

2 m 11. 3529.4

Université de Montréal

**Effets de la prostaglandine D₂ (PGD₂)
sur les réponses inflammatoires et cataboliques
dans les chondrocytes humains**

par

Leandra Mfuna Endam

Département de pharmacologie

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès sciences (M. Sc.)
en Pharmacologie

Janvier 2007

© Leandra Mfuna Endam, 2007



W
4

U58

2007

v.095

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Effets de la prostaglandine D₂ (PGD₂)
sur les réponses inflammatoires et cataboliques
dans les chondrocytes humains**

présenté par :

Leandra Mfuna Endam

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Mohamed Benderdour

Président-rapporteur

Dr Hassan Fahmi

Directeur de recherche

Dre Johanne Martel-Pelletier

Codirecteur

Dr Muhammed Zafarullah

Membre du jury

RÉSUMÉ

Les prostaglandines sont généralement considérées comme des médiateurs pro-inflammatoires puissants, comme indique le terme « anti-inflammatoires non stéroïdiens », employé pour décrire les agents pharmacologiques qui bloquent la biosynthèse des prostaglandines. Particulièrement, la prostaglandine D₂ (PGD₂) exerce dépendamment du type cellulaire et de la maladie, des effets pro-inflammatoires et anti-inflammatoires, en se liant et en activant ses deux récepteurs transmembranaires distincts couplés à la protéine G, nommés DP-1 et CRTH2. Néanmoins, très peu d'études ont été faites sur l'implication de la PGD₂ au niveau de la régulation des réponses inflammatoires et cataboliques dans l'arthrose. Par ailleurs, l'interleukine-1 β (IL-1 β) joue un rôle crucial dans la physiopathologie de l'arthrose, en induisant les chondrocytes, seul type cellulaire du cartilage, à produire excessivement des métalloprotéinases (MMPs) et de l'oxyde nitrique (NO). Ces dernières molécules sont impliquées dans la dégénération du cartilage.

Les objectifs de ce projet de recherche sont, d'une part, de déterminer les effets de la PGD₂ sur l'induction par IL-1 β de l'expression des métalloprotéinases MMP-1 et MMP-13, de l'enzyme de synthèse de NO (iNOS), et de la production de NO. D'autre part, nous voulons examiner les mécanismes par lesquels la PGD₂ exerce ces effets : à savoir la stimulation des deux récepteurs membranaires de la PGD₂, et les voies des MAPKs et de NF- κ B.

Notre étude a démontré que la PGD₂ inhibe l'induction par IL-1 β de l'expression de MMP-1, MMP-13 et iNOS, et de la production de NO. En utilisant la PCR en temps réel, l'immunobuvardage et l'immunohistochimie, nous avons démontré que les ARNm et les protéines de DP-1 et de CRTH2 sont exprimés dans les chondrocytes articulaires humains. Nous sommes les premiers à montrer la capacité des chondrocytes humains à produire le CRTH2. Nos résultats ont également montré que BW245C (agoniste sélectif de DP-1), mais pas DK-PGD₂ (agoniste sélectif de CRTH2), diminue l'induction par IL-1 β de l'expression de MMP-1, MMP-13; ni BW245C, ni DK-PGD₂, n'affectent l'expression d'iNOS et la production de NO; et enfin que la PGD₂ n'induit pas de changements au niveau des voies de signalisation des MAPKs et de NF- κ B.

Les résultats de cette étude démontrent que la PGD₂ inhibe des facteurs cataboliques majeurs comme MMP-1, MMP-13 et NO ; et suggèrent que l'effet sur MMP-1 et MMP-13, passe par le récepteur DP-1. En revanche, l'effet de la PGD₂ sur l'expression et l'activité d'iNOS, ne peut s'expliquer par les stimulations de ces deux récepteurs membranaires. De la même manière, la PGD₂ ne semblerait pas induire ses effets via des voies des MAPKs et de NF- κ B. Néanmoins, ce projet a permis une meilleure compréhension du rôle que peut jouer la PGD₂ dans l'arthrose, et pourrait susciter de l'intérêt pour la recherche qui cible les facteurs cataboliques comme nouveaux médicaments thérapeutiques de l'arthrose.

Mots-clés : Arthrose, Prostaglandine D₂, IL-1 β , MMP-1, MMP-13, NO, DP-1, CRTH2, MAPKs et NF- κ B

ABSTRACT

Prostaglandins are generally considered to be potent pro-inflammatory mediators, as indicated by the term «non-steroidal anti-inflammatory drugs» used to describe pharmacological agents that block the biosynthesis of prostaglandin. In particular, prostaglandin D₂ (PGD₂) exerts pro-inflammatory and anti-inflammatory effects by binding and activating two distinct G-protein-coupled receptors, namely DP-1 and CRTH2, depending on cellular type and disease. Nevertheless very few studies have been done on the implication of PGD₂ on the regulation of inflammatory and catabolic responses in human OA. Moreover, interleukin-1 β (IL-1 β) plays a crucial role in the physiopathology of OA by inducing chondrocytes, the only cellular type of cartilage to produce an excessive level of matrix metalloproteinases (MMPs) and nitric oxide (NO). The latter are involved in the degeneration of cartilage.

The objectives of this research project are, on the one hand, to determine the effects of PGD₂ on IL-1 β induction of MMP-1, MMP-13, inducible nitric oxide synthase (iNOS) expressions, and NO production. On the other hand, to examine by which mechanisms PGD₂ has these effects: stimulation of PGD₂ membrane receptors, and MAPKs and NF- κ B signaling pathways.

Our study showed that PGD₂ inhibits IL-1 β -induced MMP-1, MMP-13, iNOS expression and NO production. Using real time quantitative PCR, western blot, and immunohistochemistry, we demonstrated that DP-1 and CRTH2 are expressed in human articular chondrocytes at the mRNA and protein levels. We were the first to show the capacity of human chondrocytes to produce CRTH2. Our results also showed that BW245C (selective DP-1 agonist), but not DK- PGD₂ (selective CRTH2 agonist), inhibits IL-1 β -induced MMP-1 and MMP-13; neither BW245C nor DK- PGD₂, affect iNOS expression and NO production. Finally, PGD₂ does not induce changes in MAPKs and NF- κ B signaling pathways.

The findings of this study demonstrate that PGD₂ inhibits major catabolic factors such as MMP-1, MMP-13 and NO; and suggest that the effect on MMP-1 and MMP-13 occurs via the DP-1 receptor. In contrast, the effect of PGD₂ on iNOS expression and activity could not be explained by either membrane receptor stimulations. Similarly, PGD₂ does not seem to induce its effects by MAPKs and NF- κ B pathways. Nevertheless, this project has permitted a better comprehension of the role of PGD₂ in OA, and may arouse interest in studies which target catabolic factors as new therapeutic drugs of OA.

Keywords : Osteoarthritis, Prostaglandin D₂, IL-1 β , MMP-1, MMP-13, NO, DP-1, CRTH2, MAPKs et NF- κ B

TABLES DES MATIÈRES

PAGE DE TITRE.....	i
IDENTIFICATION DU JURY.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii-iv
ABSTRACT.....	v-vi
TABLE DES MATIÈRES.....	vii-x
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
LISTE DES FIGURES.....	xii-xiii
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	xiv-xvii
DÉDICACE.....	xviii
REMERCIEMENTS.....	xix-xx
<u>Partie A.</u> INTRODUCTION.....	1-42
I. ARTHROSE.....	1-28
1. DÉFINITION DE LA PATHOLOGIE.....	2
2. LOCALISATION DE L'ARTHROSE.....	2-3
2.1 Arthrose du genou.....	2-3
2.2 Arthrose de la hanche.....	3
3. ÉPIDÉMIOLOGIE.....	3-8
3.1 Facteurs de risques.....	3-7
3.1.1 Facteurs de risques systémiques.....	3-6
a) L'âge	3-4

b) Le sexe et les hormones.....	4
c) La densité osseuse.....	4
d) La génétique.....	4-5
e) Les facteurs nutritionnels.....	5
f) Les facteurs métaboliques.....	5
g) L'ethnicité.....	6
3.1.2 Facteurs de risques biomécaniques.....	6-7
a) L'obésité.....	6-7
b) Les blessures et les déformations des articulations.....	7
c) L'excès d'activité physique.....	7
3.2 Impacts socio-économiques.....	7-8
4. SYMPTÔMES.....	9
5. PHYSIOPATHOLOGIE.....	9-20
5.1 Cartilage.....	11-17
5.1.1 Différents types de cartilage.....	11-12
5.1.2 Structure du cartilage articulaire.....	12-13
5.1.3 Composition.....	14-16
5.1.3.1 Chondrocytes.....	14
5.1.3.2 Matrice extracellulaire ou MEC.....	14-16
5.1.4 Cartilage arthrosique.....	16-17
5.2 Membrane synoviale.....	18
5.3 Os sous-chondral.....	18-19
5.4 Cavité articulaire.....	20
6. TRAITEMENTS.....	20-28
6.1 Traitements pharmacologiques.....	20-24
6.1.1 Traitements généraux.....	20-22
6.1.2 Traitements à faibles actions.....	22-23
6.1.3 Thérapies locales.....	23-24
6.2 Traitements non pharmacologiques.....	25-26
6.3 Chirurgie.....	26-27
6.4 Traitements alternatifs.....	28

II. PROSTAGLANDINES.....	28-38
1. STRUCTURE ET DISTRIBUTION TISSULAIRE.....	28-29
2. BIOSYNTHESE DES PROSTAGLANDINES.....	29-31
3. PROSTAGLANDINE D ₂	32-36
3.1 Enzymes de synthèse.....	32
3.2 Récepteurs.....	32-35
3.2.1 Récepteurs membranaires.....	32-34
3.2.1.1 DP-1.....	32-33
3.2.1.2 CRTH2.....	34
3.2.2 Récepteur nucléaire : PPAR γ	35
3.3 Fonctions connues de DP-1et CRTH2.....	35-36
4. AUTRES PROSTAGLANDINES : PGE ₂ , PGF ₂ α , TXA ₂ , et PGI ₂	37-38
III. INTERLEUKINE-1 BÊTA.....	39-42
1. STRUCTURE ET RÉCÉPTEURS.....	39
2. VOIES DE SIGNALISATIONS.....	40-42
2.1 MAPKs.....	40-41
2.2 NF- κ B.....	41-42
<u>Partie B. OBJECTIFS DE LA RECHERCHE.....</u>	43-45
<u>Partie C. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....</u>	46-53
1. Réactifs et anticorps.....	46
2. Sélection des spécimens et culture des chondrocytes.....	47-48
3. Traitements administrés.....	48
4. Immunobuvardage.....	48-49
5. Dosage de l'oxyde nitrique (NO).....	50
6. Extraction de l'ARN et RT-PCR.....	50
7. PCR en temps réel.....	51
8. Immunohistochimie.....	51-53
9. Analyses statistiques.....	53

<u>Partie D. RÉSULTATS</u>	54-67
I. EFFETS DE LA PGD₂	54-57
1. EXPRESSIONS DES PROTÉINES MMP-1 et MMP-13.....	54-55
2. PRODUCTION DE NO ET EXPRESSION PROTÉIQUE D'iNOS.....	55-57
II. ÉTUDES DES MÉCANISMES IMPLIQUÉS	58-67
1. RÉCEPTEURS IMPLIQUÉS.....	58-64
1.1 Expressions des récepteurs membranaires de la PGD ₂	58-60
1.2 Effets des agonistes spécifiques des récepteurs de la PGD ₂	61-64
1.2.1 Expression des protéines MMP-1 et MMP-13.....	61-62
1.2.2 Production de NO et expression protéique d'iNOS.....	62-64
2. VOIES DE SIGNALISATION INDUISANT LA SYNTHÈSE DE MMP-1, MMP-13, ET iNOS.....	65-67
2.1 Voies des MAPKs (p38, JNK, et Erk).....	65-66
2.2 Voie de NF-κB.....	67
<u>Partie E. DISCUSSION ET PERSPECTIVES</u>	68-78
<u>Partie F. CONCLUSION</u>	79
BIBLIOGRAPHIE	80-100

