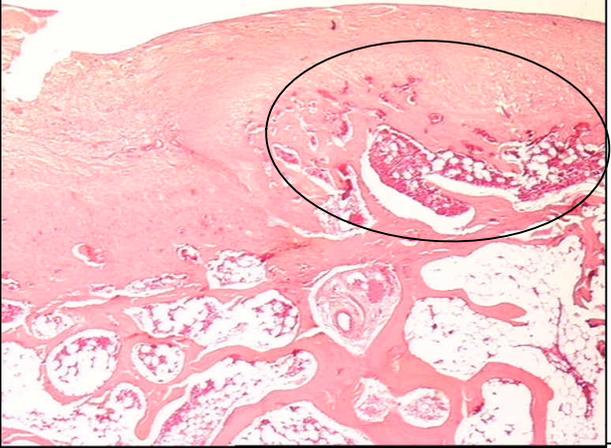
Annexe 20 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en coloration HES d'une portion de trochlée fémorale avec évaluation de la nature du tissu de recouvrement superficiel de score 4 (crédit : NOVOTEC)

Légende :

★ : épaisseur de la couche de recouvrement superficielle

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Nulle	04E253 LM3	
1	Légèrement augmentée (pas étendue sur toute la base de l'ostéophyte)	04E234 LM1	

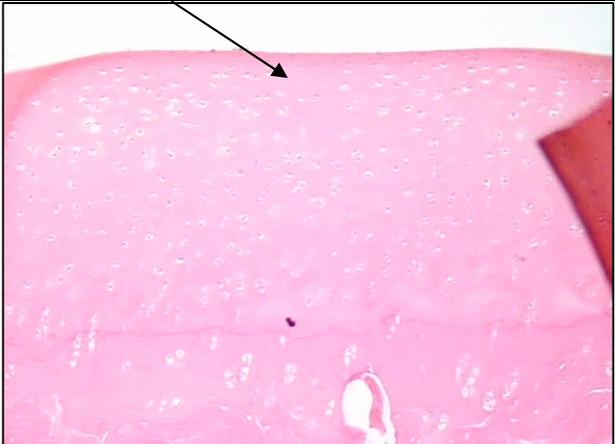
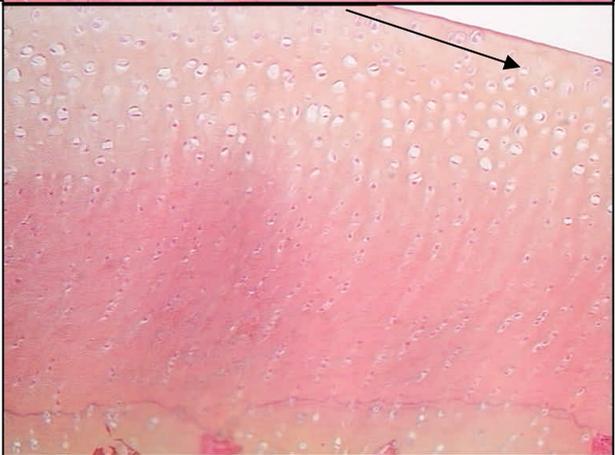
Annexe 21 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la poussée osseuse de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
2	Nettement augmentée (étendue sur toute la base et épaisseur <50% de l'épaisseur du tissu de recouvrement fibreux)	04E269 LM2	
3	Fortement augmentée (étendue sur toute la base et épaisseur >50% de l'épaisseur du tissu de recouvrement fibreux)	04E233 LM3	
4	Totale (étendue sur toute la base et atteignant la couche superficielle)	Pas d'exemple dans nos observations	

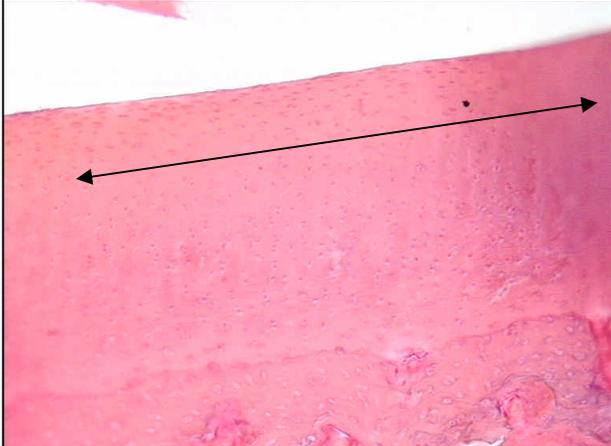
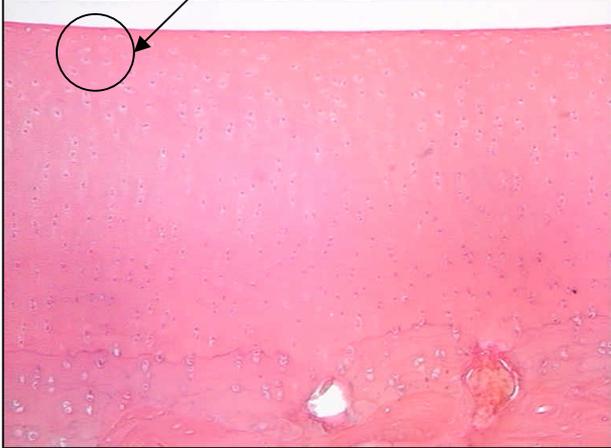
Annexe 22 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de trochlées fémorales avec évaluation de la poussée osseuse de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Numéro d'expérimentation	Bloc	Nature du tissu de recouvrement superficiel	Poussée osseuse dans le cartilage depuis la profondeur	Somme
2cul757	LM2	3	2	5
2czl060	LM1	2	1	3
2czl066	LM1	4	0	4
2czl092	LM4	2	1	3
2czl161	LM3	4	3	7
2dce757	LM2	1	1	2
2dce837	LM3	2	0	2
2czl057	LM2	3	2	5
2czl083	LM2	2	0	2
2czl098	LM2	2	1	3
2dce732	LM1	2	2	4
2dce739	LM2	3	0	3
2dce759	LM3	1	0	1
2dju116	LM3	4	1	5
2czl016	LM1	1	2	3
2czl095	LM3	3	1	4
2dce792	LM2	3	3	6
2dce797	LM2	2	1	3
2dce799	LM3	2	0	2
2dce840	LM2	1	0	1
2dft504	LM1	3	3	6

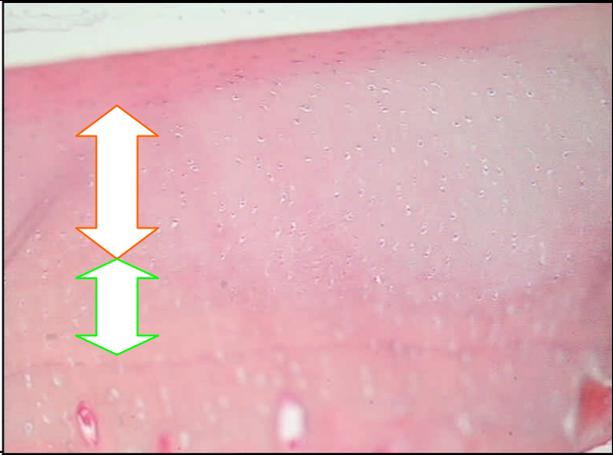
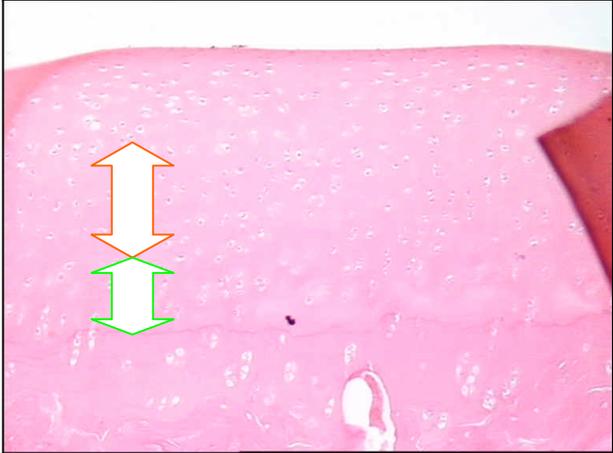
Annexe 23 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des trochlées fémorales en coloration HES

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Cellules de la couche superficielle tangentielle	04E234	
1	Cellules de la couche superficielle tangentielle et rondes	04E258	
2	Cellules de la couche superficielle rondes	04E269	

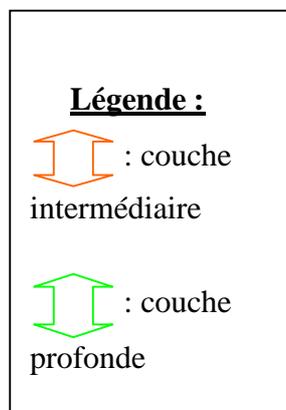
Annexe 24 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de la morphologie des cellules de la couche superficielle de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Continuité de la couche superficielle	04E253	
1	Discontinuité de la couche superficielle	04E257	

Annexe 25 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de la continuité de la couche superficielle de différents scores (crédit : NOVOTEC)

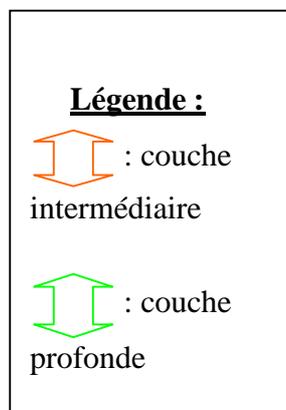
Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Pas d'hypertrophie chondrocytaire	04E258	
1	Hypertrophie chondrocytaire < 25 %	04E234	

Annexe 26 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de différents scores (crédit : NOVOTEC)



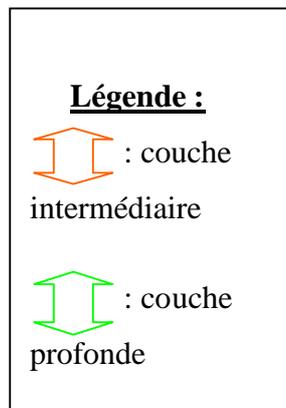
Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
2	Hypertrophie chondrocytaire 25-50 %	04E233	
3	Hypertrophie chondrocytaire 50-75 %	04E249	

Annexe 27 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de condyles tibiaux avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de différents scores (crédit : NOVOTEC)

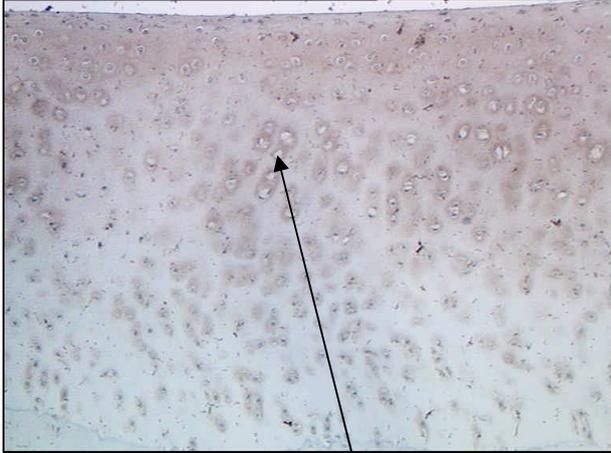


Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
4	Hypertrophie chondrocytaire > 75 %	04E259	

Annexe 28 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en coloration HES d'une portion de condyle tibial avec évaluation de l'hypertrophie chondrocytaire (représentée ici en largeur) de score 4 (crédit : NOVOTEC)