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Propriétés pharmacologiques des récepteurs membranaires de la PGD₂

Tableau II. Effets biologiques de la PGD₂ via chacun de ses récepteurs membranaires

Tableau III. Résumé des rôles physiologiques dans les systèmes d'organes

LISTE DES FIGURES

Figures dans la partie section Introduction

Figure 1. Structure articulaire affectée par l'arthrose

Figure 2. Structure simplifiée du cartilage articulaire

Figure 3. Structure chimique de l'acide prostanoïque

Figure 4. Biosynthèse des prostanoïdes

Figures dans la section Résultats

Figure 1. Inhibition par la PGD₂ de l'induction des protéines MMP-1 et MMP-13 médiée par IL-1 β dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 2. Diminution de la production de NO par la PGD₂ dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 3. Inhibition par la PGD₂ de l'induction de l'expression protéique d'iNOS médiée par IL-1 β dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 4. Expressions des ARNm (A) et des protéines (B) des récepteurs DP-1 et CRTH2 dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 5. Expressions des récepteurs DP-1 et CRTH2 de la PGD₂ dans le cartilage normal (n=5) et le cartilage OA (n=5)

Figure 6. Effets de BW245C et DK-PGD₂ agonistes spécifiques respectifs de DP-1 et CRTH2 sur l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13 dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 7. Effets de BW245C et DK-PGD₂ agonistes spécifiques et respectifs de DP-1 et CRTH2 sur la production de NO dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 8. Effets de BW245C et DK-PGD₂ agonistes spécifiques et respectifs de DP-1 et CRTH2 sur l'expression protéique d'iNOS dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 9. Effets de la PGD₂ sur la voie de signalisation des MAPKs dans les chondrocytes arthrosiques humains

Figure 10. Effets de la PGD₂ sur la voie de signalisation NF-κB dans les chondrocytes arthrosiques humains

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	Adénine
AA	Acide Arachidonique
AAS	Acide Acétylsalicylique
ACR	<i>American College of Rheumatology</i> ou Collège Américain de Rhumatologie
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AINS	Anti-inflammatoires Non-stéroïdiens
AMPc	Adénosine Monophosphate Cyclique
AP-1	<i>Activating Protein-1</i> ou protéine activatrice-1
ARN	Acide Ribonucléique
ARNm	ARN Messenger
ATP	Adénosine Triphosphate
C	Cytosine
C/EBP	<i>CCAAT/Enhancer Binding Protein</i>
CBP	Protéine de liaison de CREB
COX	Cyclooxygénase
CO ₂	Dioxyde de carbone
CRE	Élément de Réponse de l'AMPc
CREB	<i>cAMP-Response Element-Binding protein</i> ou Protéine de liaison de l'élément de réponse de l'AMPc
CRTH2	<i>Chemoattractant Receptor Homologous molecule expressed on Th2 cells</i> ou Molécule homologue de récepteur de chimiotactique exprimée sur les cellules Th2
DEPC	Diéthylpyrocarbonate
DHA	Acide Docosahéxaénoïque
DK-PGD ₂	13, 15-dihydro-15-keto-PGD ₂
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>

DP-1	Premier Récepteur de la prostaglandine D ₂
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétraacétique
Egr-1	<i>Early Growth Response factor-1</i> ou Facteur de réponse de croissance précoce
EP	Récepteur de la prostaglandine E ₂
EPA	Acide Eicopentaenoïque
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
EULAR	<i>European League Against Rheumatism</i> ou Ligue Européenne Contre le Rhumatisme
G	Guanine
GAPDH	Glycéraldéhyde-3-Phosphate Déshydrogénase
GPCR	Récepteurs couplés à la protéine G
GSH	Glutathione
GST	Gluthathione-S-transférase
H ₂ O ₂	Peroxyde d'Hydrogène
H ₃ PO ₄	Acide phosphorique
H-PGDS	Prostaglandine D ₂ Hématopoïétique
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
IFN-γ	Interféron Gamma
IGF	Facteur de croissance analogue à l'insuline
I-κB	Inhibiteur de κB
IKK	Kinases de l'inhibiteur de κB
IL-1β	Interleukine-1 bêta
IL-1Ra	Antagoniste du récepteur de l'IL-1
IMC	Indice de Masse Corporelle
JNK	<i>c-Jun NH₂-terminal Kinases</i>
L-PGDS	Prostaglandine D ₂ Lipocaline
LPS	Lipopolysaccharide

MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MEC	Matrice extracellulaire
MMP	<i>Matrix Metalloproteinase</i> ou Métalloprotéinase Matricielle
NaCl	Chlorure de sodium
NaF	Fluorure de sodium
NF- κ B	Facteur de transcription nucléaire κ B
NIK	<i>NF-κB – Inducing Kinase</i>
NO	Monoxyde d'azote ou Oxyde Nitrique
NOS	Oxyde Nitrique Synthase
eNOS	Oxyde Nitrique Synthase endothéliale
iNOS	Oxyde Nitrique Synthase Inductible
nNOS	Oxyde Nitrique Synthase neuronale
OA	Arthrose
OMS	Organisation Mondiale de la Santé ou <i>World Health Organization (WHO)</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PG	Prostaglandine
PGD ₂	Prostaglandine D ₂
PGE ₂	Prostaglandine E ₂
PGES	Prostaglandine E Synthase
cPGES	Prostaglandine E Synthase Cytosolique
mPGES	Prostaglandine E Synthase Membranaire
PGF _{2α}	Prostaglandine F _{2α}
PGG ₂	Prostaglandine G ₂
PGH ₂	Prostaglandine H ₂
PGHS	Prostaglandine Endoperoxide H Synthase
PGI ₂	Prostaglandine I ₂
15d-PGJ ₂	15-deoxy- Δ 12, 14-prostaglandine J ₂
PMSF	Fluorure phénylméthylsulfonyl

POX	Peroxydase
PPAR	<i>Perosisome Proliferator-Activated Receptor</i> ou Récepteur des activateurs de proliférateur de peroxyosome
RXR	Récepteur X de l'Acide 9-cis-rétinoïque
R-PGD ₂	15- <i>R</i> -methyl-PGD ₂
SBF	Sérum Bovin Foetal
T	Thymine
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor</i> β ou Facteur de croissance transformant β
Th2	<i>T helper 2</i>
TIMP	Tissus Inhibitors of Metalloproteinases ou Inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinases
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor</i> α ou Facteur de nécrose tumorale α
TXA ₂	Thromboxane A2

*Je dédie ce mémoire à ma famille
adorée, et particulièrement à mes
parents.*

REMERCIEMENTS

Je veux remercier particulièrement mon Directeur, Dr Hassan Fahmi qui a su m'apporter l'encadrement, les connaissances, les ressources, l'encouragement et le support financier nécessaires à la réalisation de mon projet de maîtrise. Travailler sous sa supervision a été d'un enrichissement fort apprécié.

Je désire également remercier ma codirectrice de recherche, Dre Johanne Martel-Pelletier, de m'avoir permise d'effectuer mes travaux à l'Unité de recherche en arthrose, ainsi que pour son soutien, sa disponibilité, son esprit d'ouverture et sa confiance.

Ma reconnaissance va également au Dr Jean-Pierre Pelletier, et à l'équipe de chercheurs entourant le Dr Hassan Fahmi. Je voudrais aussi remercier toutes les personnes qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet de maîtrise. Mes remerciements à Afif, Saranette, Katherine, Xinfang, et Nathalie pour leur aide inestimable, leur bonne humeur et leur attention envers moi. Je voudrais exprimer mon appréciation à Christelle, ChangShan, François, Cyril et Martin pour toutes leurs réponses à mes milliers de questions sur les différentes techniques utilisées dans mes travaux.

Je remercie les membres formant le jury d'examen de mon mémoire, soit Dr Mohamed Benderdour et Dr Muhammed Zafarullah. Je voudrais également remercier la Faculté des études supérieures pour les différentes bourses offertes.

Enfin, je tiens énormément à remercier toute ma famille pour son amour, son appui inconditionnel et ses encouragements, qui m'ont permis de poursuivre mes études jusqu'à ce jour.

PARTIE A. INTRODUCTION

I. ARTHROSE

L'arthrose (OA) est la forme d'arthrite la plus courante dans le monde, et représente une des causes majeures de morbidité et d'invalidité. D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'arthrose est l'une des dix maladies les plus invalidantes dans les pays développés. L'OMS estime qu'à l'échelle mondiale 9.6% des hommes et 18% des femmes âgés de plus de 60 ans en souffrent (WHO, 2001).

En 2002, 13.2, 14.5 et 6.6 millions de cas d'arthrose ont été diagnostiqués respectivement aux États-Unis, en Europe et au Japon. Particulièrement au Canada, l'arthrose touche une personne sur dix dans l'ensemble de la population, soit environ 3 millions de Canadiens (Bardin et al, 2005; Wieland et al, 2005; Mallette, 2006).

Dans les prochaines années, la tendance est à la hausse en ce qui concerne l'arthrose pour la plupart des pays à travers le monde. Ceci est d'autant plus justifié vu le vieillissement croissant de la population. Les épidémiologistes estiment que la prévalence totale de cas d'arthrose aux États-Unis, en Europe et au Japon, augmentera de 34.3 millions en 2002 à 36.5 millions en 2007 et à 38.6 millions en 2012. En ce qui concerne le Canada, tout porte à croire d'après les épidémiologistes, qu'il y aura annuellement environ 100 000 nouveaux cas d'arthrite durant les 30 prochaines années, soit une augmentation d'un million par décennie (Arthroscopie, 2003; Wieland et al, 2005; Mallette, 2006).

1. DÉFINITION DE LA PATHOLOGIE

L'arthrose est une maladie rhumatismale, couramment définie par le Collège américain de rhumatologie comme étant un groupe hétérogène de conditions qui conduit à des symptômes associés à la dégradation progressive du cartilage et à des changements de l'os sous-chondral de l'articulation (Altman et al, 1986; Buckwalter et al, 1997; Wieland et al, 2005).

2. LOCALISATION DE L'ARTHROSE

L'arthrose est une maladie dégénérative qui peut toucher n'importe quelle articulation du corps. Cependant, les articulations les plus affectées sont celles du genou, de la hanche, des mains et de la colonne vertébrale (Buckwalter et al, 1997; Wieland et al, 2005). Nous détaillerons uniquement dans ce qui suit, l'arthrose du genou et de la hanche, domaines ciblés de ce projet de recherche.

2.1 Arthrose du genou

L'arthrose du genou, aussi appelée gonarthrose, est l'arthrose périphérique la plus fréquente. L'arthrose du genou peut atteindre trois compartiments du genou, on parle alors de :

- ❖ l'arthrose fémoro-patellaire touchant l'articulation située entre la rotule et le fémur;

- ❖ l'arthrose fémoro-tibiale interne affectant la partie interne de l'articulation située entre le tibia et le fémur;
- ❖ l'arthrose fémoro-tibiale externe affectant la partie externe de l'articulation située entre le tibia et le fémur (Bardin et al, 2005; Wieland et al, 2005).