N.B. : On note la présence de clones ou clusters de chondrocytes en zone profonde (groupe de cellules signant une activité mitotique intense)

Numéro de coupe	Photographie
04E241	

Infiltration péri-cellulaires
de collagène de type III

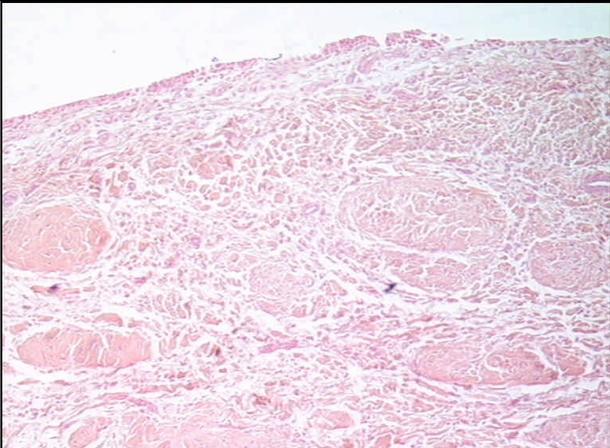
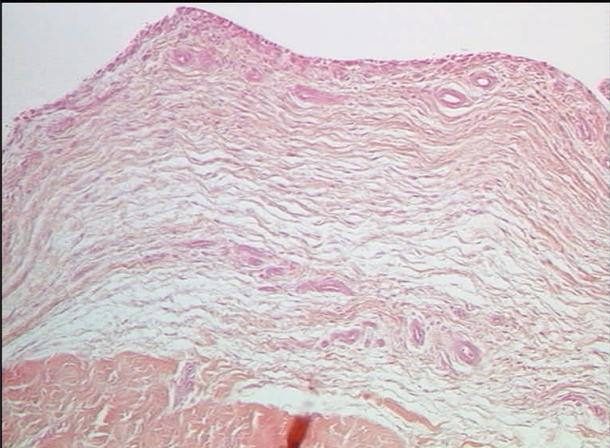
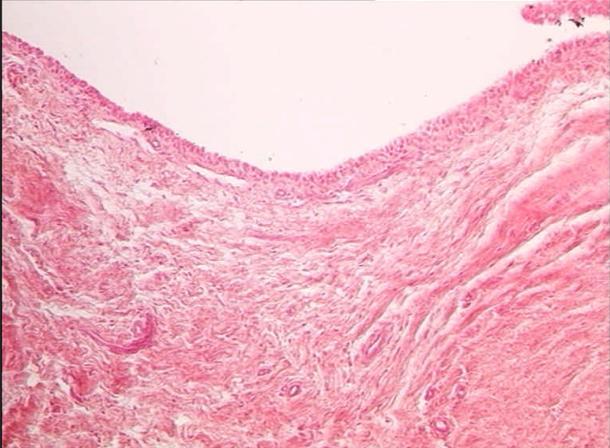
Annexe 29 : photographie d'une coupe microscopique (x100) en immunohistochimie collagène de type III d'une portion de condyle tibial avec infiltration péri-cellulaire de collagène type III (crédit : NOVOTEC)

Numéro d'expérimentation	Altération de la couche superficielle	Erosion du cartilage	Hypertrophie chondrocytaire	Somme
2cul757	1	3	0	4
2czl060	0	4	1	5
2czl066	1	4	2	7
2czl092	0	4	2	6
2czl161	2	4	2	8
2dce757	1	4	2	7
2dce837	0	4	0	4
2czl057	3	4	2	9
2czl083	2	4	1	7
2czl098	3	1	2	6
2dce732	0	4	4	8
2dce739	2	3	2	7
2dce759	1	3	0	4
2dju116	2	0	2	4
2czl016	3	4	1	8
2czl095	1	0	2	3
2dce792	0	4	3	7
2dce797	0	3	1	4
2dce799	0	3	2	5
2dce840	2	4	1	7
2dft504	2	3	1	6

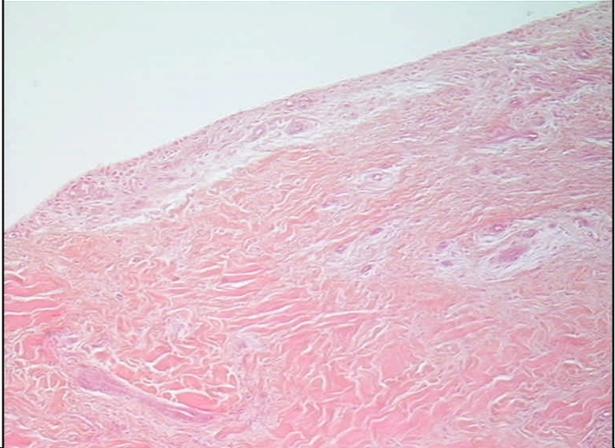
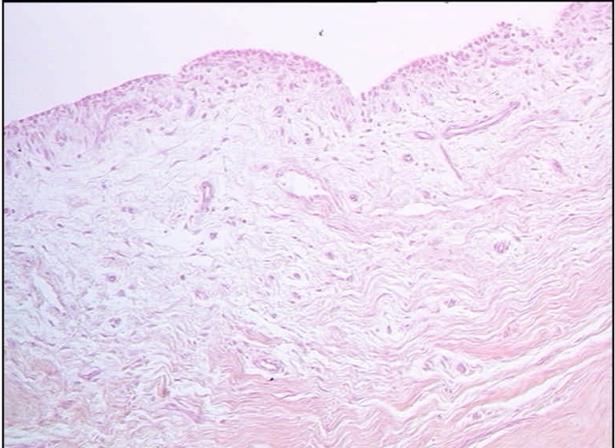
Annexe 30 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en coloration HES

Numéro d'expérimentation	IHC péri-cellulaire
2cul757	0
2czl060	0
2czl066	0
2czl092	0
2czl161	0
2dce757	III
2dce837	III
2czl057	III
2czl083	III
2czl098	0
2dce732	III
2dce739	0
2dce759	III
2dju116	0
2czl016	0
2czl095	III
2dce792	III
2dce797	III
2dce799	III
2dce840	0
2dft504	0

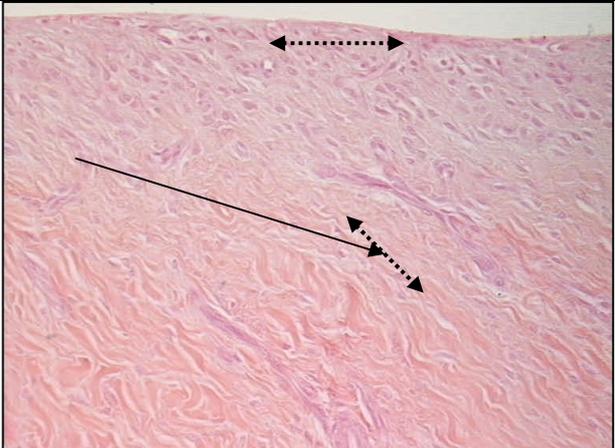
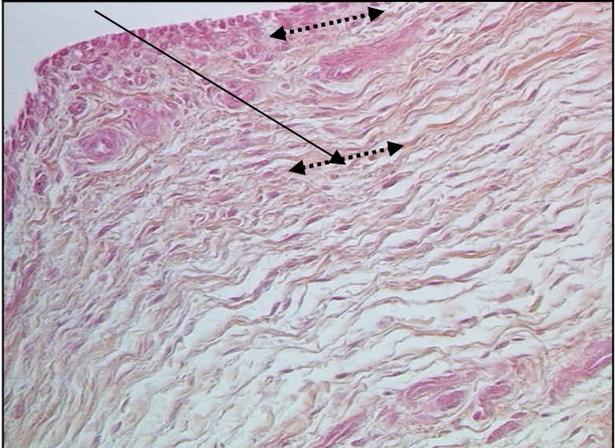
Annexe 31 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des condyles tibiaux en immunohistochimie collagène de type III

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographies
0 (témoin négatif genou gauche)	Fibres lâches et ondulées ou très ondulées	04E241	
1	Fibres lâches et pas ou peu ondulés	04E245	
2	Densité moyenne ou hétérogène et fibres ondulées	04E265	

Annexe 32 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de la densité en profondeur et de l'organisation des fibres de collagène de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
3	Fibres denses et ondulées ou très ondulées	04E237	
4	Fibres très denses et pas ou peu ondulés	04E264	

Annexe 33 : photographies des coupes microscopiques (x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de la densité en profondeur et de l'organisation des fibres de collagène de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Score	Signification	Numéro de coupe	Photographie
0 (témoin négatif genou gauche)	Fibres non parallèles	04E276 (x200)	
1	Fibres parallèles	04E245 (x100)	

Annexe 34 : photographies des coupes microscopiques (x200 et x100) en coloration HES de portions de membranes synoviales avec évaluation de l'orientation des fibres de collagène par rapport à la synoviale de différents scores (crédit : NOVOTEC)

Légende :

◄.....►: axe

d'orientation de la synoviale ou des fibres de collagène

Numéro d'expérimentation	Densité en profondeur et organisation des fibres	Orientation des fibres/synoviale	Rapport épaisseur mésothélium/fibres	Somme
2cul757	3	1	0	4
2czl060	1	1	4	6
2czl066	2	0	2	4
2czl092	0	0	1	1
2czl161				0
2dce757	1	1	2	4
2dce837				0
2czl057	2	1	3	6
2czl083	4	1	3	8
2czl098	2	1	0	3
2dce732	4		1	5
2dce739	4		1	5
2dce759	3	1	1	5
2dju116				0
2czl016	3	1	1	4
2czl095	1	1	4	6
2dce792	2	1	3	6
2dce797	2	0	2	4
2dce799	1	1	4	6
2dce840	0	1	4	5
2dft504	2	0	0	2

Annexe 35 : tableau de résultats de l'analyse microscopique des membranes synoviales

en coloration HES

Légende :



: coupes non interprétables

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adams M.E. and Brandt K.D. (1991).
Hypertrophic Repair of Canine Articular Cartilage in Osteoarthritis After Anterior Cruciate Ligament Transection.
Journal of Rheumatology, 18, 3,
- Adams M.E., Huang D.Q., Yao L.Y. and Sandell L.J. (1992).
Extraction and Isolation of mRNA from Adult Articular Cartilage.
Analytical Biochemistry, 202, 89.
- Adams M.E. and Pelletier J.P., (1988).
Canine Anterior Cruciate Ligament Transection Model of Osteoarthritis Vol. 2.
In: Greenwald R.A. and Diamond H.S. Handbook of Animal Models of Rheumatic Diseases, CRC Press, Boca Raton, 57
- Ahmed A.M. and Burke D.L. (1983).
In Vitro Measurements of Static Pressure Distribution in Synovial Joints. Part I: Tibial Surface of the Knee.
Journal of Biomechanical Engineering, 105, 216-225.
- Aigner T., Bertling W., Stoss H., Weseloh G. and Vondermark K. (1993a).
Independent Expression of Fibril-forming Collagens I, II, and III in Chondrocytes of Human Osteoarthritic Cartilage.
The Journal of Clinical Investigation, 91, 3, 829-837.
- Aigner T., Reichenberger E., Bertling W., Kirsch T., Stoss H. and Vondermark K. (1993b).
Type X Collagen Expression in Osteoarthritic and Rheumatoid Articular Cartilage.
Virchows Archive B: Cell Pathology Including Molecular Pathology, 63, 4, 205-211.
- Aigner T., Stoss H., Weseloh G., Zeiler G. and Vondermark K. (1992).
Activation of Collagen Type II Expression in Osteoarthritic and Rheumatoid Cartilage.
Virchows Archive B: Cell Pathology Including Molecular Pathology, 62, 6, 337-345.
- Akeson W.H., Frank C.B., Amiel D. and Al., (1985).
Ligament Biology and Biomechanics.
In: Finerman G. American Academy of Orthopaedic Surgeons Symposium on Sports Medicine, Mosby, St Louis, 111-151
- Altman R., Alarcon G. and Appelrouth D. (1991).
The American College of Rheumatology Criteria for the Classification and Reporting of the Osteoarthritis of the Hip.
Arthritis and Rheumatism, 34, 505-514.
- Altman R., Asch E. and Bloch D. (1986).
Development of Criteria for the Classification and Reporting of Osteoarthritis: Classification of the Osteoarthritis of the Knee.
Arthritis and Rheumatism, 29, 1039-1049.

Anderson W. A. D. (1971).
Pathology, 6th Edition.
Mosby, St. Louis, 1901.

Archibald J. (1973).
Chirurgie Canine (Canine Surgery), Editions Vigot Frères, Paris, 1122.

Arnoczky S.P and Marshall J.L. (1977).
The Cruciate Ligaments of the Canine Stifle: an Anatomical and Functional Analysis.
American Journal of Veterinary Research, 38, 1807-1814.

Arnoczky S.P. (1984).
The Cruciate Ligaments: the Enigma of the Canine Stifle.
The Journal of Small Animal Practice, 29, 71-90.

Arnoczky S.P. (1987).
Injury and Repair of the Musculo-skeletal Soft Tissue.
In: Symposium the American Academy of Orthopedics Surgeons. Proceedings of a
conference on: The American Academy of Orthopedics Surgeons Symposium, Savannah,
487-537.

Arnoczky S.P. and Marshall J.L., (1981).
Pathomechanics of Cruciate and Meniscal Injuries.
In: Bojrab M.J. Pathophysiology in Small Animal Surgery, Lea & Febiger, Philadelphia, 590-
603

Arnoczky S.P., Tarvin G.B. and Vasseur P. (1980).
Surgery of the Stifle. The Menisci and Collateral Ligaments (Part 3).
Compendium on Continuing Education for the Practicing Vet, 2, 5, 394-399.

Attur M.G. and Al. (2002).
Osteoarthritis or Osteoarthrosis: the Definition of Inflammation Becomes a Semantic Issue in
the Genomic Era of Molecular Medicine.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 1-4.

Autefage A. (1995a).
Pathophysiologie et Diagnostic de l'Ostéoarthrose.
In: Autefage A. Proceedings of a conference on: Journées Thématiques "Les Affections
Articulaires", Centre des Congrès de Laval (Québec),

Autefage A. (1995b).
Structure et Métabolisme du Cartilage et de la Synovie.
In: Autefage A. Proceedings of a conference on: Journées Thématiques "Les Affections
Articulaires", Centre des Congrès de Laval (Québec),

Ayral X. (1996).
Diagnostic and Quantitative Arthroscopy: Quantitative Arthroscopy.
Baillieres Clinical Rheumatology, 10, 3, 477-494.

Ayral X., Listrat V., Gueguen A., Bahuaud J., Beaufils P. and Beguin J. (1994).
Simplified Arthroscopy Scoring System for Chondropathy of the Knee (Revised SFA Score).
Revue de Rhumatologie (English Ed.), 61, 88-90.

- Balazs E.A., Watson D., Duff I.F. and Roseman S. (1967).
Hyaluronic Acid in Synovial Fluids. I Molecular Parameters of Hyaluronic Acid in Normal and Arthritic Human Fluids.
Arthritis and Rheumatism, 10, 357-376.
- Bancroft J. and Stevens A. (1982).
Theory and Practice of Histological Techniques, 2nd Edition.
Churchill-Livingston, New York,
- Banks W. J. (1993).
Applied Veterinary Histology, 3rd Edition.
Mosby, St. Louis, 527.
- Barone R. (1968).
Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques. Tome 2: Arthrologie et Myologie,
Laboratoire d'Anatomie. ENVL, Lyon, 1066.
- Bauer M.D. and Jackson R.W. (1988).
Chondral Lesions of the Femoral Condyles, a System of Arthroscopic Classification.
Arthroscopy, 4, 72-80,
- Beale B.S. and Goring R.L., (1993).
Degenerative Joint Disease.
In: Bojrab M.J. *Disease Mechanisms in Small Animal Surgery*, Lea & Febiger, Philadelphia,
727-736
- (2003).
Small Animal Arthroscopy, Saunders, Philadelphia, 256.
- Béguin J. and Locker B. (1983).
Chondropathie Rotulienne.
In: *Proceedings of a conference on: 2ème Journée d'Arthroscopie du Genou*, Lyon, 16-17
septembre 1983, 89-90.
- Bendele A.M., White S.L. and Hulman J.F. (1989).
Osteoarthrosis in Guinea Pigs: Histopathologic and Scanning Electron Microscopic Features.
Laboratory Animal Science, 39, 115.
- Bennett D., Tennant B., Lewis D.G. and Al. (1988).
A Reappraisal of Anterior Cruciate Ligament Disease in the Dog.
The Journal of Small Animal Practice, 29, 275-297.
- Bentley G. and Dowd G. (1984).
Current Concepts of Etiology and Treatment of Chondromalacia Patellae.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 189, 209-228.
- Blackburn W. D., Chivers S. and Bernreuter W. (1996).
Cartilage imaging in osteoarthritis.
Seminars in Arthritis and Rheumatism, 25, 273-281.

- Bojrab J. (1993).
Disease Mechanisms in Small Animal Surgery, 2nd Edition.
Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1271.
- Boos N., Nerlich A.G., Wiest I., Vondermark K., Ganz R. and Aebi M. (1999).
Immunohistochemical Analysis of Type-X-Collagen Expression in Osteoarthritis of the Hip Joint.
Journal of Orthopaedic Research, 17, 4, 495-502.
- Boulay J.P., Deangelis M. and Kincaid S.A. (1995).
Medical Therapy of Osteoarthritis in Dogs.
Compendium on Continuing Education for the Practicing Vet (Suppl.), 5-18.
- Brandt K.D. (1994).
Insights into the Natural History of Osteoarthritis Provided by the Cruciate-deficient Dog. An Animal Model of Osteoarthritis.
Annals of New York Academy of Science, 732, 199.
- Brandt K.D., Braunstein E.M., Visco D.M., O'connor B., Heck D. and Albrecht M. (1991).
Anterior (Cranial) Cruciate Ligament Transection in the Dog: a Bona Fide Model of Osteoarthritis, not Merely of Cartilage Injury and Repair.
Journal of Rheumatology, 18, 436.
- Bredella M.A., Tirman P.F.J., Peterfy C.G., Zarlingo M., Feller J.F., Bost F.W., Belzer J.P., Wischer T.K. and Genant H.K. (1999).
Accuracy of T2-weighted Fast Spin-echo MR Imaging with Fat Saturation in Detecting Cartilage Defects in the Knee: Comparison with Arthroscopy in 130 Patients.
American Journal of Roentgenology, 172, 1073-1080.
- Broche R. (1981).
Les Lésions Initiales du Cartilage dans la Gonarthrose Expérimentale du Chien. Etude histologique et Histomorphométrique.
Thèse de Doctorat en Médecine, U.E.R. Faculté de Médecine Grange Blanche, Lyon, 41.
- Broderick L.S., Turner D.A., Renfrew D.L., Schnitzer T.J., Huff J.P. and Harris C. (1994).
Severity of Articular Cartilage Abnormality in Patients with Osteoarthritis: Evaluation with Fast Spin-echo vs Arthroscopy.
American Journal of Roentgenology, 162, 99-103.
- Brossmann J., Preidler K.W., Daenen B., Pedowitz R., Andresen R., Clopton P., Trudell D., Pathria M. and Resnick D. (1996).
Imaging of Osseous and Cartilaginous Intraarticular Bodies in the Knee: Comparison of MR Imaging and MR Arthrography with CT and CT Arthrography in Cadavers.
Radiology, 200, 509-517.
- Buckland-Wright J.C. (1994).
Quantitative Radiography of Osteoarthritis.
Annals of the Rheumatic Diseases, 53, 268-275.

Buckland-Wright J.C., Macfarlane D.G., Jasani M.K. and Lynch J.A. (1994).
Quantitative Microfocal Radiographic Assessment of Osteoarthritis of the Knee from Weight Bearing Tunnel and Semiflexed Standard Views.
Journal of Rheumatology, 21, 1734-1741.

Budsberg S.C. and Fox S.M. (Mars 2004).
The Science of Articular Cartilage and its Deterioration During Arthritis. *Advances* 2, [en ligne].
Adresse: <http://www.pfizer.com/ah/rimadylvet/advances.html>.

Burger R.S. and Larson R.L., (1993).
Acute Ligamentous Injury.
In: Larson R.L. and Grano W.A. *The Knee*, Saunders, Philadelphia, 538-540

Cadoré J.L. and Donabedian M. (1997).
Implication des Cytokines dans la Pathogénie des Phénomènes Articulaires chez le Cheval.
Pratique Vétérinaire Equine, 29, 1, 31-39.

Calandruccio R.A. and Gilmer W.S. Jr. (1962).
Proliferation, Regeneration, and Repair of Articular Cartilage of Immature Animals.
Journal of Bone and Joint Surgery, 44A, 431.

Campbell D.J. (1969).
The Healing of Cartilage Defect.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 64, 45.

Canapp S.O. Jr and Al. (1999).
Scintigraphic Evaluation of Dogs with Acute Synovitis after Treatment with Glucosamine Hydrochlorid and Chondroitin Sulfate.
American Journal of Veterinary Research, 60, 12, 1552-1557.

Canapp S.O. Jr., Mclaughlin R.M. Jr., Hoskinson J.J., Roush J.K. and Butine M.D. (1999).
Scintigraphic Evaluation of Dogs with Acute Synovitis after Treatment with Glucosamine Hydrochloride and Chondroitin Sulfate.
American Journal of Veterinary Research, 60, 12, 1552-1557.

Cararo R.R., Pastoureau P., Mathieu P., Bouhedi A. and Roger T. (2005).
The Use of a Macroscopic Semi-Quantitative Score, the "Société Française d'Arthroscopie" SFA Score for the Evaluation of Cartilage Lesions in Experimental Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, A paraître,

Carney S.L., Billingham M.E.J. and Caterson B. (1992).
Changes in Proteoglycane Turnover in Experimental Canine Osteoarthritic Cartilage.
Matrix Biology, 12, 137-140.

Caron J.P., Laverty S. and Robion F. (1996).
Arthrose: Physio-pathologie et Aspects Actuels des Traitements.
Pratique Vétérinaire Equine, 28, 3, 185-193.