2.2 Arthrose de la hanche

L'arthrose de la hanche ou coxarthrose est l'arthrose de l'articulation coxo-fémorale située entre la partie supérieure du fémur et le bassin. La coxarthrose est la deuxième localisation d'arthrose périphérique en terme de fréquence (Bardin et al, 2005; Wieland et al, 2005).

3. ÉPIDÉMIOLOGIE

3.1 Facteurs de risques

La cause exacte de l'arthrose est inconnue. Cependant, plusieurs facteurs aggravants sont à considérer pour comprendre comment elle se développe.

3.1.1 Facteurs de risques systémiques

- a) L'âge : il est reconnu comme le facteur de risque le plus important. Bien que l'arthrose puisse apparaître à tout âge, les personnes âgées sont les plus à risques de la développer (Berenbaum, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005; Arden et al, 2006). En

effet, des études ont montré que la prévalence de l'arthrose augmente après l'âge de 40 ans et de 50 ans respectivement chez les femmes et chez l'homme. Près de 50% de personnes âgées de 65 ans et plus, et 85% de personnes âgées de 75 ans et plus, en sont affectées (Felson, 1995).

- b) Le sexe et les hormones: les femmes sont les plus sujettes à développer l'arthrose (Berenbaum, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005; Arden et al, 2006). Cependant, certaines études montrent que la fréquence de l'arthrose de la hanche augmente de la même manière chez l'homme et chez la femme. Néanmoins, l'arthrose de la hanche apparaît plus tôt chez la femme. Les oestrogènes auraient un effet protecteur contre l'arthrose (McAlindon et al, 1996; Nevitt, 1996; Felson et al, 1998), ce qui expliquerait la fréquence élevée de l'arthrose chez les femmes ménopausées.
- c) La densité osseuse: plusieurs études suggèrent que la sclérose de l'os sous-chondral élevée est associée avec une forte prévalence de l'arthrose du genou et de l'arthrose de la hanche (Lane et al, 1999; Sharma et al, 2006).
- d) La génétique : des évidences nous poussent à penser qu'il y aurait une composante génétique à considérer. Il est important de noter que les facteurs génétiques comptent pour au moins 50% des cas d'arthrose de la hanche et des mains, mais une faible proportion des cas d'arthrose du genou (Wright et al, 1996). Plusieurs gènes

candidats sont associés à l'arthrose comme, par exemple, la région HLA, les gènes codant pour le procollagène de type II (Col2A), pour le facteur I de croissance de l'insuline, etc (Berenbaum, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005; Arden et al, 2006). D'autres études suggèrent que les locus liés à l'arthrose se situeraient dans une région des chromosomes 2q et 11q (Wright et al, 1996; Chapman et al, 1999).

- e) Les facteurs nutritionnels : l'hypothèse selon laquelle l'arthrose est augmentée par les dommages oxydatifs du cartilage et d'autres tissus articulaires via les radicaux oxygénés produits par des chondrocytes arthrosiques, suggèrerait la possibilité d'un rôle joué par les radicaux libres provenant de l'alimentation. De plus, une alimentation riche en vitamines C, D et E protégerait contre la progression de l'arthrose chez les personnes âgées (Bardin, 2005; Arden et al, 2006).

- f) Les facteurs métaboliques : l'hyperglycémie a été associée à une augmentation de la sévérité et la fréquence de l'arthrose. Des maladies métaboliques peuvent être responsables du développement de l'arthrose : par exemples la maladie de Paget entraîne l'arthrose secondaire par des déformations osseuses et articulaires; et la goutte peut être en cause dans les arthroses exubérantes par le dépôt et l'accumulation d'acide urique au niveau des articulations (Cimmino et al, 1990; Berenbaum, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005).

g) L'ethnicité : il n'y a pas de consensus quand à l'implication de la race dans le développement de la gonarthrose et de la coxarthrose chez les Africains – Américains et les Caucasiens (Berenbaum, 2001). Cependant une étude suggère que la prévalence de l'arthrose du genou est le plus élevée chez les femmes de couleur noire et non chez les hommes (Spector et al, 1996), tandis qu'une autre étude (Clark et al, 1999) ne montre aucune différence. Néanmoins, l'étude de Clark et al (1999) montre que les hommes de couleur noire ont probablement 35% plus de chance d'avoir l'arthrose de la hanche que les hommes de couleur blanche.

3.1.2 Facteurs de risques biomécaniques

En dépit des facteurs de risques systémiques, il existe aussi des facteurs de risque locaux biomécaniques considérables. Ces derniers en affectant la structure des articulations, pourraient augmenter un stress local sur le cartilage et ainsi contribuer au développement de l'arthrose.

a) L'obésité : il est bien établi dans la littérature que l'obésité est un facteur de risque pour l'arthrose du genou et l'arthrose de la hanche. Autrement dit, les gens ayant une surcharge de poids ont une prévalence élevée de la gonarthrose et de la coxarthrose. Une charge pondérale excessive exerce donc une pression sur les articulations, favorisant ainsi la dégradation du cartilage (Berenbaum, 2001; Coggon et al, 2001; Arden et al, 2006). Plus particulièrement, l'étude de

Framingham a révélé que les femmes ayant perdu 11 livres, diminuent de 50% le risque de développer l'arthrose du genou (Felson et al, 1992).

- b) Les blessures et les déformations des articulations : des traumatismes (ex. fractures, dislocation, lésions, etc.) aigus et répétitifs, des malformations congénitales ou acquises modifiant la morphologie des articulations, pourraient accroître le risque d'être atteint d'arthrose (Felson et al, 2000; Berenbaum, 2001).

- c) L'excès d'activité physique : la santé du cartilage et même celle d'autres tissus articulaires nécessitent un entretien régulier. L'intensité ou même la fréquence extrême d'exercices sportifs, contribue au développement de l'arthrose. De plus, certains métiers (ex. fermiers, constructeurs, miniers, etc), et des activités de loisir nécessitant un effort physique accru, peuvent favoriser l'augmentation du risque de développer l'arthrose du genou et l'arthrose de la hanche (Buckwalter et al, 1995; Lequesne et al, 1997; Lievense et al, 2003; Sharma et al, 2006).

3.2 Impacts socio-économiques

L'arthrose affecte lourdement la qualité de vie des personnes atteintes. En effet, les symptômes éprouvés, particulièrement la douleur, réduisent la capacité des patients dans leurs activités professionnelles, familiales, de loisirs et autres. D'après l'OMS, l'arthrose

limite les mouvements des patients atteints dans 80% des cas, et 25% se voient dans l'incapacité d'exercer des tâches de la vie quotidienne (WHO Global, 2001). Au Canada, un sondage révèle que les patients atteints d'arthrite ont dû, soit rester alités, soit réduire leurs activités beaucoup plus souvent que les personnes atteintes d'autres maladies chroniques : plus de 8% de patients arthritiques ont eu 11 à 14 jours d'incapacité à vaquer à leurs activités, par rapport à 4% de ceux atteints d'autres maladies chroniques (Arthroscopie, 2003).

Les maladies chroniques comme l'arthrose engendrent des coûts directs et indirects aux gouvernements, mais aussi aux patients. Les coûts directs incluent les consultations, les traitements, les hospitalisations, les soins paramédicaux, les examens complémentaires, et les adaptations de domicile, s'il y a lieu. Par contre, les coûts indirects englobent les arrêts de travail, les pertes d'emploi, l'invalidité chronique, les accidents de travail, la retraite anticipée et la baisse de rendement. En 1998, le Canada a déboursé pour l'arthrite un montant s'élevant à presque 4.4 milliards de dollars, soit environ 908.8 millions en coûts directs et 3.5 milliards en coûts indirects (Arthroscopie, 2003). De plus, Reginster et al rapportent que les charges économiques totales de l'arthrite sont de 1% à 2.5% du produit national brut des Pays de l'Ouest, et que l'arthrose compte pour la majeure partie de ce fardeau économique. En considérant que l'arthrose est la forme d'arthrite la plus fréquente, elle devient subséquemment une des maladies les plus coûteuses sur le plan socio-économique.

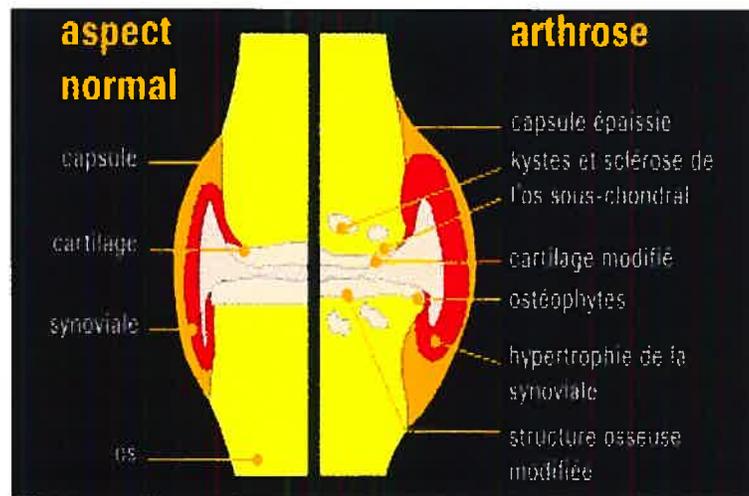
4. SYMPTÔMES

La douleur est le principal symptôme de l'arthrose, qui pousse le patient à consulter un médecin. Elle est soit d'origine mécanique, soit d'origine inflammatoire. Par exemple, la douleur peut être ressentie au niveau de la face interne ou externe du genou, de l'arrière du genou (creux poplité). Quant à l'arthrose de la hanche, la douleur est concentrée dans le pli de l'aîne ou au niveau de la fesse et peut descendre vers l'avant-cuisse, voire même le genou. Autrement dit, la douleur peut se loger dans la zone arthrosique ou s'étendre à distance de l'articulation (os, muscles, tendons, etc.). La douleur et la gêne sont accentuées durant la marche ou d'autres mouvements, et même en position assise (cas de l'arthrose de la hanche). La gêne affecte la mobilité de l'articulation atteinte par l'arthrose. De plus, une perte de souplesse avec une diminution de l'ampleur des mouvements peut également être observée. Le gonflement ou l'enflure, des craquements, etc., sont également d'autres symptômes qui peuvent se manifester (Hochberg, 2001; Wieland et al, 2005; Bardin et al, 2005).

5. PHYSIOPATHOLOGIE

L'articulation normale se compose de quatre éléments principaux : le cartilage, la membrane synoviale, l'os sous-chondral et la cavité articulaire. Une articulation atteinte d'arthrose voit ces composantes affectées (Fig. 1). En effet, l'arthrose est caractérisée par une dégénération du cartilage articulaire dans lequel la dégradation entraîne la fibrillation

de la matrice, l'apparition de fissures, d'ulcérations et d'érosion de la surface articulaire. Des changements hypertrophiques de l'os avec la formation d'ostéophytes (excroissances de l'os s'étendant dans la cavité articulaire) et une atteinte de l'os sous-chondral, s'en suivent. L'inflammation de la membrane synoviale peut également être observée (Buckwalter et al, 1997; Martinek, 2003; Martel-Pelletier, 2004; Wieland et al, 2005).



Source : http://www.liguerhumatisme-vaud.ch/_a/lvr/_imgGlob/arthrose.gif

Figure 1. Structure articulaire affectée par l'arthrose. L'articulation normale ne présente aucune fissure ni signes d'inflammation. Par contre, l'articulation atteinte d'arthrose révèle la dégradation progressive du cartilage pouvant conduire à l'érosion très poussée du cartilage, l'inflammation de la membrane synoviale et la condensation de l'os sous-chondral avec la formation d'ostéophytes.

5.1 Cartilage

Le cartilage normal est un tissu conjonctif blanchâtre, dense et élastique, qui recouvre l'extrémité de l'os. Il est aneural, alymphatique, avasculaire et nourri par le liquide synovial ou des vaisseaux sanguins de l'os sous-chondral. La nature avasculaire du cartilage articulaire explique la longue durée des phénomènes de cicatrisation se produisant en son sein. Il se compose de cellules appelées chondrocytes, et d'une matrice extracellulaire (MEC). Le cartilage possède des propriétés biomécaniques permettant une résistance aux contraintes de pressions et assurant un glissement entre les surfaces osseuses (Frenkel et al, 1999 ; Goldring, 2001; Wieland et al, 2005; Helga et al, 2006).

5.1.1 Différents types de cartilage

On distingue trois types de cartilage (McCartey et al, 1993; Buckwalter et al, 1997) :

- Le cartilage hyalin est le plus abondant de l'organisme. Le cartilage hyalin porte également le nom de cartilage articulaire. Il participe à la formation du nez, du larynx, de la trachée, des bronches et des voies bronchiques, et des articulations des extrémités des os longs.
- Le cartilage élastique est proche du cartilage hyalin de par sa composition. Néanmoins, il est plus riche en fibres élastiques ce qui lui confère une résistance accrue aux flexions répétées. Le cartilage élastique se trouve dans l'épiglotte, le pavillon auriculaire et les trompes d'Eustache.

- Le cartilage fibreux est constitué de tissu dont la nature se situe entre celle du cartilage hyalin et celle du tissu conjonctif. Le fibrocartilage est localisé dans la symphyse pubienne, dans les disques intervertébraux et dans les ménisques des genoux.

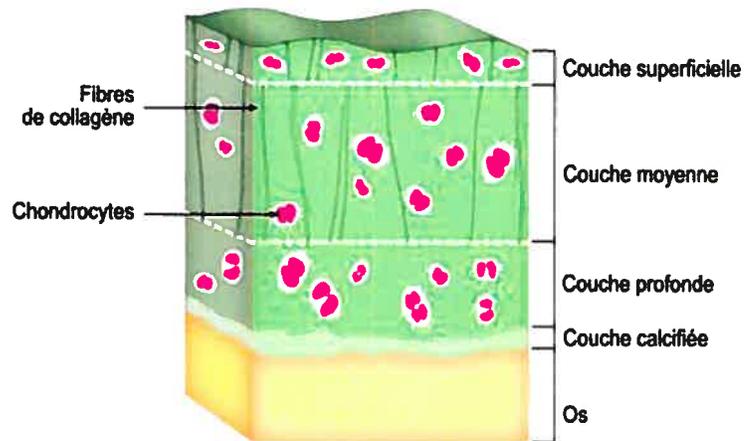
5.1.2 Structure du cartilage articulaire

Le tissu cartilagineux se divise en quatre couches principales distinctes (Fig. 2; Buckwalter et al, 1990; Gannon et al, 1991; McCartney et al, 1993; Buckwalter et al, 1997; Goldring, 2001).

- Une couche superficielle se divisant typiquement en deux couches : une première couche sans chondrocytes recouvrant la surface articulaire, et une seconde couche où des chondrocytes sont petits et plats. La concentration des collagènes (majoritairement le collagène de type II) est élevée alors que celle des protéoglycanes est basse.
- Une couche moyenne (couche de transition) où les chondrocytes ont une forme sphéroïdale et possèdent une plus forte concentration d'organelles synthétiques, de réticulum endoplasmique et de membranes de Golgi que ceux de la zone superficielle. Les fibrilles de collagènes ont un plus gros diamètre, mais sont présentes en moins haute concentration. On y retrouve les collagènes de types II, IX

et XI. De plus, la concentration de protéoglycanes est plus élevée dans cette zone que dans la zone superficielle.

- Une couche profonde (couche radiale) où les chondrocytes ont également une forme sphéroïdale. Dans cette couche, les fibrilles de collagènes sont les plus grosses, la concentration de protéoglycanes est la plus élevée, et la concentration en eau est la plus basse. On y retrouve les collagènes de types II, IX et XI.
- Une couche calcifiée qui sépare la couche profonde de l'os sous-chondrale, sert de tampon mécanique important. Elle est le résultat de l'ossification endochondrale. Elle renferme le collagène de type X.



Source : <http://www.mon-arthrose.com/main/articulations/structure.htm>

Figure 2. Structure simplifiée du cartilage articulaire. Le tissu est divisé en quatre couches : superficielle, moyenne, profonde et calcifiée.

5.1.3 Composition

5.1.3.1 Chondrocytes

Le cartilage est constitué d'un seul type de cellules nommées chondrocytes (chondro = cartilage, cytes = cellules). Les chondrocytes sont contenus dans des lacunes ovalaires ou arrondies appelées chondroplast. Les chondrocytes baignent dans la MEC. Cependant, ils n'occupent qu'un volume minoritaire du cartilage articulaire, soit ~1% chez l'homme adulte. Les chondrocytes sont caractérisés par leur forme sphéroïdale, par la synthèse de collagènes, d'agrégats géants de protéoglycanes et de protéines non collagéniques spécifiques, et par l'agencement de ces molécules en matrice cartilagineuse. Autrement dit, les chondrocytes assurent la synthèse et la dégradation de tous les composants de la MEC cartilagineuse (Buckwalter et al, 1997; Goldring, 2000; Goldring, 2001; Wieland et al, 2005; Helga et al, 2006).

5.1.3.2 Matrice extracellulaire ou MEC

La MEC est riche en eau (70-80% de son poids), et représente 90% du poids sec du cartilage. La MEC contient entre autres des fibres de collagènes et des molécules de protéoglycanes. Le collagène de type II est le plus abondant. Les protéoglycanes sont principalement constitués de l'aggrécane, qui donne au cartilage ses propriétés mécaniques de compressibilité et d'élasticité. Les protéoglycanes sont des molécules hydrophiles, car elles renferment des glycosaminoglycanes (ex. chondroïtine-sulfate, kératane-sulfate, etc.) riches en radicaux acides très hydrophiles, d'où la teneur en eau et l'élasticité du cartilage

(Hardingham et al, 1992; Buckwalter et al, 1994; Buckwalter et al, 1997; Goldring, 2000; Goldring, 2001; Wieland et al, 2005; Helga et al, 2006).

La MEC contient également des enzymes protéolytiques (ex. métalloprotéinases matricielles et aggrecanases) permettant la dégradation de la matrice lors de son renouvellement, et de nombreux facteurs de croissance et cytokines produits par les chondrocytes et/ou provenant d'autres cellules (monocytes/macrophages, synoviocytes). Les protéinases principalement impliquées dans la dégradation du cartilage, sont les métalloprotéinases de la matrice (MMPs). Ces dernières sont un groupe majeur d'endopeptidases zinc-dépendant fonctionnant généralement à pH neutre et requérant le Ca^{2+} pour leur activité. Elles régulent la composition de la MEC en dégradant ses composantes telles que les collagènes fibrillaires et non fibrillaires, la fibronectine, la lamine, l'élastine et les glycoprotéines de la membrane (Goldring, 2001). Les MMPs jouent un rôle important dans plusieurs maladies comme l'arthrose, l'athérosclérose, le cancer, etc. En effet, les MMPs sont fortement synthétisées dans les chondrocytes et synoviocytes sous l'influence des cytokines (Martel-Pelletier et al, 2001; Martel-Pelletier, 2004; Yasuda, 2006). Leurs activités sont contrôlées par des inhibiteurs tissulaires des MMPs ou TIMPs (Tissus Inhibitors of Metalloproteinases) (Slawomir et al, 1997; Chakraborti et al, 2003; Kevorkian et al, 2004).

Il existe au moins 25 MMPs. Cependant les principales MMPs impliquées dans l'arthrose sont la collagénase 1 ou MMP-1 et la collagénase 3 ou MMP-13. MMP-1 et MMP-13 diffèrent de leur affinité à la dégradation du collagène de type II. Cependant, MMP-13 est la collagénase qui possède une plus grande affinité pour le collagène II. Leur distribution dans la matrice du cartilage diffère aussi : MMP-1 se retrouve aux couches superficielles du cartilage, tandis que MMP-13 est exprimée majoritairement en profondeur dans le cartilage. MMP-1 est sécrétée sous forme de zymogène de 57/52 kDa et sous forme active de 46/42 kDa. MMP-13 se présente également sous une forme de proenzyme de ~60 kDa et sous forme active de 48 kDa. En plus du collagène de type II, MMP-1 dégrade d'autres collagènes incluant les types I, III, VII, VIII et X, la gélatine, l'aggrécane, etc., alors que MMP-13 dégrade les collagènes de types I, III, IV, IX, X et XIV, la gélatine, la fibronectine, l'aggrécane, etc. (Martel-Pelletier, 2001; Chakraborti et al, 2003; Martel-Pelletier, 2004; Kevorkian et al, 2004; Yasuda, 2006).

5.1.4 Cartilage arthrosique

Au cours de la dégradation du cartilage, il y a un déséquilibre entre la synthèse des facteurs cataboliques et anaboliques par les chondrocytes. Les facteurs cataboliques sont augmentés, tandis que les facteurs anaboliques sont diminués. Parmi les facteurs cataboliques jouant un rôle important dans la réponse des chondrocytes aux dommages causés à la MEC, on peut citer les MMPs et l'oxyde nitrique (NO) ou monoxyde d'azote.

En effet, l'oxyde nitrique est un gaz synthétisé par l'oxydation de la L-arginine via des enzymes appelées NO synthase (NOS). Il existe trois isoformes de la NOS avec des fonctions distinctes. Ces isoformes sont généralement divisés en deux classes : la NOS constitutive et la NOS inductible. En effet, la NOS neuronale (nNOS ou NOS1) et la NOS endothéliale (eNOS ou NOS3) sont exprimées constitutivement, tandis que l'expression de la NOS inductible (iNOS ou NOS2) est régulée entre autres durant l'inflammation. Habituellement, la nNOS est impliquée dans la neurotransmission, et la eNOS est importante pour la relaxation des muscles lisses vasculaires et la régulation de la pression artérielle. L'iNOS (~130 kDa), considérée comme la principale source de NO, est importante dans les réponses inflammatoires et pathogéniques. À faibles concentrations, le NO est un messenger paracrine, mais à fortes concentrations comme dans les cas d'inflammation, le NO a des effets adverses via la formation de radicaux libres (Moncada et al, 1989; Moncada et al, 1991; Beckman et al, 1996; Folkerts et al, 2001).

Les chondrocytes produisent une grande quantité de NO après une stimulation de l'iNOS par les cytokines. Des études ont démontré que le NO est en partie responsable du blocage de la synthèse des glycosaminoglycanes et des collagènes par l'interleukine 1 bêta (IL-1 β), et de ce fait pourrait contribuer à l'activation de la forme latente des MMPs. Aussi, NO participerait à la mort cellulaire des chondrocytes en interférant avec des signaux de survie provenant de la MEC (Pelletier et al, 1996; Clancy et al, 1998; Lotz et al, 1999; Berenbaum, 2001).