Carson F. (1990).
Histotechnology A Self-Instructional Text, 1st Edition.
ASCP,

- Chan W.P., Lang P., Stevens M.P., Sack K., Majumdar S., Stoller D.W., Basch C. and Genant H.K. (1991).
Osteoarthritis of the Knee: Comparison of Radiography, CT and MR Imaging to Assess Extent and Severity.
American Journal of Roentgenology, 157, 799-806.
- Chassaing P. (1985).
Chirurgie du Genou par Arthroscopie.
Conférences d'Enseignement de la SOFCOT, 103-120.
- Chaudieu G. and Fonck Y. (1984).
Pathologie Traumatique et Dégénérative du Ligament Croisé Antérieur (LCA) chez le Chien.
Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie, 19, 2, 85-95.
- Christensen S.B. (1983).
Localization of Bone-seeking Agents in Developing, Experimentally-induced Osteoarthritis in the Knee Joint of the Rabbit.
Scandinavian Journal of Rheumatology, 12, 343.
- Clamen C. (1979).
Lésions Méniscales Associées aux Ruptures de Ligament Croisé Antérieur et Ménisectomie.
Animal Compendium, 14, 4, 311-315.
- Colette-Cedoz M.E. (1999).
Mise au Point et Evaluation de Séquences RMN 3D pour l'Etude Qualitative et Quantitative du Cartilage Articulaire chez des Sujets Sains, dans l'Arthrose et l'Arthrite Chronique du Genou.
Thèse de Doctorat, Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine, Lyon, 179.
- Collectif (May 1998).
Musculoskeletal Disorders of Companion Animals.
In: Proceedings of a conference on: Young's (Companion Animal Division) Seminar, New Zealand, Foundation for Continuing Education of the N.Z. Veterinary Association, 111.
- Collinson R. (1994).
Manual of Small Animal Arthrology, British Small Animal Veterinary Association (BSAVA), 344.
- Colombo C., Butler M., O'byrne E., Hickman L., Schwartzendruber D., Selwyn M. and Steinetz B. (1983).
A New Model of Osteoarthritis in Rabbits.
Arthritis and Rheumatism, 26, 7, 875-886.
- Conrad B.P., Canapp S.O., Cross A.R., Levy C.E., Galecki B., Horodyski M. and Tran-Son-Tay R. (2003).
Can Synovial Fluid Viscosity be Used as a Physical Marker for Osteoarthritis Severity?
In: Conference Bioengineering. Proceedings of a conference on: 2003 Summer Bioengineering Conference, Key Biscayne, Florida, June 25-29, 1157-1158.

- Convery F.R., Akeson W.H. and Keown G.H. (1972).
The Repair of Large Osteochondral Defects. An experimental Study in Horses.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 82, 253.
- Dahl L.B., Dahl I.M.S. and Granath A. Engstrom-Laurent K. (1985).
Concentration and Molecular Weight of Sodium Hyaluronate in Synovial Fluid from Patients with Rheumatoid Arthritis and Other Arthropathies.
Annals of the Rheumatic Diseases, 44, 817-822.
- Danguy A. (Mai 2005).
Immunohistochimie, [en ligne].
Adresse: <http://www.ulb.ac.be/sciences/dba/Histo/Immuno.html>.
- Davis W. and Moskowitz R.W. (1973).
Degenerative Joint Changes Following Posterior Cruciate Ligament Section in the Rabbit.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 93, 307-311.
- Dehaven K.E., (1990).
The Role of The Meniscus.
In: Ewing J.W. Articular Cartilage and Knee Joint Function. Basic Science and Arthroscopy,
Raven Press, New York, 103-115
- Dehaven K.E. and Arnoczky S.P. (1994).
Meniscal Repair.
Journal of Bone and Joint Surgery, 76A, 140-152.
- Dejour H., Bonnin M. and Neyret P. (1990).
Anterior Cruciate Deficient Knee Stability in Monopodal Stance; the Influence of the Posterior Slope of the Tibial Plateau, of the Medial Meniscus and of the Posteromedial Corner.
In: Proceedings of a conference on: Proceedings of the 4th European Society of Knee Surgery and Arthroscopy, Stockholm, 44-45.
- Dellmann H. D. and Eurell J. A. (1998).
Textbook of Veterinary Histology, 5th Edition.
Williams & Wilkins, Baltimore, Media, 380.
- Depalma A.F., Mckeever C.D. and Sudin D.K. (1966).
Process of Repair of Articular Cartilage Demonstrated by Histology and Autoradiography with Tritiated Thymidine.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 48, 229.
- Deutsh A.L. and Mink J.H. (1989).
Magnetic Resonance Imaging of Musculoskeletal Injuries.
Radiologic Clinics of North America, 27, 983-1002.
- Dion E., Marre J.P., Roger B., Leguay O. and Auberton E., (1991).
IRM ou Arthrographie: Comment Explorer les Lésions Méniscales du Genou?
In: Entretiens BICHAT, Paris, 61-63

- Dorfmann H. (1986).
Arthroscopie dans la Gonarthrose.
Gazette Médicale, 93, 33-37.
- Dougados M. (2000).
Sodium Hyaluronate Therapy in Osteoarthritis: Arguments for a Potential Beneficial Structural Effects.
Seminars in Arthritis and Rheumatism, 30, 2, 19-25.
- Dougados M., Ayrat X., Gueguen A., Listrat V., Bahuaud J., Beaufils P., Beguin J., Bonvarlet J.P., Boyer T., Coudane H., Delaunay C., Dorfmann H., Dubos J.P., Frank A., Kempf J.F., Locker B., Prudhon J.L. and Thiery J. (1992).
Proposition d'un Score des Lésions Cartilagineuses du Genou par la Société Française d'Arthroscopie.
Annales de la Société Française d'Arthroscopie, 2,
- Dougados M., Ayrat X., Listrat V., Bonvarlet J.P., Simonnet J. and Amor B. (1994a).
Chondroscopy: a New Method for Measuring Osteoarthritis?
Revue de Rhumatologie (English Ed.), 51, 131-136.
- Dougados M., Ayrat X., Listrat V., Gueguen A., Bahuaud J. and Beaufils P. (1994b).
The SFA Systems for Assessing Articular Cartilage Lesions at Arthroscopy of the Knee.
Arthroscopy, 10, 69-77.
- Drapé J. and Ghitalla S., (1992).
Rupture du Ligament Croisé Antérieur.
In: Laforge H. Encyclopédie Vétérinaire, Editions Techniques S.A., Paris, Orthopédie 2100
- Drapé J. and Ghitalla S., (1993).
Pathologie Méniscale du Grasset.
In: Laforge H. Encyclopédie Vétérinaire, Editions Techniques S.A., Paris, Orthopédie 2300
- Drapé J., Ghitalla S. and Autefage A. (1990a).
Lésions Méniscales et Rupture du Ligament Croisé Antérieur: Etude Rétrospective de 400 cas.
Point Vétérinaire, 22, 130, 467-474.
- Drapé J., Ghitalla S. and Autefage A. (1990b).
Rupture du Ligament Croisé Antérieur (LCA) chez le Chien: Pathologie Traumatique ou Dégénérative?
Point Vétérinaire, 22, 131, 573-580.
- Dulac O. (1983).
Contribution à l'Etude de la Pathologie Méniscale chez le Chien.
Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Lyon, 83.
- Dupuis J. and Harari J. (1993).
Cruciate Ligament and Meniscal Injuries in Dog.
Compendium on Continuing Education for the Practicing Vet, 15, 215-233.

- Dzioba R.B. (1988).
The Classification and Treatment of Acute Cartilage Lesions.
Arthroscopy, 4, 72-80.
- Egund N., Frost S., Brismar J. and Gustafson T. (1988).
Radiography and Scintigraphy in the Assessment of Early Gonarthrosis.
Acta Radiologica, 29, 451-454.
- Ehman R., Berquist T. and Macleod R. (1988).
MR Imaging of Musculoskeletal System: a 5-year Appraisal.
Radiology, 166, 313-320.
- Ehrlich M.G., Mankin H.J., Jones H., Grossman A., Crispen C. and Ancona D. (1975).
Biochemical Confirmation of an Experimental Osteoarthritis Model.
Journal of Bone and Joint Surgery, 57A, 3, 392-396.
- Ellison R.S. (1988).
The Cytologic Examination of Synovial Fluid.
Seminars in Veterinary Medicine and Surgery, 3, 133-139.
- Engel A. (1990).
Magnetic Resonance Knee Arthrography: Enhanced Contrast by Gadolinium Complex in the Rabbits and in the Humans.
Acta Orthopaedica Scandinavica (Suppl.), 240, 61, 1-57.
- Epstein F. H. and Hamerman D. (1989).
The Biology of Osteoarthritis.
The New England Journal of Vet Medicine, May 18, 1322-1330.
- Eyre D.R., Mcdevitt C.A., Billingham M.E.J. and Muir H. (1980).
Biosynthesis of Collagen and Other Matrix Proteins by Articular Cartilage in Experimental Osteoarthritis.
Biochemical Journal, 188, 823-837,
- Fairbank T.J. (1948).
Knee Joint Changes after Meniscectomy.
Journal of Bone and Joint Surgery (Br. Ed.), 30, 664-70.
- Fayolle P., (1997).
Arthrose.
In: Laforge H. *Encyclopédie Vétérinaire*, Editions Techniques S.A., Paris, Orthopédie 0200
- Fayolle P. (2002).
L'Articulation Synoviale.
Action Vétérinaire, 1507 (Suppl.), 3-4.
- Felisaz N and Al. (1999).
Stimulating Effects of Diacerein on TGF- β 1 and β 2 Expression in the Articular Chondrocytes Cultured with and without Interleukin-1.
Osteoarthritis and Cartilage, 7, 255-267.

- Ficat P. (1979).
Cartilage et Arthrose: Exploration Fonctionnelle et Thérapeutique, Masson, Paris,
- Flo G.L. (1983).
Classification of Meniscal Lesions in Twenty-six Consecutive Canine Meniscectomies.
Journal of American Animal Hospital Association, 19, 3, 355-340.
- Flo G.L. (1993).
Meniscal Injuries.
The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, 23, 831-844.
- Flo G.L. and Deyoung D. (1978).
Meniscal Injuries and Medial Meniscectomy in the Canine Stifle.
Journal of American Animal Hospital Association, 14, 683-689.
- Fossum T. W. (2002).
Small Animal Surgery, 2nd Edition.
Mosby, St. Louis, 1400.
- Freemont A.J., Byers R.J., Taiwo Y.O. and Hoyland J.A. (1999).
In Situ Zymographic Localization of Type II Collagen Degrading Activity in Osteoarthritic Human Articular Cartilage.
Annals of the Rheumatic Diseases, 58, 6, 357-365.
- Frost L. and Ghosh P. (1984).
Microinjury to the Synovial Membrane May Cause Disaggregation of Proteoglycans in Rabbit Knee Joint Articular Cartilage.
Journal of Orthopaedic Research, 2, 202-207.
- Gagliardi S., Mughetti M. and Gualteri I. (1995).
Diagnostic Accuracy of CT Scan in Intra-articular Lesions of the Knee (Arthroscopic Confirmation of 100 Cases).
Chirurgia Degli Organi di Movimento, 80, 3, 301-307.
- Gardner D.L. (1983).
The Nature and Causes of Osteoarthrosis.
British Medical Journal, 286, 418-424.
- Gardner D.L., Salter D.M. and Oates K. (1997).
Advances in the Microscopy of Osteoarthritis.
Microscopy Res. Tech., 37, 245.
- Garnero P., Ayrat X., Rousseau J.C., Christgau S., Sandell L.J., Dougados M. and Delmas P.D. (2002).
Uncoupling of Type II Collagen Synthesis and Degradation Predicts Progression of Joint Damage in Patients with Knee Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 46, 10, 2613-2624.
- Gedikoglu O., Bayliss M.T., Ali S.Y. and Tuncer I. (1986).
Biochemical and Histological Changes in Osteoarthritic Synovial Membrane.
Annals of the Rheumatic Diseases, 45, 289-292.