5.2 Membrane synoviale

La membrane synoviale est un tissu vascularisé et innervé. La vascularisation joue trois rôles : i) permet l'échange de soluté et de gaz nécessaires pour la membrane elle-même, mais aussi pour le cartilage avasculaire; ii) est essentielle pour la production du liquide synovial; iii) et, régule la température de l'articulation. Le système lymphatique présent permet de drainer entre autres l'excès de fluide, les protéines et les petites particules. La membrane possède également des fibres sensorielles et des fibres dites efférentes provenant du système nerveux sympathique. Donc, elle permet l'homéostasie locale, et débarrasse la cavité articulaire de ses débris qui passent ensuite dans l'urine via la circulation sanguine (Wilkinson et al, 1989; Mapp et al, 1990; Fox et al 1993; Simkin, 1993).

La membrane synoviale encercle l'articulation pour retenir le liquide synovial. Près de l'os, la membrane se sépare de la capsule et s'étale sur le périoste. Au niveau macroscopique, elle paraît lisse et luisante. Cependant, elle possède des microvillosités qui permettent son extension durant le mouvement articulaire ou en réponse à un changement de pression intra-articulaire. Elle est constituée de cellules nommées synoviocytes et de la MEC. Elle est aussi le siège de l'inflammation (Simkin, 1993; Edwards, 2001).

5.3 Os sous-chondral

L'os sous-chondral est la surface osseuse articulaire située directement sous le cartilage. Il permet aux vertébrés de se tenir debout, de se mouvoir, et, protège et nourrit

partiellement le cartilage. L'os sous-chondral est vascularisé, ce qui favorise l'intégrité du cartilage. Il se compose de trois types de cellules : les ostéoblastes, les ostéocytes, et les ostéoclastes. Les ostéoblastes sont les cellules responsables de la synthèse et de la régulation du dépôt et de la minéralisation de la MEC osseuse. Une fois incorporés dans la matrice osseuse, les ostéoblastes sont nommés ostéocytes. Quant aux ostéoclastes, ils déminéralisent l'os et son entourage, et de ce fait, sont responsables de la résorption osseuse. De plus, la majeure partie de la matrice organique est constituée de collagène de type I produit par les ostéoblastes. Le collagène de type I constitue la charpente pour la minéralisation. D'autres constituants de la matrice osseuse sont les collagènes de types II, III, V, et X, les protéoglycanes, l'eau, des lipides, et de protéines (ex. l'ostéocalcine, la fibronectine, etc.). La partie inorganique de l'os représente le deux tiers de la matrice osseuse, et comprend essentiellement des cristaux d'hydroxyapatite (Marks, 1988; Robey et al, 1988; Green, 1994; Boskey, 2001; Wieland et al, 2005).

Les principaux changements osseux survenant lors de l'arthrose sont la sclérose (épaississement) osseuse de l'os spongieux subarticulaire et la formation d'ostéophytes ou d'ostéochondrophytes. Au cours du stade avancé, il peut se former de l'os à la place du cartilage (ossification endochondrale) accompagné d'angiogénèse pouvant pénétrer le cartilage et exposer des bouts d'os lisses et denses à la surface du cartilage (éburnation) (Grynpas et al, 1991; Huebner et al 2002; Wieland et al, 2005)

5.4 Cavité articulaire

La cavité articulaire contient le liquide synovial. Ce dernier est très visqueux. Il permet l'amortissement des chocs, empêche le contact des cartilages entre eux, assure la nutrition du cartilage, et évacue les débris issus de l'usure du cartilage (Levik, 1984; Wieland et al, 2005).

6. TRAITEMENTS

Les traitements servent généralement à soulager les symptômes comme la douleur, à améliorer la fonction de l'articulation et à réduire les inaptitudes. Le traitement de l'arthrose est personnalisé pour chaque patient. Les médecins et les rhumatologues suivent des recommandations de la Ligue européenne contre le rhumatisme (EULAR), ou du Collège américain de rhumatologie (ACR), pour administrer les traitements adéquats. Il revient alors au patient d'être compliant dans la prise de ses médicaments.

6.1 Traitements pharmacologiques

6.1.1 Traitements généraux

Il existe deux grandes classes thérapeutiques : les analgésiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

- Les analgésiques ou les antalgiques: ce sont des médicaments comme l'acétaminophène (ex. Tylenol®, Panadol®, Exdol®, etc). Ces médicaments

soulagent rapidement et efficacement la douleur légère à modérée, et pour certains, sont des médicaments en vente libre. Cette classe comprend aussi des analgésiques opioïdes. Cependant, dépendamment de la dose utilisée, ils peuvent être toxiques (hépatotoxicité, dommages aux reins, etc.) et induire des effets secondaires non négligeables (Cannon, 2001; Wieland et al, 2005; Sarzi-Puttini et al, 2005; Steinmeyer et al, 2006; Mallette, 2006).

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) : ils agissent en bloquant l'action des cyclooxygénases (COXs), enzymes intervenant dans la fabrication de prostaglandines (PGs). On peut distinguer deux sous-groupes dans cette classe, les AINS non sélectifs et les AINS sélectifs (Coxibs) contre la cyclooxygénase 2 (COX-2). Les AINS non sélectifs sont habituellement utilisés pour réduire la douleur et l'inflammation. Parmi les AINS non sélectifs, on peut citer l'acide acétylsalicylique ou ASA (ex. Aspirine®, Anacine®, etc.) et l'ibuprofène (ex. Motrin®, Advil®, etc). Bien qu'étant efficaces, les AINS non sélectifs présentent des effets secondaires comme les troubles gastro-intestinaux (ex. ulcères, brûlures d'estomac, saignements, etc.) qui limitent leurs utilisations. Par contre, les Coxibs ont apporté une meilleure innocuité comparativement aux analgésiques et AINS non sélectifs, entre autres en diminuant l'incidence des effets secondaires de type digestifs. En effet, les Coxibs inhibent sélectivement la COX-2, ce qui déjoue les effets néfastes causés par l'inhibition de la cyclooxygénase 1 (COX-1) des autres

médicaments. Malheureusement, des preuves cumulées ont montré que les Coxibs renferment d'autres dangers sur les plans cardiovasculaire, rénal et cutané. Le 30 septembre 2004, VIOXX (Rofécoxib) a été retiré du marché canadien, et plus tard dans le marché mondial, à cause du risque élevé de maladies cardiovasculaires telles que les infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux. D'autre part, Santé Canada a demandé à Pfizer Canada en avril 2005, de suspendre la vente de Bextra (Valdécoxib), jusqu'à ce que les questions d'innocuité de types cutané et cardiovasculaire soient résolues. Quant au Celebrex (Célécoxib), il est actuellement le seul inhibiteur sélectif de la COX-2 en vente au Canada, mais avec de nouvelles restrictions imposées par Santé Canada. En somme, cette sous-classe, les Coxibs, fait l'objet d'une surveillance et d'une attention particulière des instances gouvernementales à travers le monde (Cannon, 2001; Wieland et al, 2005; Sarzi-Puttini et al, 2005; Steinmeyer et al, 2006; Mallette, 2006).

6.1.2 Traitements à faibles actions

Les médicaments à faibles actions dans l'arthrose ont été ainsi désignés par la Société internationale de recherche sur l'arthrose. Il s'agit de la Glucosamine, la Chondroïtine sulfate, et la Diacérhéine. Ces médicaments ou plutôt suppléments nutritionnels semblent avoir des effets palliatifs contre les symptômes, prévenir et modifier morphologiquement la dégénération du cartilage chez l'humain. Cependant, la controverse concernant leur réelle efficacité est toujours présente. Par exemple, des études cliniques

récemment publiées, n'ont montré aucun avantage de la glucosamine sulfate par rapport au placebo (Rindone et al, 2000; Cannon, 2001; Thie et al, 2001; Hughes et al, 2002; Cibere et al, 2004). De plus, quelques effets secondaires induits par la Diacerhéine ont été rapportés, comme la diarrhée, des affections cutanées (Dougados et al, 2001; Steinmeyer et al, 2006).

Il n'en demeure pas moins que certains de ces suppléments nutritionnels sont énormément vendus dans plusieurs pays à travers le monde tels que l'Australie, la France, l'Italie, l'Espagne, les États-Unis et le Canada, pour ne citer que ceux-là (Steinmeyer et al, 2006).

6.1.3 Thérapies locales

Les thérapies locales ciblent directement l'articulation atteinte.

- Des injections intra-articulaires de stéroïdes et d'acide hyaluronique : l'administration intra-articulaire de glucocorticoïdes est prescrite dans le traitement de douleurs aiguës (Cannon, 2001; Wieland et al, 2005). L'injection d'acide hyaluronique (ex. Hylan G-F 20, Hyaluronate de sodium, etc.), quant à elle, redonne au fluide synovial sa viscoélasticité, ce qui permet de lubrifier le cartilage, de favoriser une plus grande mobilité et de soulager la douleur. Cette technique est appelée la viscosuppléance (Cannon, 2001; Wieland et al, 2005; Sarzi-Puttini et al, 2005).

- Le lavage articulaire : Cette technique est parfois employée en cas de poussées hydarthrodiales récidivantes ou d'épanchement chronique malgré le traitement bien adapté pour l'arthrose du genou. En fait, elle consiste à nettoyer l'articulation des débris de cartilage et des produits d'inflammation qui favorisent la douleur. Sous anesthésie locale, le rhumatologue injecte, puis retire un liquide physiologique stérile dans l'articulation. Ce lavage est même réalisé avant les infiltrations de cortisone ou d'acide hyaluronique afin d'augmenter leur efficacité (Cannon, 2001).

- Des traitements topiques : les analgésiques topiques (ex. la crème Capsaïcine, AINS topiques, etc.) sont souvent prescrits en monothérapie ou en traitement additif dans le cas de la gonarthrose et de la coxarthrose. Ceux-ci permettent d'améliorer la souplesse et de diminuer la douleur (Cannon, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005).

- La kinésithérapie permet de diminuer les contraintes articulaires, et de tonifier les muscles, par exemple, avant une intervention chirurgicale. Cette forme de rééducation est intéressante dans le cas de la gonarthrose (ex. arthrose fémoro-patellaire) et de la coxarthrose (Sarzi-Puttini et al, 2005).

- D'autres traitements locaux comme la physiothérapie, les ultrasons, la mésothérapie, l'usage de semelles orthopédiques, peuvent être utilisés lors des phases douloureuses et congestives d'arthrose (Sarzi-Puttini et al, 2005).

6.2 Traitements non pharmacologiques

En dépit du fait qu'il y ait peu d'évidences sur l'efficacité des traitements non pharmacologiques, il n'en demeure pas moins que leur recours soit fréquent pour la gestion des patients atteints d'arthrose.

- Certains exercices (ex. la marche, la natation, etc.) améliorant la qualité de vie des patients, sont recommandés en cas d'arthrose chronique, subaiguë, et post-chirurgicale afin de garder le patient en bonne santé (Van Baar et al, 1999; Bischoff et al, 2003; Gilbey et al, 2003). Ils consistent en des activités qui ne donnent pas trop de charge aux articulations affectées, et en des étirements doux.
- La perte de poids est toujours de mise surtout pour les patients obèses. Étant donné que les articulations du genou et de la hanche s'usent plus rapidement chez les personnes ayant un surpoids, une perte de poids a un impact important sur la santé de l'articulation (Felson et al, 1992; Cannon, 2001).
- Plusieurs comportements sont importants à considérer dans la gestion de la douleur. Bien que le soulagement de la douleur soit relativement complet, l'éducation du patient sur l'arthrose et sa participation à des programmes, peuvent l'aider à passer au travers émotionnellement et même financièrement (Sarzi-Puttini et al, 2005). La

Société d'arthrite au Canada a développé plusieurs programmes comme par exemple le « Programme d'initiation personnelle contre l'arthrite ».

6.3 Chirurgie

Le traitement chirurgical pour l'arthrose n'est considéré seulement qu'après l'échec de tout autre traitement non chirurgical. Pour certains cas graves de la gonarthrose et de la coxarthrose, où le cartilage a pratiquement disparu et une grande partie de l'os est dénudé, une intervention chirurgicale peut être envisagée. Elle peut aider à rétablir la mobilité des jointures et leurs fonctionnements (Cannon, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005).

- ◆ Le recours à la prothèse est la solution ultime. L'articulation peut être remplacée partiellement (prothèse uni-compartimentale) ou totalement (prothèse totale). La prothèse unicompartmentale est proposée aux patients qui présentent une arthrose peu évoluée, unilatérale, avec un ligament croisé antérieur sain et sans déformation angulaire excessive. La prothèse totale, quant à elle, se compose de trois pièces : une pièce en acier inoxydable remplaçant la partie articulaire du fémur; une pièce en polyéthylène à la place de la rotule; et enfin, la troisième remplace la partie articulaire du tibia, elle est en polyéthylène reposant sur une base métallique. La prothèse totale du genou ou de la hanche est la plus couramment utilisée. De plus, il existe une troisième forme de prothèses, la prothèse dite charnière, qui est indiquée dans des cas très particuliers (gonarthrose avec déformations majeurs, de reprises

de prothèses avec pertes osseuses importantes, altérations des structures ligamentaires périphériques, etc.) (Cannon, 2001).

La décision de placer une prothèse tient compte de la douleur et de la gêne ressenties par le patient, et non uniquement sur le stade radiographique. Cette intervention a l'avantage d'irradier complètement la douleur et la gêne, et a une durée de vie longue soit ~ 15 ans (Millis et al, 1996; Sarzi-Puttini et al, 2005). Néanmoins, elle peut comporter certaines complications telles que la phlébite, l'hématome, des infections, etc. (Nestor, 1998; Mallette, 2006).

- ◆ L'ostéotomie est une technique surtout employée dans le cas de la gonarthrose lorsqu'il y a un genu varum (déviations de l'axe des jambes en forme de lettre O) ou plus rarement un genu valgum (déviations de l'axe des jambes en forme de lettre X) qui sont responsables respectivement d'une gonarthrose fémoro-tibiale interne ou externe. En effet, le chirurgien retire un morceau triangulaire dans l'os pour remettre des appuis qui redonnent un axe normal à l'articulation. Cette intervention est indiquée pour de jeunes patients (Millis et al, 1996; Sarzi-Puttini et al, 2005).

6.4 Traitements alternatifs

Plusieurs patients atteints d'arthrose utilisent des thérapies alternatives ou complémentaires. Ces traitements incluent l'acupuncture, des herbes, des diètes, l'homéopathie, des thérapies électromagnétiques, etc (Astin, 1998; Eisenberg et al, 1998; Rao et al, 1999; Cannon, 2001; Sarzi-Puttini et al, 2005).

II. PROSTAGLANDINES

1. STRUCTURE ET DISTRIBUTION TISSULAIRE

Les prostaglandines (PGs) sont des composés biologiques actifs qui jouent un rôle dans les processus physiologiques du corps humain. Elles font partie des éicosanoïdes, nom tiré du mot grec *Eikosi* signifiant 20. Les PGs sont aussi appelées prostanoïdes, terme général incluant les PGs, les thromboxanes (TXs) et les prostacyclines. Ce sont majoritairement la prostaglandine D₂ (PGD₂), la prostaglandine E₂ (PGE₂), la prostaglandine F₂α (PGF₂α), la thromboxane A₂ (TXA₂), et la prostaglandine I₂ (PGI₂; prostacycline). En effet, l'acide prostanoïque est la structure de base de toutes les PGs qui sont composées de 20 atomes de carbone essentiellement d'acides gras insaturés. Les PGs contiennent un anneau de cyclopentane et de deux chaînes nommées α et ω attachées à

l'anneau (Fig. 3). L'anneau de cyclopentane est composé de cinq carbones pour les PGs et les prostacyclines, et de six carbones pour les TXs (Narumiya et al, 1999; Miller, 2006).

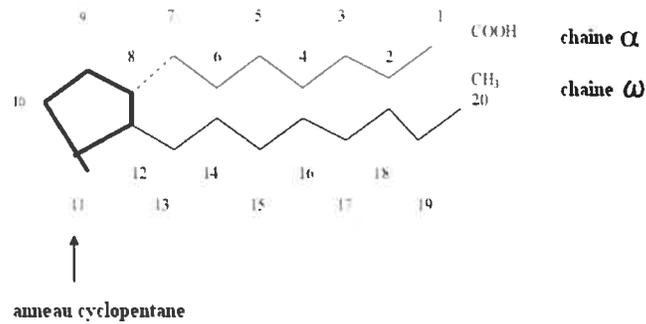


Figure 3. Structure chimique de l'acide prostanoïque. L'acide prostanoïque est la structure de base de toutes les prostaglandines. Figure tirée de Miller, 2006.

Les prostanoïdes se retrouvent dans la plupart des cellules. Les sites de synthèses majeurs sont les systèmes musculosquelettique, respiratoire, gastro-intestinal, hématologique, cardiovasculaire, rénal, nerveux et reproductifs (Miller, 2006).

2. BIOSYNTÈSE DES PROSTAGLANDINES

Les prostanoïdes sont classées en séries 1, 2, 3 respectivement synthétisées à partir de l'acide γ -homolinoléique (8, 11, 14- acide éicosatriénoïque), l'acide arachidonique (5, 8, 11, 14- acide éicosatétraénoïque) et le 5, 8, 11, 14, 17- acide éicosapentaénoïque. L'acide

arachidonique est le précurseur d'acide gras le plus abondant chez la plupart des mammifères comme l'homme, et la série 2 de prostanoïdes sont abondamment formés dans le corps.

En réponse à de nombreux stimuli physiologiques et pathologiques par l'action de la phospholipase A₂, l'acide arachidonique est libéré de la membrane de phospholipides et est converti en prostanoïdes par la voie des COXs. Leurs actions résident d'une part dans la cyclisation de l'acide arachidonique dans lequel le groupe 15-hydroperoxy est ajouté pour former la PGG₂ et d'autre part, dans la réduction du groupe hydroperoxy de PGG₂ pour former un produit hydroxylé la PGH₂ (Park et al, 2006). Il existe trois isoformes de la COX : la COX-1, la COX-2 et la COX-3 (Martel-Pelletier et al, 2003; Park et al, 2006). En effet, la COX-1 (72 kDa) est exprimé constitutivement dans plusieurs tissus et cellules, et joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie. La COX-2 (72 kDa) est rapidement induite par les cytokines pro-inflammatoires, les facteurs de croissance, les oncogènes et les promoteurs de tumeurs. Des études ont révélé des niveaux élevés de COX-2 dans les tissus articulaires OA. COX-1 et COX-2 partagent ~61% d'homologie de séquence en acides aminés. La COX-3 (65 kDa), récemment identifiée comme étant similaire à la COX-1 et la COX-2 en termes de structures et de fonctions enzymatiques. Elle est aussi exprimée de manière constitutive, et fortement concentrée dans le cortex cérébral et les tissus du cœur. Par ailleurs, elle inhiberait les effets catalytiques de COX1 et COX-2 (Martel-Pelletier et al, 2003; Park et al, 2006).

La PGH_2 est par la suite métabolisée en PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$, TXA_2 , et PGI_2 par différentes isomérases et synthases (Fig. 4). Les prostanoïdes ainsi formés sont immédiatement relâchés en dehors de la cellule (Narumiya et al, 1999; Tsuboi et al, 2003; Miller, 2006).

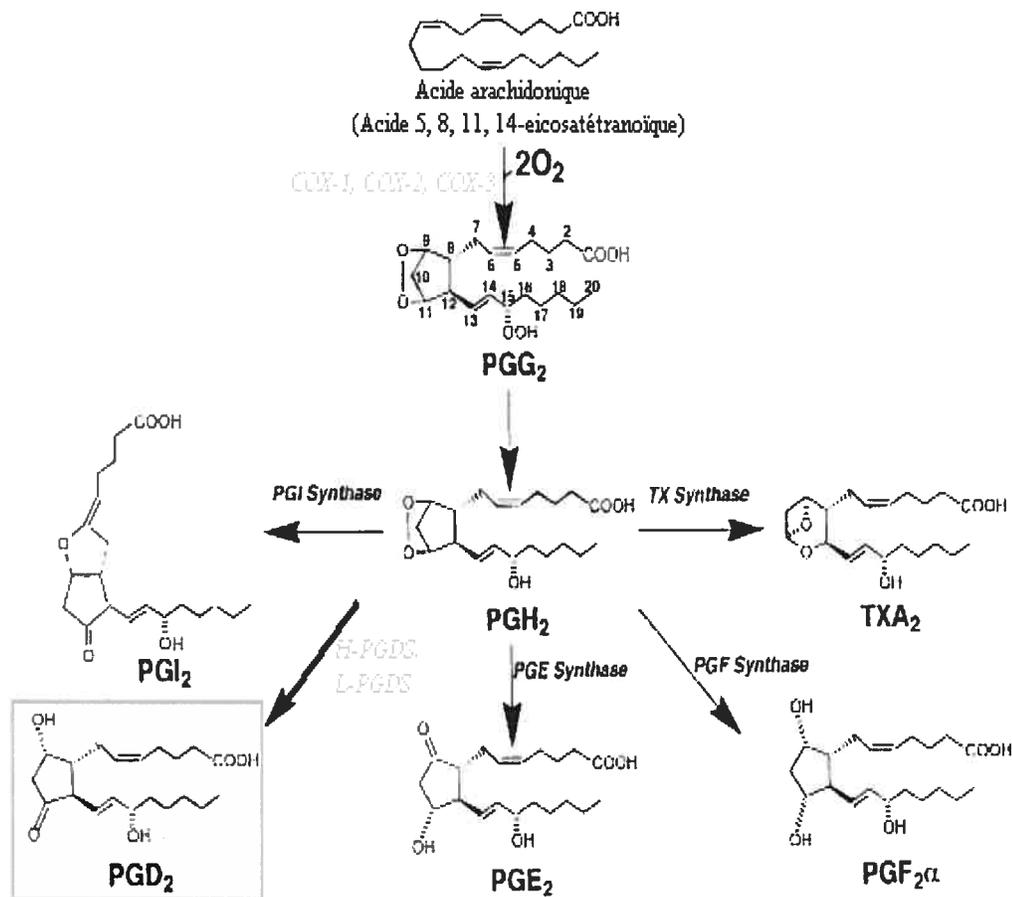


Figure 4. Biosynthèse des prostanoïdes. Les séries 2 de prostaglandines, PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$, TXA_2 , et PGI_2 , sont formées à partir de l'acide arachidonique. La conversion de l'acide arachidonique en PGG_2 et par la suite en PGH_2 , est catalysée par les cyclooxygénases. PGH_2 à son tour est catalysée par différentes enzymes pour produire les différentes prostaglandines. Figure modifiée et tirée de Narumiya et al, 1999.