- Gelse K., Soder S., Eger W., Diemtar T. and Aigner T. (2003).
Osteophyte Development - Molecular Characterization of Different Stages.
Osteoarthritis and Cartilage, 11, 2, 141-148.
- Genevois J.P., (1992).
Anatomie et Physiologie Articulaires.
In: Laforge H. Encyclopédie Vétérinaire, Editions Techniques S.A., Paris, Orthopédie 0100
- Getzy L.L., Malemud C.J., Goldberg V.M. and Moskowitz R.W. (1982).
Factors Influencing Metachromatic Staining in Paraffin-embedded Sections of Rabbit and Human Articular Cartilage: a Comparison of the Saffranin-O and Toluidine Blue Techniques.
Journal of Histotechnology, 5, 111.
- Ghadially F.N., Fuller J.A. and Kirkaldy-Willis W.H. (1971).
Ultrastructure of Full-thickness Defects in Articular Cartilage.
Archives of Pathology, 92, 356.
- Ghitalla S. (1990).
Rupture du Ligament Croisé Antérieur chez le Chien. Une Etude Rétrospective de 400 cas.
Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 105.
- Gilbertson E.M.M. (1975).
Development of Periarticular Osteophytes in Experimentally-induced Osteoarthritis in the Dog.
Annals of the Rheumatic Diseases, 34, 12-25.
- Girkontaite I., Frischholz S., Lammi P., Wagner K., Swoboda B., Aigner T. and Vondermark K. (1996).
Immunolocalization of Type X Collagen in Normal Fetal and Adult Osteoarthritic Cartilage with Monoclonal Antibodies.
Matrix Biology, 15, 4, 231-238.
- Giurea M., Aichroth P.M. and Duri Z. (1998).
Classification of Articular Cartilage Lesions of the Knee at Arthroscopy.
The Knee, 5, 3, 159-64.
- Glynn L.E. (1977).
Primary Lesion in Osteoarthrosis.
Lancet, 1, 574-575.
- Gold E.W., Anderson L.B., Miller C.W. and Schwartz E.R. (1976).
Effect of Salicylate on the Surgical Inducement of Joint Degeneration in Rabbit Knees.
Journal of Bone and Joint Surgery, 52A, 7, 1012-1015.
- Goldwasser M., Astley T., Vanderrest M. and Glorieux F.H. (1982).
Analysis of the Type of Collagen Present in Osteoarthritic Human Cartilage.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 167, 296-302.

- Gonzalez J.F. (1997).
Place Actuelle de l'Imagerie par Résonance Magnétique dans les Pathologies Ménisco-Ligamentaires du Genou. A propos d'une Corrélation Clinique - IRM - Arthroscopie de 194 Observations.
Thèse de Doctorat en Médecine, U.F.R. Lyon Nord, Lyon, 117.
- Goupille P., Chevalier X., Valat J.P., Garaud P., Perin F. and Lepape A. (1997).
Macrophage Targeting with ⁹⁹mTc-labeled J001 for Scintigraphic Assessment of Experimental Osteoarthritis in the Rabbit.
British Journal of Rheumatology, 36, 758.
- Gray P. (1954).
The Microtomist's Formulary and Guide, The Blakiston Co.,
- Griffin D.W. and Vasseur P.B. (1992).
Synovial Fluid Analysis in Dogs with Cranial Cruciate Ligament Rupture.
Journal of the American Animal Hospital Association, 28, 3, 277-281.
- Gruber H. E. and Stasky A. A., (1999).
Histological Study in Orthopaedic Animal Research.
In: Yuehuei H. A. and Friedman R. J. Animals Models in Orthopaedic Research, CRC Press, 115-138
- Grynepas M.D., Gahunia H.K., Yuan J., Pritzker K.P.H., Hartmann D. and Tupy J. H. (1994).
Analysis of Collagens Solubilized from Cartilage of Normal and Spontaneously Osteoarthritic Rhesus Monkey.
Osteoarthritis and Cartilage, 2, 4, 227-234.
- Harari J. (1995).
Concepts Actuels dans le Traitement des Ruptures du Ligament Croisé Antérieur.
Waltham Focus, 5, 3, 24-31.
- Hargingham T.E., Rayan V. and Lewthwaite J.C. (1994).
Régulation de la Synthèse de la Matrice Cartilagineuse par les Chondrocytes.
Revue de Rhumatologie (Ed. Fr.), 61, 93-98.
- Hashimoto S., Creighton-Achermann L., Takahashi K., Amiel D., Coutts R.D. and Lotz M. (2002).
Development and Regulation of Osteophyte Formation during Experimental Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 3, 180-187.
- Hauselmann H.J. (2001).
Nutripharmaceuticals for Osteoarthritis.
Best Practice and Research Clinical Rheumatology, 15, 4, 595-607.
- Hayes C.W. and Conway W.F. (1992).
Evaluation of Articular Cartilage: Radiographic and Cross-sectional Imaging Techniques.
Radiographics, 12, 409-428.

- Hayes C.W., Sawyer R. and Conway W.F. (1990).
Patellar Cartilage Lesions: in vitro Detection and Staging with MR Imaging and Pathologic Correlation.
Radiology, 176, 479-483.
- Hedbom E. and Häuselmann H.J. (2002).
Molecular Aspects of Pathogenesis in Osteoarthritis: the role of inflammation.
Cellular and Molecular Life Sciences, 59, 45-53.
- Henrard J.C., Dorfmann H. and Amouroux J. (1972).
Structure et Fonctionnement des Articulations Normales, Articulations Pathologiques.
Cahiers Intégrés de Médecine, 46, 1-25.
- Herbage D., (1987).
Collagène, Cartilage et Arthrose.
In: Simon L. and Loyau G. *L'Arthrose: Réalités et Perspectives*, Masson, Paris,
- Heron C.W. and Calvert P.T. (1992).
Three-dimensional Gradient-echo MR Imaging of the Knee: Comparison with Arthroscopy in 100 Patients.
Radiology, 183, 839-844.
- Heron J. F. (Mai 2005).
L'immunohistochimie, [en ligne].
Adresse: http://www.oncoprof.net/Generale2000/g04_Diagnostic/Histologie/Technique-texte/dg_ap_tech06.html.
- Products Hill's Pet (1989).
Hill's Atlas of Veterinary Clinical Anatomy, Veterinary Medicine Publishing Company, Inc., USA, 98.
- Hollander A.P., Pidoux I., Reiner A., Rorabeck C., Bourne R. and Poole A.R. (1995).
Damage to Type II Collagen in Aging and Osteoarthritis Starts at the Articular Surface, Originates around Chondrocytes, and Extends into the Cartilage with Progressive Degeneration.
The Journal of Clinical Investigation, 96, 6, 2859-2869.
- Hulth A., Lindberg L. and Telhag H. (1971).
Experimental Osteoarthritis in Rabbits.
Acta Orthopaedica Scandinavica, 41, 522.
- Hutton C.W., Hinton C. and Dieppe P.A. (1987).
Intra-articular Variation of Synovial Changes in Knee Arthritis: Biopsy Study Comparing Changes in Femoropatellar Synovium and the Medial Tibiofemoral Synovium.
Journal of Rheumatology (Br. Ed.), 26, 5-8.
- Ilic M.Z., Martinac B. and Handley C. (2003).
Effects of Long-term Exposure to Glucosamine and Mannosamine on Aggrecan Degradation in Articular Cartilage.
Osteoarthritis and Cartilage, 11, 613-622.

- Innes J.F., Sharif M. and Barr A.R.S. (1999).
Changes in Concentrations of Biochemical Markers of Osteoarthritis Following Surgical Repair of Ruptured Cranial Cruciate Ligaments in Dogs.
American Journal of Veterinary Research, 60, 9, 1164-1168.
- Insall J., Falvo K.A. and Wise D.W. (1976).
Chondromalacia Patellae. A Prospective Study.
Journal of Bone and Joint Surgery, 58, 1-8.
- Johnson J.M. and Johnson A.L. (1993).
Cranial Cruciate Ligament Rupture: Pathogenesis, Diagnosis and Postoperative Rehabilitation.
The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, 23, 717.
- Johnson R.J., Beynnon B.D., Nichols C.E. and Al. (1992).
The Treatment of Injuries of the Anterior Cruciate Ligament.
Journal of Bone and Joint Surgery, 74A, 140-151.
- Johnston S.A. (1997).
Osteoarthritis-Joint Anatomy, Physiology and Pathobiology.
The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, 27, 4, 699-723.
- Jones T. C., Hunt R. D. and King N. W. (1997).
Veterinary Pathology, 6th Edition.
Williams & Wilkins, Baltimore, Media, 1392.
- Jortikka M.O., Inkinnen R.I. and Tammi M.I. (1997).
Immobilisation Causes Longlasting Matrix Changes Both in the Immobilized and Controlateral Joint Cartilage.
Annals of the Rheumatic Diseases, 56, 255.
- Jubb K. V. F., Kennedy P. C. and Palmer N. (1991).
Pathology of Domestic Animals, 4th Edition.
Academic Press, London, 780.
- Kammermann J.R., Kincaid S.A., Rumph P.F., Baird D.K. and Visco D.M. (1996).
Immuno-localization of TNF- α , Stromelysin, and TNF Receptors in Canine Osteoarthritic Cartilage.
Osteoarthritis and Cartilage, 4, 23.
- Kikuchi T., Yamada H. and Shimmei M. (1996).
Effect of High Molecular Weight Hyaluronan on Cartilage Degeneration in a Rabbit Model of Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 4, 99-110.
- Kitoh Y., Katsuramaki T. and Tanaka T. (1992).
Effect of SL-1010 (Sodium Hyaluronate with High Molecular Weight) on Experimental Osteoarthritis Induced by Intra-articularly Applied Papain in Rabbits.
Folia Pharmacologica Japonica, 100, 67-76.

- Kivumbi C.W. and Bennett D. (1981).
Arthroscopy of the Canine Stifle Joint.
The Veterinary Record, 109, 12, 241-249.
- Korvick D.L., Pijanowski G.J. and Schaeffer D.J. (1994).
Three-dimensional Kinematics of the Intact and Cranial Cruciate Ligament Deficient Stifle of Dogs.
Journal of Biomechanics, 27, 1, 77-87.
- Koshino T. and Machida J. (1993).
Grading System of Articular Cartilage Degeneration in Osteoarthritis of the Knee.
Bulletin Hospital for Joint Diseases, 53, 41-46.
- Kurtz B., Jost B. and Schunke M. (2001).
Dietary Vitamins and Selenium Diminish the Development of Mechanically Induced Osteoarthrosis and Increase the Expression of Antioxydative Enzymes in the Knee Joint of STR/1N Mice.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 255-267.
- Lane J.M., Chisena E. and Black J. (1979).
Experimental Knee Instability: Early Mechanical Property Changes in Articular Cartilage in a Rabbit Model.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 140, 262-266.
- Lefkoe T.P., Nalin A.M., Clark J.M., Reife R.A., Sugai J. and Sandell L.J. (1997).
Gene Expression of Collagen Types IIA and IX Correlates with Ultrastructural Events in Early Osteoarthritis: New Applications of the Rabbit Meniscectomy Model.
Journal of Rheumatology, 24, 1155.
- Lemaire R. (1977).
L'Arthrose Fémoro-tibiale, Conséquence Prévisible de la Méniscectomie sur Genoux Désaxés.
Acta Chirurgica Belgica, 76, 355-360.
- Lequesne M., Brandt K., Bellamy N., Moskowitz R., Menkes C.J. and Pelletier J.P. (1994).
Guidelines for Testing Slow Activity Drugs in Osteoarthritis.
Journal of Rheumatology (Suppl.), 21, 274.
- Lewandrowsky K.U. and Ekkernamp A. (1996).
Classification of Articular Cartilage Lesions of the Knee at Arthroscopy.
American Journal of Knee Surgery, 9, 121-129.
- Libicher M., Ivancic M., Hoffmann V. and Wenz W. (2005).
Early Changes in Experimental Osteoarthritis using the Pond-Nuki Dog Model: Technical Procedure and Initial Results of in vivo Imaging.
European Radiology, 15, 390-394.
- Lindblad S. and Hedfors E. (1985).
Intraarticular Variation in Synovitis: Local Macroscopic and Microscopic Signs of Inflammatory Activity are Significantly Correlated.
Arthritis and Rheumatism, 28, 977-986.