3. PROSTAGLANDINE D₂

3.1 Enzymes de synthèse

La prostaglandine D₂ est formée par l'action de deux types d'isoformes de PGD₂ synthases (PGDS) : l'enzyme de type lipocaline ou L-PGDS, et l'enzyme hématopoïétique ou H-PGDS. L-PGDS est généralement présent dans le système nerveux, les testicules et le cœur de l'homme, tandis que H-PGDS se retrouve entre autres dans le système hématopoïétique, la rate, les lymphocytes T helper 2 (Th2) (Mahmud et al, 1997; Urade et al, 2000; Urade et al, 2002). De récentes études ont révélé que les chondrocytes humains expriment constitutivement L-PGDS (Attur et al, 2003; Shan et al, 2004), et que les cytokines pro-inflammatoires régulent à la hausse le niveau d'ARNm de H-PGDS (Shan et al, 2004).

3.2 Récepteurs

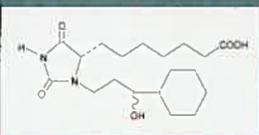
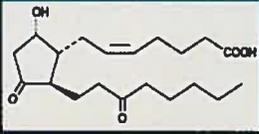
3.2.1 Récepteurs membranaires

3.2.1.1 DP-1

DP-1 est le premier récepteur de la PGD₂ découvert, et a été cloné pour la première fois en 1994. Chez l'humain, DP-1 est formé de 359 acides aminés, dont le poids moléculaire calculé de 40 276 Da. Il y a une homologie de séquence de 70% entre l'homme et le rat, et 73% entre l'homme et la souris. DP-1 est un récepteur à sept domaines transmembranaires couplé à la protéine G_{αs}. Des études ont montré que l'activation de DP-

1 conduit à l'augmentation du niveau de seconds messagers comme l'AMPc intracellulaire et le Ca^{2+} (Narumiya et al, 1999; Tsuboi et al, 2002; Kabashima et al, 2003; Hata et al, 2004). Le récepteur DP-1 humain se lie à PGD_2 et PGJ_2 (métabolite de PGD_2) avec une haute affinité, de même qu'avec des agonistes synthétiques sélectifs tels que BW245C (Tableau I; Wright et al, 1998; Hirai et al, 2001; Monneret et al, 2001). DP-1 est exprimé chez l'humain dans l'intestin et le cerveau (Boie et al, 1994).

Tableau I. Propriétés pharmacologiques des récepteurs membranaires de la PGD_2
(Narumiya et al, 1999; Hata et al, 2004)

Récepteurs	Agonistes Sélectifs	Signalisations	
DP-1	BW245C 	G_s	$\uparrow\text{AMPc}$ $\uparrow\text{Ca}^{2+}$
CRTH2	13, 15-dihydro-15-keto- PGD_2 	G_i	$\downarrow\text{AMPc}$ $\uparrow\text{Ca}^{2+}$

3.2.1.2 CRTH2

Le récepteur CRTH2 a été initialement identifié comme un récepteur de surface chimiotactique spécifique des cellules Th2, et par la suite des études ont démontré sa liaison à la PGD₂ avec une affinité similaire observée pour le DP-1. Le récepteur CRTH2 humain est composé de 395 résidus d'acides aminés avec une masse moléculaire calculée de 43 kDa. CRTH2 humain possède deux sites N-glycosylation sur son domaine extracellulaire N-terminal, et une longue queue du côté cytosolique comportant plusieurs sites pour la phosphorylation de la protéine kinase C. CRTH2 est constitué de sept domaines transmembranaires, et est couplé à la protéine G_i. L'activation de CRTH2 induit l'inhibition de l'AMPc et augmente le niveau intracellulaire de Ca²⁺ (Tableau I). CRTH2 a peu de similarité avec DP-1 et les autres récepteurs des prostanoïdes en dehors du fait que la PGD₂ s'y lie. Il existe une homologie de séquences de 77% entre le CRTH2 humain et murin (Narumiya et al, 1999; Nagata et al, 1999; Kazuhito et al, 2002; Sawyer et al, 2002; Hata et al, 2004).

Parmi les ligands de CRTH2 on note, de puissants agonistes sélectifs comme le 13, 15-dihydro-15-keto-PGD₂ (DK-PGD₂), 15-*R*-methyl-PGD₂ (R-PGD₂), et l'indométacine. De plus, PGI₂ (métabolite de PGD₂) est aussi connu comme ligand de CRTH2 (Narumiya et al, 1999; Hata et al, 2004).

L'expression de l'ARNm de CRTH2 a été identifiée dans plusieurs régions du corps humain telles que le cerveau, le cœur, l'estomac, le foie, le petit intestin etc. (Nagata et al, 2003).

3.2.2 Récepteur nucléaire : PPAR γ

La PGD₂ possède un récepteur nucléaire nommé PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activator Receptor). PPAR γ joue un rôle important dans plusieurs phénomènes, entre autres, dans la régulation de la prolifération des adipocytes, de l'inflammation, de l'homéostasie du glucose, et de l'accélération de la dégradation des leucotriènes. En effet, PPAR γ fait partie de la famille des PPAR comprenant également PPAR α et PPAR β . Activés par la fixation de leurs ligands, les PPAR forment des hétérodimères avec les récepteurs de l'acide rétinoïque 9-cis (RXR) et se fixent sur des éléments de réponse spécifiques au niveau du promoteur de leurs gènes cibles (Rocchi et al, 1999; Zingarelli et al, 2005). Plus particulièrement, le produit de déshydratation de la PGD₂, 15-désoxy- $\Delta^{12, 14}$ – PGJ₂, inhibe l'induction par IL-1 β de la production de NO et de l'expression de plusieurs enzymes impliquées dans la pathophysiologie de l'arthrose tels que MMP-13, iNOS, la prostaglandine E synthase membranaire-1 (mPGES-1), et la COX-2 (Fahmi et al, 2001; Cheng et al, 2004; Farrajota et al, 2005; Li et al, 2005).

3.3 Fonctions connues de DP-1 et CRTH2

La PGD₂ induit différents effets selon le type de tissus où elle est synthétisée. Dans plusieurs autres types cellulaires, PGD₂ a des effets à la fois pro- et anti-inflammatoires via ses récepteurs membranaires (Katzung, 1989; Coleman et al, 1994; Narumiya et al, 1999;

Breyer et al, 2001; Nagata et al, 2003; Hata et al, 2004; Miller et al, 2006). Quelques-uns de ces effets sont répertoriés dans le tableau suivant (Tableau II).

Tableau II. Effets biologiques de la PGD₂ via chacun de ses récepteurs membranaires

(Narumiya et al, 1999; Hata et al, 2004; Evi et al, 2006)

Type de récepteur	Effets biologiques
DP-1	<ul style="list-style-type: none"> - Vasodilatation - Inhibition de l'agrégation plaquettaire - Relaxation des muscles lisses - Effets anti-inflammatoires - Promotion de l'asthme - Inhibition de la migration des éosinophiles et des cellules dendritiques - Inhibition de l'apoptose des éosinophiles - Induction du sommeil - Neuroprotection
CRTH2	<ul style="list-style-type: none"> - Induction de la migration des cellules Th2, éosinophiles, basophiles - Forte régulation des molécules d'adhésion des cellules Th2 et éosinophiles - Activation des éosinophiles (changements morphologiques, dégranulation, etc) - Promotion de la production des cytokines dans les cellules Th2

4. AUTRES PROSTAGLANDINES : PGE₂, PGF₂α, TXA₂, et PGI₂

À cause de leurs instabilités chimique et métabolique, les prostanoïdes agiraient au niveau de leurs sites de production. Les prostaglandines exercent plusieurs actions dans de nombreux tissus et cellules. Les effets les plus souvent rencontrés sont la relaxation et la contraction de plusieurs types de muscles lisses. Les prostaglandines régulent l'activité des plaquettes et sont impliquées dans l'homéostasie et l'hémostasie. Ainsi, elles régulent la sécrétion et la mobilité dans le tractus gastro-intestinal, et, le transport d'ions et d'eau. De plus, elles jouent un rôle dans l'apoptose, la différenciation cellulaire et l'oncogenèse. Elles modulent l'activité neuronal en inhibant ou en stimulant la relâche de neurotransmetteurs, en générant la fièvre ou l'induction du sommeil (Narumiya et al, 1999; Tsuboi et al, 2002; Hata et al, 2004; Miller et al, 2006).

Par ailleurs, les prostaglandines sont considérées comme des composés hydrophobes, donc non perméables à la membrane cellulaire. Elles agiraient via des récepteurs membranaires : EP1-4, FP, TP, IP sont respectivement les récepteurs de PGE₂, PGF₂α, TXA₂, et PGI₂. Le tableau suivant (Tableau III) récapitule les effets connus à date de ces différentes prostaglandines (Narumiya et al, 1999; Nagata et al, 2003; Hata et al, 2004; Miller et al, 2006).

Tableau III. Résumé des rôles physiologiques dans les systèmes d'organes (Narumiya et al, 1999; Hata et al, 2004; Evi et al, 2006)

Système	Prostaglandines et métabolites	Sites majeurs de synthèse	Effets
Musculo-squelettique	PGE₂	Ostéoblastes Chondrocytes/Synoviocytes	Résorption et formation osseuses Pro-inflammatoire
	PGJ₂	Chondrocytes/Synoviocytes	Anti-inflammatoire
Respiratoire	PGI₂	Cellules endothéliales	Vasodilatation
Hématologique	PGI₂	Cellules endothéliales	Désagrégation plaquettaire
	TXA₂	Plaquettes	Agrégation plaquettaire
Gastro-intestinal	PGE₂	Muqueuse gastrique	Cytoprotection
Cardio-vasculaire	PGI₂	Cellules endothéliales	Vasodilatation
	TXA₂	Plaquettes	Vasoconstriction
Rénal	PGI₂	Cortex rénal	Vasodilatation
	PGE₂	Médulla rénal	Excrétion du sel et de l'eau
Neurologique	PGE₂	?	Fièvre, hyperalgésie
Reproducteur	PGE₂	Vésicules séminales	Érection, éjaculation, transport de sperme
	PGE₂/PGF_{2α}	Membrane fœtale, utérus	Parturition/menstruation, fertilisation, ovulation

III. INTERLEUKINE-1 BÊTA

1. STRUCTURE ET RÉCEPTEURS

Les cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-1 bêta (IL-1 β) jouent un rôle crucial dans l'arthrose. Des chondrocytes arthrosiques et des synoviocytes arthrosiques présentent un niveau élevé d'IL-1 β . Cette dernière est préalablement synthétisée sous la forme de précurseur de 31 kDa, puis relâchée sous la forme active de 17 kDa. Dans le cartilage, la membrane synoviale et le fluide synovial, IL-1 β se présente sous la forme active. La pro-forme d'IL-1 β est transformée en forme active via l'enzyme de conversion d'IL-1 β (ICE ou Caspase 1). IL-1 β possède des récepteurs à la surface des cellules nommés IL-1 β de types I et II. IL-1 β est inhibée par un antagoniste naturel des récepteurs d'IL-1 β , IL-1Ra (Berenbaum, 2001; Fernandes et al, 2002; Wieland et al, 2005).

Des études ont démontré que l'IL-1 β induit l'augmentation de la synthèse des prostaglandines, des MMPs, et de l'iNOS. Ainsi, il contribue à la dégradation de la MEC (Berenbaum, 2001; Martel-Pelletier, 2004).