- Lipowitz A.J., (1985).
Synovial Fluid.
In: Newton C.D. and Nunamaker D.M. Textbook of Small Animal Surgery, Lippincott, Philadelphia, 1015-1028
- Lipowitz A.J., (1993).
Degenerative Joint Disease.
In: Slatter D. Textbook of Small Animal Surgery, W.B. Saunders, Philadelphia, 1921-1927
- Lipowitz A.J., Wong P.L. and Stevens J.B. (1985).
Synovial Membrane Changes after Experimental Transection of the Cranial Cruciate Ligament in Dogs.
American Journal of Veterinary Research, 46, 5, 1166-1170.
- Lohmander L.S., Roos H. and Dahlberg L. (1995).
The Role of Molecular Markers to Monitor Disease, Intervention and Cartilage Breakdown in Osteoarthritis.
Acta Orthopaedica Scandinavica, 66, 84-87.
- Loneux P. and Balligand M. (1999a).
L'Ostéoarthrose chez le Chien. 1 Pathophysiologie et Diagnostic.
Annales de Médecine Vétérinaire, 143, 3, 153-160.
- Loneux P. and Balligand M. (1999b).
L'Ostéoarthrose chez le Chien. 2 Traitement.
Annales de Médecine Vétérinaire, 143, 3, 163-175.
- Lopez A., Microbiology Pathology And and College Atlantic Veterinary. (Mai 2005).
Joint Pathology, [en ligne].
Adresse: <http://people.upei.ca/lopez/Joints/joints.html>.
- Lufti A.M. (1975).
Morphological Changes in the Articular Cartilage after Meniscectomy.
Journal of Bone and Joint Surgery, 57B, 4, 525-528.
- Lukoschek M., Schaffler M.B., Burr D.B., Boyd R.D. and Radin E.L. (1988).
Synovial Membrane and Cartilage Changes in Experimental Osteoarthritis.
Journal of Orthopaedic Research, 6, 475-492.
- Luna L. (1968).
Manual of Histologic Staining Methods of the AFIP, 3rd Edition.
McGraw-Hill, New York,
- Macphail C.M. (2000).
Traitement de l'Arthrose chez le Chien.
Waltham Focus, 10, 25-31.
- Mankin H.D. and Brandt K.D., (1997).
Pathogenesis of Osteoarthrosis.
In: Kelly W.N. Textbook of Rheumatology, W.B. Saunders, Philadelphia, 1369

- Mankin H.J., Dorfman H., Lippiello L. and Zarins A. (1971).
Biochemical and Metabolic Abnormalities in Articular Cartilage from Osteoarthritis Human Hips. II Correlation of Morphology with Biochemical and Metabolic Data.
Journal of Bone and Joint Surgery, 53A, 523.
- Marijnissen A.C.A., Vanroermund P.M., Tekoppele J.M., Bijlsma J.W.J. and Lafeber F.P.J.G. (2002a).
The Canine "Groove" Model, Compared with the ACLT Model of Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 2, 145-155.
- Marijnissen A.C.A., Vanroermund P.M., Verzijl N., Tekoppele J.M., Bijlsma J.W.J. and Lafeber F.P.J.G. (2002b).
Steady Progression of Osteoarthritic Features in the Canine Groove Model.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 4, 282-289.
- Maroudas A., (1987).
Les Protéoglycanes du Cartilage Humain.
In: Simon L. and Loyau G. *L'Arthrose: Réalités et Perspectives*, Masson, Paris,
- Martel-Pelletier J. (1997).
Pathophysiology of Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 7, 371-373.
- Martel-Pelletier J., Cloutier J.M. and Pelletier J.P. (1986).
Neutral Proteases in Human Osteoarthritic Synovium.
Arthritis and Rheumatism, 29, 1112-1121.
- Massicotte F., Lajeunesse D., Benderdour M., Pelletier J.P., Hilal G., Duval N. and Martel-Pelletier J. (2002).
Can Altered Production of Interleukin-1 beta, Interleukin-6, Transforming Growth Factor beta and Prostaglandin E(2) by Isolated Human Subchondal Osteoblasts Identify Two Subgroups of Osteoarthritic Patients.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 6, 491-500.
- Matyas J.R., Huang D., Chung M. and Adams M.E. (2002).
Regional Quantification of Cartilage Type II Collagen and Aggrecan Messenger RNA in Joints with Early Experimental Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 46, 6, 1536-1543.
- May S.A., (1994).
Degenerative Joint Disease (Osteoarthritis, Osteoarthrosis, Secondary Joint Disease).
In: Houlton J.E.F. and Collinson R. *Manual of Small Animal Arthrology*, British Small Animal Veterinary Association, Shurdington Cheltenham, 62-74
- May S.A., Hooke R.E. and Lees P. (1992).
Equine Chondrocyte Activation by a Variety of Stimuli.
British Veterinary Journal, 148, 5,
- Mazières B. (1989).
Les Modèles Expérimentaux de l'Arthrose.
Revue du Praticien, 39, 7, 555-557.

- Mccauley T.R., Kier R., Lynch K.J. and Jokl P. (1992).
Chondromalacia Patellae: Diagnosis with MR Imaging.
American Journal of Roentgenology, 158, 101-105.
- Mcdevitt C.A., Gilbertson E. and Muir H. (1977).
An Experimental Model of Osteoarthritis. Early Morphological and Biochemical Changes.
Journal of Bone and Joint Surgery, 59B, 1, 24-35.
- Mcdevitt C.A. and Muir H. (1976).
Biochemical Changes in the Cartilage of the Knee in Experimental and Natural Osteoarthritis
in the Dog.
Journal of Bone and Joint Surgery, 58B, 1, 94-101.
- Mcgavin M. D., Carlton W. W. and Zachary J. F. (2001).
Thomson's Special Veterinary Pathology, 3rd Edition.
Mosby, St. Louis, 755.
- Meachim G. (1972).
Light Microscopy of India Ink Preparation of Fibrillated Cartilage.
Annals of the Rheumatic Diseases, 31, 457-459.
- Mink J.H. and Deutsch A.L. (1989).
Magnetic Resonance Imaging of the Knee.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 244, 29-47.
- Miosge N., Hartmann M., Maelicke C. and Herken R. (2004).
Expression of Collagen Type I and Type II in Consecutive Stages of Human Osteoarthritis.
Histochemistry and Cellular Biology, 122, 3, 229-236.
- Miosge N., Waletzko K., Bode C., Quondamatteo F., Schultz W. and Herken R. (1998).
Light and Electron Microscopic In-situ Hybridization of Collagen Type I and Type II mRNA
in the Fibrocartilaginous Tissue of Late-stage Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 6, 4, 278-285.
- Mitrovic D. (1984).
Physiopathologie de l'Arthrose et Hypothèses Pathogéniques.
Revue de Rhumatologie (Ed. Fr.), 51, 289-294.
- Mitrovic D. (1985).
Les Premiers Résultats Concrets des Recherches sur l'Arthrose.
Journal of Internal Medicine, 56, 10-15.
- Mitrovic D. and Ryckewaert A. (1978).
Structure et Biologie du Cartilage Articulaires de l'Adulte.
Revue de Rhumatologie (Ed. Fr.), 45, 10, 535-540.
- Morris N. P. and Bachinger H.P. (1987).
Type XI Collagen is a Heterotrimer with the Composition (1,2,3) Retaining non Triple
Helical Domains.
Journal of Biological Chemistry, 262, 11345-11359.

- Moskowitz R.W., (1992).
Experimental Models of Osteoarthritis.
In: Moskowitz R.W., Howell D.S., Goldberg V.M. and Mankin H.J. Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management, 2nd Edition.
Saunders, Philadelphia, 213
- Moskowitz R.W., Davis W., Sammarco J., Martens M., Baker J., Mayor M., Burnstein A.H. and Frankel V.H. (1973).
Experimental Induced Degenerative Joint Lesions Following Partial Meniscectomy in the Rabbit.
Arthritis and Rheumatism, 16, 3, 397-405.
- Moskowitz R.W., Goldberg V.Q. and Malemud C.J. (1980).
Metabolic Responses of Cartilage in Experimentally-induced Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 23, 6, 724.
- Moskowitz R.W., Howell D.S., Goldberg V.M., Muniz O. and Pita J.C. (1979).
Cartilage Proteoglycan Alterations in an Experimentally-induced Model of Rabbit Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 22, 2, 155-163.
- Myers S.L., D. Flusser, Brandt K.D. and Heck D.A. (1992).
Prevalence of Cartilage Shards in Synovium and their Association with Synovitis in Patients with Early and Endstage Osteoarthritis.
Journal of Rheumatology, 19, 1247.
- Newsberg A.H., Munn C.S. and Robbins A.H. (1985).
Complications of Arthrography.
Radiology, 155, 605-606.
- Noyes F.R. and Stabler C.L. (1989).
A System for Grading Articular Cartilage Lesions at Arthroscopy.
American Journal of Sports Medicine, 17, 505-513.
- O'Connor B.L., Visco D.M., Heck D.A., Myers S.L. and Brandt K.D. (1989).
Gait Alterations in Dogs after Transection of the Anterior Cruciate Ligament.
Arthritis and Rheumatism, 32, 1142.
- Oakley S.P. and Lassere M.N. (2003).
A Critical Appraisal of Quantitative Arthroscopy as an Outcome Measure in Osteoarthritis of the Knee.
Seminars in Arthritis and Rheumatism, 33, 2, 83-105.
- Oakley S.P., Portek I., Szomor Z., Ghosh P., Kirkham B.W., Phil D. and Lassere M.N. (2005).
Arthroscopy - a Potential "Gold Standard" for the Diagnosis of the Chondropathy of Early Osteoarthritis.
Osteoarthritis and Cartilage, 13, 5, 368-378.

- Oegema T. R. Jr. and Visco D., (1999).
Animal Models of Osteoarthritis.
In: Yuehuei H. A. and Friedman R. J. *Animals Models in Orthopaedic Research*, CRC Press, 349-367
- Ostergaard K., Peterson J., Andersen C.B., K.Bendtzen and Salter D.M. (1997).
Histologic/Histochemical Grading System for Osteoarthritic Articular Cartilage:
Reproductibility and Validity.
Arthritis and Rheumatism, 40, 1766.
- Outerbridge R.E. (1961).
The Etiology of Chondromalacia Patellae.
Journal of Bone and Joint Surgery (Br. Ed.), 43B, 4, 752-757.
- Palmoski M.J., Coyler R.A. and Brandt K.D. (1980).
Marked Suppression by Salicylate of the Augmented Proteoglycan Synthesis in Osteoarthritic
Cartilage.
Arthritis and Rheumatism, 23, 1, 83-91.
- Patwari P. and Al. (2000).
Mannosamine Inhibits Aggrecanase-Mediated Changes in the Physical Properties and
Biochemical Composition of Articular Cartilage.
Archives of Biochemistry and Biophysics, 374, 1, 79-85.
- Pedersen N.C. (1978).
Synovial Fluid Collection and Analysis.
The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice, 8, 495-499.
- Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J. (1985).
Cartilage Degradation by Neutral Proteoglycanases in Experimental Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 28, 12.
- Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J., (1987).
Enzymes de Dégradation, Rôle au Cours de l'Arthrose.
In: Simon L. and Loyau G. *L'Arthrose: Réalités et Perspectives*, Masson, Paris,
- Pelletier J.P. and Martel-Pelletier J. (1994).
Rôle de l'Inflammation Synoviale, des Cytokines et de l'IGF-1 dans la Physiopathologie de
l'Arthrose.
Revue de Rhumatologie (Ed. Fr.), 61, 81-85.
- Pelletier J.P., Martel-Pelletier J., Ghandur-Mnaymneh L., Howell D.S. and Woessner J.F. Jr.
(1985).
Role of Synovial Membrane Inflammation in Cartilage Matrix Breakdown in the Pond-Nuki
Model of Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 28, 554-561.
- Pelousse F. and Olette J. (1993).
Arthroscanner du Genou: Nouvelle Indication, l'Examen du Compartiment Fémoro-tibial.
Etude Comparative avec l'Arthrographie Classique en Simple Contraste.
Journal Belge de Radiologie, 76, 6, 377-381.

- Perman V., (1980).
Synovial Fluid.
In: Kaneko J.J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 3rd Edition.
Academic Press, New York, 749-783
- Peterfy C.G., Linares R. and Steinbach L.S. (1994).
Recent Advances in Magnetic Resonance Imaging of the Musculoskeletal System.
Radiologic Clinics of North America, 32, 291-311.
- Peyron J.G., (1987).
Epidémiologie et Génétique.
In: Simon L. and Loyau G. L'Arthrose: Réalités et Perspectives, Masson, Paris, 12-19
- Poirier J. and Ribadeau-Dumas J.-L. (1993).
Histologie, 4e Edition.
Masson, Paris, 273.
- Pond M.J. and Nuki J. (1973).
Experimentally-induced Osteoarthritis in the Dog.
Annals of the Rheumatic Diseases, 32, 4, 387-388.
- Price J.S., Symons J.A. and Russel R.G. (1992).
Cytokines: Inflammatory Mediators of Joint Disease.
Equine Veterinary Journal, 24, 2, 78-80.
- Pritzker K.P. (1994).
Animal Models for Osteoarthritis: Processes, Problems and Prospects.
Annals of the Rheumatic Diseases, 53, 406.
- Pullig O., Kladny B., Weseloh G. and Swoboda B. (1999).
Metabolic Activation of Chondrocytes in Human Osteoarthritis. Expression of Type II Collagen.
Zeitschrift für Orthopädie und Ihre Grenzgebiete, 137, 1, 67-75.
- Raberin F. (1997).
Imagerie des Ménisques et des Cartilages Fémoro-tibiaux. Intérêt et Place de l'Arthroscanner du Genou.
Thèse de Doctorat en Médecine, Faculté de Médecine Lyon Sud, Lyon,
- Reno C., Marchuk L., Sciore P., Franck C.B. and Hart D.A. (1997).
Rapid Isolation of Total RNA from Small Samples of Hypocellular, Dense Connective Tissues.
Biotechnology, 22, 1082.
- Rodkey W.G. and Mckinney L.A., (1993).
Review of Structure, Function, and Composition of Cartilage and Synovium.
In: Bojrab M.J. Disease Mechanisms in Small Animal Surgery, Lea & Febiger, Philadelphia, 649-655
- Rosner I.A., Goldberg V.M., Getzy L. and Moskowitz R.W. (1979).
Effects of Estrogen on Cartilage and Experimentally-induced Osteoarthritis.
Arthritis and Rheumatism, 22, 1, 52-58.

- Roy S. (1967).
Ultrastructure of Synovial Membrane in Osteoarthritis.
Annals of the Rheumatic Diseases, 26, 517-527.
- Ruberte J. and Sautet J (1998).
Atlas d'Anatomie du Chien et du Chat. 3 Abdomen, Bassin et Membre Pelvien, Université Autonome de Barcelone, Barcelona, 136.
- Rumph P.F., J.E. Lander, Kincaid S.A., Baird D.K., Kammermann J.R. and Visco D.M. (1994).
Ground Reaction Force Profiles from Force Platform Gait Analyses of Clinically Normal Mesomorphic Dogs at the Trot.
American Journal of Veterinary Research, 55, 776.
- Rumph P.F., Kincaid S.A., Visco D.M., J.E. Lander, Baird D.K. and Kammermann J.R. (1995).
Redistribution of Vertical Ground Reaction Force in Dogs with Experimentally-induced Chronic Hind Limb Lameness.
Veterinary Surgery, 24, 384.
- Ruwe P.A., Wright J. and Randall R.L. (1992).
Can MR Imaging Effectively Replace Diagnostic Arthroscopy?
Radiology, 183, 335-339.
- Safari M., Bjelle A., Gudmundsson M., Hogfors C. and Granhed H. (1990).
Clinical Assessment of Rheumatic Diseases using Viscoelastic Parameters for Synovial Fluid.
Biorheology, 27, 5, 659-674.
- Sah R.L., Yang A.S. and Chen A.C. (1997).
Physical Properties of Rabbit Articular Cartilage after Transection of the Anterior Cruciate Ligament.
Journal of Orthopaedic Research, 15, 197.
- Saïed A., Chérin E., Gaucher H., Laugier P., Gillet P., Floquet J., Netter P. and Berger G. (1997).
Assessment of Articular Cartilage and Subchondral Bone: Subtle and Progressive Changes in Experimental Osteoarthritis using 50 MHz Echography in vitro.
Journal of Bone and Mineral Research, 12, 9, 1378-1386.
- Sartoris D.J., Kursunoglu S., Pineda C., Kerr R., Pate D. and Resnick D. (1985).
Detection of Intra-articular Osteochondral Bodies in the Knee Using Computed Tomography.
Radiology, 155, 447-450,
- Saw S. and Mironowicz M. (15 mai 2005).
Joints, [en ligne].
Adresse: www.worldortho.com.

- Saxne T. and Heinegard D. (1995).
Matrix Proteins: Potential as Body Fluid Markers of Changes in the Metabolism of Cartilage and Bone in Arthritis.
Journal of Rheumatology (Suppl.), 43, 71.
- Schwartz E.R. (1980).
Metabolic Response during Early Stage of Surgically-induced Osteoarthritis in Mature Beagles.
Journal of Rheumatology, 7, 6, 788-800.
- Setton L.A., Mow V.C., Müller F.J., Pita J.C. and Howell D.S. (1994).
Mechanical Properties of Canine Articular Cartilage are Significantly Altered Following Transection of the Anterior Cruciate Ligament.
Journal of Orthopaedic Research, 12, 451.
- Setton L.A., Mow V.C., Müller F.J., Pita J.C. and Howell D.S. (1997).
Mechanical Behavior and Biochemical Composition of Canine Knee Cartilage Following Periods of Joint Disuse and Disuse with Remobilization.
Osteoarthritis and Cartilage, 5, 1.
- Shands A.R. Jr. (1931).
The Regeneration of Hyaline Cartilage in Joints: an Experimental Study.
Archives of Surgery, 22, 137.
- Shapiro F. and Glimcher M.J. (1980).
Induction of Osteoarthritis in the Rabbit Knee Joint. Histological Changes Following Meniscectomy and Meniscal Lesions.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 147, 287-295.
- Shapiro F., Koide S. and Glimcher M.J. (1993).
Cell Origin and Differentiation in the Repair of Full-thickness Defects of Articular Cartilage.
Journal of Bone and Joint Surgery, 75A, 532.
- Sheehan D. and Hrapchak B. (1980).
Theory and Practice of Histotechnology, 2nd Edition.
Battelle Press, Ohio,
- Silver F.H. and Glasgold A.I. (1995).
Cartilage Wound Healing.
Otolaryngology Clinics of North America, 5, 847.
- Simon L., Blotman F., Claustre J. and Herisson C., (1989).
Pathologie Dégénérative. Les Arthroses des Membres. L'Arthrose.
In: *Rhumatologie*, Masson, Paris, 365-373
- Slatter D. (2003).
Textbook of Small Animal Surgery, 3rd Edition.
Saunders, Philadelphia, 1427.

- Smith G.N., Mickler E.A. and Brandt K.D. (1994).
Synthesis of a Phenotypically Abnormal Type XI: Type II Collagen Ratio by Chondrocytes from Canine Osteoarthritic Cartilage.
Osteoarthritis and Cartilage, 2, 3, 165-173.
- Smith M.M., Little C.B., Rodgers K. and Ghosh P. (1997).
Animal Models Used to Evaluate Anti-osteoarthritis Drugs.
Pathologie Biologie, 45, 313.
- Soder S., Hambach L., Lissner R., Kirchner T. and Aigner T. (2002).
Ultrastructural Localization of Type VI Collagen in Normal Adult and Osteoarthritic Human Articular Cartilage.
Osteoarthritis and Cartilage, 10, 6, 464-470.
- Spriet M.P., Girard C., Foster S., Holdsworth D.W. and Lavery S. (2005).
Validation of a 40 MHz B-Scan Ultrasound Backscatter Microscope for the Evaluation of Osteoarthritis Lesions in an Animal Model.
In: Surgeons the European College of Veterinary. Proceedings of a conference on: Annual Scientific Meeting of the ECVS, Marcy l'Etoile, July 7-9, 2005, 114-116.
- Stoop R., Buma P., Vanderkraan P.M., Hollander A.P., Billingham R.C., Meijers T.H., Poole A.R. and Vandenberg W.B. (2001).
Type II Collagen Degradation in Articular Cartilage Fibrillation after Anterior Cruciate Ligament Transection in Rats.
Osteoarthritis and Cartilage, 9, 4, 308-315.
- Stron H. and Svalastoga E. (1993).
A Quantitative Assessment of the Subchondral Changes in Osteoarthritis and its Association with Cartilage Degeneration.
Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology, 6, 198-201.
- Telhag H. (1972).
Mitosis of Chondrocytes in Experimental Osteoarthritis in Rabbits.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 86, 224-229.
- Tesche F. and Miosge N. (2005).
New Aspects of the Pathogenesis of Osteoarthritis: the Role of Fibroblast-like Chondrocytes in Late Stages of the Disease.
Histology and Histopathology, 20, 1, 329-337.
- Thomas R.H., Resnick C.D., Alazraki N.P., Dale D. and Greenfield R. (1975).
Compartmental Evaluation of Osteoarthritis of the Knee.
Radiology, 116, 585-594.
- Thonar E.J.M.A. and Manicourt D.H. (1994).
Les Marqueurs Biologiques de l'Arthrose.
Revue de Rhumatologie (Ed. Fr.), 61, 99-102.

Thonar E.J.M.A., Masuda K., Lenz M.E., Hauselmann H.J., Kuettner K.E. and Manicourt D.H. (1995).

Serum Markers of Systemic Disease Processes in Osteoarthritis.
Journal of Rheumatology (Suppl.), 43, 68.

Thonar E.J.M.A., Shinmei M. and Lohmander L.S., (1993).

Body Fluid Markers of Cartilage Changes in Osteoarthritis.
In: Moskovitz R.W. Rheumatic Disease Clinics of North America, W.B. Saunders, Philadelphia, 635-657

Trillat A. (avril 1971).

Les Lésions Méniscales Internes. Les Lésions Méniscales Externes. Chirurgie du Genou.
In: Proceedings of a conference on: Journées Lyonnaises de Chirurgie du Genou, Lyon (Villeurbanne), 1973, Simep,

Trippel S.B. and Mankin H.J., (1993).

Articular Cartilage Healing.
In: Bojrab J. Disease Mechanisms in Small Animal Surgery, 2nd Edition.
Lea & Febiger, Philadelphia, London,

Troyer H. (1982).

Experimental Models of Osteoarthritis: a Review.
Seminars in Arthritis and Rheumatism, 11, 362.

Tyrell R.L., Gluckert K., Pathria M. and Modic M.T. (1988).

Fast Three-dimensional MR Imaging of the Knee: Comparison with Arthroscopy.
Radiology, 166, 865-872.

Vachon A., Bramlage L.R., Gabel A.A. and Weisbrode S. (1986).

Evaluation of the Repair Process of Cartilage Defects of the Equine Third Carpal Bone with and without Subchondral Bone Perforation.
American Journal of Veterinary Research, 47, 2637.

Vandersluijs J.A., Geesnik R.G., Vanderlinden A.J., Bulstra S.K., Kujer R. and Drukker J. (1992).

The Reliability of the Mankin Score for Osteoarthritis.
Journal of Orthopaedic Research, 10, 58.

Vanosch G.J., Vanderkraan P.M., Blankevoort L., Huiskes R. and Vandenberg W.B. (1996).

Relation of Ligament Damage with Site Specific Cartilage Loss and Osteophyte Formation in Collagenase Induced Osteoarthritis in Mice.
Journal of Rheumatology, 23, 1227.

Vasseur P.B. and Arnoczky S.P. (1981).

Collateral Ligaments of the Canine Stifle Joint: Anatomic and Functional Analysis.
American Journal of Veterinary Research, 42, 1133-1138.

Vasseur P.B. and Berry C.R. (1992).

Progression of Stifle Osteoarthrosis Following Reconstruction of the Cranial Cruciate Ligament in 21 Dogs.
Journal of the American Animal Hospital Association, 28, 2, 129-136.

- Vasseur P.B., Pool R.R., Arnoczky S.P. and Al. (1985).
Correlative Biochemical and Histologic Study of the Cranial Cruciate Ligament in Dogs.
American Journal of Veterinary Research, 46, 1842-1854.
- Verdonk R. (1997).
Chirurgie Réparatrice des Ménisques du Genou.
Conférences d'Enseignement de la SOFCOT, 62, 269-280.
- Vignon E. and Arlot M. (1978).
Etude du Cartilage Articulaire et Arthrosique.
Revue de Rhumatologie et des Maladies Ostéoarticulaires, 45, 541-548.
- Vignon E., Conrozier T., Piperno M., Richard S., Carillon Y. and Fantino O. (1999).
Radiographic Assessment of Hip and Knee Osteoarthritis. Recommendations: Recommended Guidelines.
Osteoarthritis and Cartilage, 7, 434-436.
- Vignon E. and Mazières B., (1987).
Les Arthroses Expérimentales.
In: Simon L. and Loyau G. *L'Arthrose: Réalités et Perspectives*, Masson, Paris,
- Vilamitjana-Amédée J. and Harmand M.F. (1990).
Biochemical Analysis of Normal and Osteoarthritic Human Cartilage.
Clinical Physiology and Biochemistry, 8, 221-230.
- Vilensky J.A., O'connor B.L., Brandt K.D., Dunn E.A. and Rogers P.I. (1994).
Serial Kinematic Analysis of the Trunk and Limb Joints after Anterior Cruciate Ligament Transection. Temporal, Spatial and Angular Changes in a Canine Model of Osteoarthritis.
Journal of Electromyography and Kinesiology, 4, 181.
- Vilensky J.A., O'connor B.L., Brandt K.D., Dunn E.A. and Rogers P.I. (1997).
Serial Kinematic Analysis of the Canine Hindlimb Joints after Deafferentation and Anterior Cruciate Ligament Transection.
Osteoarthritis and Cartilage, 5, 173.
- Visco D.M., Hill M.A., Widmer W.R., Johnstone B., O'connor B.L. and Myers S.L. (1996).
Experimental Osteoarthritis in Dogs: a Comparison of the Pond-Nuki and Medial Arthrotomy Methods.
Osteoarthritis and Cartilage, 4, 9.
- Vondermark K., Kirsch T., Nerlich A., Kuss A., Weseloh G., Gluckert K. and Stoss H. (1992).
Type X Collagen Synthesis in Human Osteoarthritic Cartilage. Indication of Chondrocyte Hypertrophy.
Arthritis and Rheumatism, 35, 7, 806-811.
- Walker E.R., Boyd R.D., Wu D.D., Lukoschek M., Burr D.B. and Radin E.L. (1991).
Morphologic and Morphometric Changes in Synovial Membrane Associated with Mechanically Induced Osteoarthrosis.
Arthritis and Rheumatism, 34, 5, 515-523.

- Watson P.J., Carpenter T.A., Hall L.D. and Tyler J.A. (1996).
Cartilage Swelling and Loss in a Spontaneous Model of Osteoarthritis Visualized by
Magnetic Resonance Imaging.
Osteoarthritis and Cartilage, 4, 181.
- Welsch U. (2002).
Sobotta - Atlas d'histologie, 6e Edition.
Editions Médicales Internationales, Cachan, 261.
- Werner L.L. (1979).
Arthrocentesis and Joint Fluid Analysis: Diagnostic Applications in Joint Diseases of Small
Animals.
Compendium on Continuing Education for the Practicing Vet, 1, 855-862.
- Westacott C.I. and Sharif M. (1996).
Cytokines in Osteoarthritis: Mediators or Markers of Joint Destruction.
Seminars in Arthritis and Rheumatism, 25, 4, 254-272.
- Whitehair J.G., Vasseur P.B. and Willitis N.H. (1993).
Epidemiology of Cranial Cruciate Ligament Rupture in Dogs.
Journal of the American Veterinary Medical Association, 203, 7, 1016-1019.
- Widmer W.R., Buckwalter K.A., Braunstein E.M., Hill M.A., O'connor B.L. and Visco D.M.
(1994).
Radiographic and Magnetic Resonance Imaging of the Stifle Joint in Experimental
Osteoarthritis of Dogs.
Veterinary Radiology and Ultrasound, 35, 371.
- Wilkins R.J., (1981).
Joint Serology.
In: Bojrab M.J. Pathophysiology in Small Animal Surgery, Lea & Febiger, Philadelphia, 553-
556
- Williams J.M. and Brandt K.D. (1984).
Immobilization Ameliorates Chemically-induced Articular Cartilage Damage.
Arthritis and Rheumatism, 27, 208.
- Williams J.M., Downey C. and Thonar E.J. (1988).
Increase in Levels of Serum Keratan-sulfate Following Cartilage Proteoglycan Degradation
in the Rabbit Knee Joints.
Arthritis and Rheumatism, 31, 357.
- Williams J.M., Moran M., Thonar E.J. and Salter R.B. (1994).
Continuous Passive Motion Stimulates Repair of Rabbit Knee Articular Cartilage after
Matrix Proteoglycan Loss.
Clinical Orthopaedic and Related Research, 304, 252.
- Williams J.M., Ongchi D.R. and Thonar E.J. (1993).
Repair of Articular Cartilage Injury Following Intra-articular Chymopapain-induced Matrix
Proteoglycan Loss.
Journal of Orthopaedic Research, 11, 705.

Yoshioka M., Coutts R.D., Amiel D. and Hacker S.A. (1996).
Characterization of a Model of Osteoarthritis in the Rabbit Knee.
Osteoarthritis and Cartilage, 4, 87.

Yuehwei H. A., (1999).
Methods of Evaluation in Orthopaedic Animal Research.
In: Yuehwei H. A. and Friedman R. J. *Animals Models in Orthopaedic Research*, CRC Press,
85-114

Yuehwei H. A. and Friedman R. J., (1999).
Animals Models of Cartilage Defect.
In: Yuehwei H. A. and Friedman R. J. *Animals Models in Orthopaedic Research*, CRC Press,
309-325

NOM PRENOM : VERSET Michaël

TITRE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES LÉSIONS MACROSCOPIQUES ET HISTOLOGIQUES D'ARTHROSE DU GENOU 90 JOURS APRÈS RUPTURE CHIRURGICALE DU LIGAMENT CROISÉ ANTÉRIEUR CHEZ LE CHIEN

Thèse Vétérinaire : Lyon, le 19 octobre 2005

RÉSUMÉ :

La rupture de Ligament Croisé Antérieur (LCA) est la 1^{ère} cause d'arthrose et de boiterie du membre postérieur chez le chien. C'est aussi l'affection articulaire la plus fréquente chez le chien, associée à des signes cliniques graves, ainsi qu'un modèle expérimental d'arthrose. L'importance d'étudier les lésions d'arthrose de l'articulation du grasset de 21 chiens après rupture du LCA et de les comparer avec d'autres études similaires est donc clinique, expérimentale, ainsi que biologique.

L'analyse macroscopique des lésions montre que la taille des ostéophytes est décroissante depuis la trochlée fémorale, aux condyles médiaux du fémur, à ceux du tibia ; ceux des autres localisations anatomiques étant nuls voire petits ou discutables. Les lésions du cartilage articulaire du genou sont des lésions d'érosion superficielle, donc de même profondeur, mais d'étendue décroissante du condyle tibial médial, au latéral, au condyle fémoral latéral, à la trochlée fémorale, au condyle fémoral médial et enfin à la rotule. Les lésions méniscales sont présentes uniquement sur les ménisques médiaux de 5 chiens (soit 23,8%), dont 4 en "anse de seau" et 1 en "bec de perroquet".

L'analyse histologique des lésions montre que le cartilage articulaire en regard des ostéophytes des trochlées fémorales présente un tissu de recouvrement superficiel fibreux avec des remaniements d'intensité moyenne et une poussée osseuse depuis la profondeur peu avancée. Le cartilage des condyles tibiaux présente une couche superficielle avec des remaniements moyens, une érosion supérieure à la moyenne et une hypertrophie chondrocytaire peu avancée. Les membranes synoviales présentent des fibres de collagène dont la densité en profondeur, l'organisation et l'orientation indiquent des remaniements moyens. Le rapport épaisseur du mésothélium sur celle des fibres présente un score moyen. L'ImmunoHistoChimie (IHC) révèle la présence de collagène de type III, en région péri-cellulaire des chondrocytes dans la couche superficielle du cartilage articulaire chez 10 chiens. Les IHC collagènes de types I et II présentent des résultats nuls.

Les résultats obtenus sont proches de ceux issus d'autres études. Les biais, difficultés et inconvénients de l'étude, ainsi que les différents moyens d'évaluation de l'arthrose sont définis. L'intérêt de ce travail est de fournir des grilles d'évaluation macroscopique et histologique ainsi qu'un atlas photographique des lésions d'arthrose. Ces données pourront servir de référence à des études ultérieures d'efficacité de traitements anti-arthrosiques (anti-inflammatoires, chondroprotecteurs...)

MOTS CLES :

- lésions
- arthrose
- genou
- ligament croisé antérieur
- évaluation
- histologie
- immunohistochimie

JURY :

- Président : Monsieur le Professeur Jean-Paul CARRET
- 1^{er} Assesseur : Monsieur le Professeur Eric VIGUIER
- 2^{ème} Assesseur : Monsieur le Professeur Thierry ROGER

DATE DE SOUTENANCE : 19 octobre 2005

ADRESSE DE L'AUTEUR : 23, rue Thiergarten
67000 STRASBOURG