2. VOIES DE SIGNALISATIONS

2.1 MAPKs

De nombreux signaux, notamment les cytokines comme IL-1 β , induisent des cascades de phosphorylations qui régulent l'expression de plusieurs gènes. Ces voies de signalisation incluent les kinases sérine-thréonine de la famille des MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinases). Ces kinases sont similaires en termes de structure et, toutes ont été phosphorylées sur leurs résidus sérine et thréonine, et activées par des MAPK kinases. La famille des MAPKs renferme trois sous-groupes (Derijard et al, 1994; Han et al, 1994; Geng et al, 1996) :

- ERK (Extracellular signal-Regulated Kinases) : ERK1/2 ou p42/44 (42 et 44 kDa)
- JNK (c-Jun NH₂-terminal Kinases) : ont été identifiées comme des protéines kinases qui lie et phosphoryle le domaine NH₂ terminal de c-Jun. JNK comprend JNK1 (46 kDa) et JNK2 (55 kDa). Des kinases nommées SAPK (Stress Activated Protein Kinases) ont été identifiées comme étant identiques aux JNKs. SAPK γ (44 kDa) est identique à JNK1, et SAPK α (54 kDa) à JNK2.
- p38 (~43 kDa): il existe quatre isoformes de p38, soit α , β , γ , et δ .

Plusieurs stimuli tels que les cytokines inflammatoires, le lipopolysaccharide (LPS), le choc osmotique, la lumière UV et les facteurs de croissance, activent premièrement un groupe de protéines kinases (les MAPK kinase Kinases ou MAPKKK) qui vont phosphoryler d'autres kinases (les MAPK kinases ou MAPKK), qui à leur tour seront responsables de la phosphorylation et de l'activation des MAPKs. Une fois activées, les MAPKs sont transloquées dans le noyau, et vont phosphoryler et activer plusieurs facteurs de transcription notamment ceux impliqués dans la transcription des gènes de MMPs et d'iNOS (Geng et al, 1996; Vincenti et al, 2002).

2.2 NF- κ B

Une autre voie de signalisation majeure induite entre autres par les cytokines, est celle du NF- κ B (Nuclear Factor- κ B). Généralement, les cytokines sont responsables de la translocation du NF- κ B du cytoplasme au noyau. Suite à la liaison des cytokines tels que l'IL-1 β à ses récepteurs, il y a l'activation de NIK (NF- κ B – Inducing Kinase), qui à son tour est responsable de la phosphorylation et de l'activation des kinases de l'inhibiteur de κ B (IKK). Ces dernières phosphorylent I- κ B (Inhibitor of κ B). L'activation de NF- κ B résulte en sa maturation graduelle via la protéolyse entre I- κ B et NF- κ B. La phosphorylation de I- κ B induit l'ubiquitinylation de la molécule et sa dégradation dans le protéosome. NF- κ B sous forme p50/p65 se dirige vers le noyau pour activer des gènes cibles. Dans les chondrocytes, cette voie peut servir en plus de celles des MAPKs, à

l'induction de l'expression de la MMP-1 et de la MMP-13. De plus, l'expression de certaines cytokines (ex. IL-1 β) ou enzymes (ex. iNOS), est la conséquence de l'activation de NF- κ B (Mengshol et al, 2000; Tak et al, 2001; Vincenti et al, 2002).

Partie B. OBJECTIFS DU PROJET DE RECHERCHE

Les traitements actuels permettent uniquement de soulager les symptômes de l'arthrose comme la douleur, sans pour autant la prévenir ou même la guérir. Néanmoins, le remplacement du genou ou de la hanche par des prothèses reste malheureusement le seul recours pour irradier complètement la douleur. Il est donc important aujourd'hui de continuer la recherche pour davantage connaître et comprendre les facteurs ou les agents impliqués dans la physiopathologie de l'arthrose.

Les PGs sont généralement considérées comme de puissants médiateurs inflammatoires. De nombreux travaux effectués dans mon laboratoire d'accueil et ailleurs ont montré que la PGE₂ joue un rôle crucial dans la pathophysiologie de l'arthrose. En effet, cette prostaglandine est impliquée dans la douleur, ainsi que dans l'inflammation et la dégradation du cartilage (Egg et al, 1980; Pelletier et al, 1997a; McCoy et al, 2002). Les tissus articulaires arthrosiques produisent de manière excessive la PGE₂. Cette dernière est synthétisée à partir de la PGH₂ par des enzymes appelés PGES (mPGES-1, mPGES-2 et la cPGES). La mPGES-1 (15-16 kDa) préalablement nommée MGST1-L1 (Microsomal Gluthatione S-transferase 1-Like 1), est une protéine associée à la membrane périmoléculaire. Elle est préférentiellement couplée avec la COX-2. La mPGES-1 est induit avec la COX-2 par plusieurs stimuli inflammatoires dans de nombreuses cellules, notamment les chondrocytes et les synoviocytes. Il est bien établi que la mPGES-1 est une enzyme

importante dans la production de la PGE₂ reliée au développement de l'inflammation chez les patients OA. La mPGE-2 (~33 kDa) est constitutivement exprimée dans plusieurs cellules et tissus, et est fonctionnellement couplée avec la COX-1 et la COX2. Quant à la cPGES (~26 kDa) originellement appelée la protéine 90 du choc thermique associée à p23, est couplée à la COX-1 (Martel-Pelletier et al, 2003; Fahmi, 2004; Park et al, 2006). Ainsi, l'induction de la mPGES-1 dans de nombreuses cellules, notamment les chondrocytes, constitue une étape importante dans la production de la PGE₂ (Martel-Pelletier et al, 2003; Fahmi, 2004; Cheng et al, 2004; Li et al, 2005; Park et al, 2006).

Quant à la PGD₂, elle est considérée comme un médiateur clé dans plusieurs maladies inflammatoires où elle peut à la fois promouvoir et inhiber des processus inflammatoires dépendamment de l'espèce animale, de l'organe et des stimuli inflammatoires étudiés. Plusieurs de ses effets ont été observés dans divers processus pathologiques tels que la bronchoconstriction, la vasodilatation, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, la contraction et relaxation du muscle lisse, la régulation de la fonction des cellules nerveuses, la réduction de la pression intraoculaire, l'induction du sommeil, etc. (Katzung, 1989; Coleman et al, 1994; Breyer et al, 2001; Hata et al, 2004).

De plus, un des métabolites de la PGD₂, notamment le 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J₂ (15d-PGJ₂), en se liant au PPAR γ , est responsable pour plusieurs fonctions anti-inflammatoires dans de nombreuses pathologies comme l'arthrose (Cheng et al, 2004; Li et al, 2005; Scher et al, 2005). En revanche, le rôle exact de la PGD₂ sur la

régulation des réponses inflammatoires et cataboliques dans l'arthrose reste encore à déterminer.

L'objectif principal de ce projet de recherche est d'étudier l'effet de la PGD_2 sur l'expression des MMPs impliqués dans l'arthrose, à savoir MMP-1 et MMP-13, sur l'expression de l'iNOS et sur la production du NO.

L'objectif secondaire de ce projet, est d'étudier des mécanismes potentiels impliqués dans les effets observés de la PGD_2 .

Partie C. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Réactifs et anticorps

L'interleukine-1 bêta (IL-1 β) recombinante humaine a été obtenue chez Genzyme. PGD₂, BW245C, 13,14-dihydro-15-keto prostaglandine D₂ (DK-PGD₂), et les anticorps polyclonaux reconnaissant iNOS proviennent de Cayman Chemical Co. – Cedarlane Biotechnology Ltd. L'anticorps monoclonal anti-MMP-1 provient de Calbiochem. L'anticorps polyclonal anti-MMP-13, l'aprotinine, la leupeptine, la pepstatine, le fluorure phénylméthylsulfonyl (PMSF), et le formaldéhyde viennent de Sigma-Aldrich. Les anticorps polyclonaux détectant les formes totales et les formes phosphorylées de p38 et de SAPK/JNK, l'anticorps polyclonal reconnaissant la forme phosphorylée de NF- κ B p65, et l'anticorps monoclonal contre la forme phosphorylée de p44/42 sont produits par Cell Signaling. L'anticorps polyclonal reconnaissant la forme totale de NF- κ B p65 et l'anticorps contre la β -actine ont été produits par Santa Cruz Biotechnology Inc. L'anticorps polyclonal de lapin contre l'IgG murin ou «polyclonal rabbit anti-mouse IgG» couplés à HRP (Horseradish Peroxidase), et l'anticorps polyclonal de chèvre contre l'IgG de lapin ou «polyclonal goat anti-rabbit IgG» couplés avec HRP, proviennent de Pierce.

Le « Dulbecco's modified Eagle's medium » (DMEM), la pénicilline, la streptomycine, et le TRIzol proviennent d'Invitrogen. Tous les autres produits chimiques proviennent de Bio-Rad, et Fisher Scientific.

2. Sélection des spécimens et culture des chondrocytes

Les chondrocytes utilisés sont issus du cartilage de patients atteints de la gonarthrose et de la coxarthrose qui ont subi un remplacement total du genou ou de la hanche (moyenne \pm SEM âge, 69 ± 10 ans). Tous les patients OA ont été diagnostiqués selon les critères de classification de l'arthrose du sous-comité du Collège américain de rhumatologie (Altman et al, 1986). Au moment de l'intervention chirurgicale, les patients présentaient les symptômes nécessitant un traitement avec des AINS non sélectifs et des Coxibs. Les patients exclus étaient ceux ayant reçu des injections intra-articulaires de stéroïdes dans les trois mois avant la chirurgie. Le Comité d'éthique au Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal de l'Hôpital Notre-Dame a approuvé le protocole d'étude et l'utilisation des tissus humains.

Les chondrocytes sont issus du cartilage par une digestion enzymatique séquentielle (Fahmi et al, 2001). Brièvement, le cartilage est digéré dans 2 mg/mL de pronase pendant 1 h, et par la suite dans 1 mg/mL de collagénase (type VI; Sigma-Aldrich) durant 6 h à 37°C avec une atmosphère humide de 5% de CO₂ et 95% d'air. Les chondrocytes isolés sont incubés dans le DMEM contenant 10% de sérum bovin fœtal (SBF), 100 unités/mL de pénicilline et de 100 µg/mL de streptomycine. Par la suite, les chondrocytes sont mis en culture dans des flacons avec le DMEM/10% SBF et incubés à 37°C. Le milieu de culture est régulièrement changé, soit deux fois par semaine. Les chondrocytes sont en culture jusqu'à ce qu'ils soient confluents (en dedans de 7 jours après digestion du cartilage), et

c'est seulement le premier passage qui est utilisé, ce qui permet de conserver leur phénotype.

3. Traitements administrés

Lorsque confluents, les chondrocytes sont placés dans des plaques de 12 puits, et dans le DMEM/10% SBF pendant 48 h, ensuite, ils ont été sevrés durant 48 h dans du DMEM ayant 0 ou 2.5% de SBF, de 100 unités/mL de pénicilline et de 100 µg/mL de streptomycine. Puis, nous avons préincubé les chondrocytes avec de la PGD₂ (1, 5, 10, et 20 µM), de l'agoniste de DP-1 soit, BW245C (1 et 10 µM), et de l'agoniste de CRTH2 soit, 13,14-dihydro-15-keto prostaglandine D₂ ou DK-PGD₂ (1 et 10 µM) pour une durée de 1 h ou 4 h. Enfin, nous avons incubé les cellules avec 100 pg/mL d'IL-1β durant 18h. Notons que les plaques de 12 puits (~300 000 cellules/puits) ont servi pour l'extraction de protéines.

4. Immunobuvardage

Les chondrocytes ont été lysés dans un tampon de lyse froid contenant 50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1 mM PMSF, 10 µg/mL aprotinine, 10 µg/mL leupeptine, 10 µg/mL pepstatine, 1% Nonidet P-40, 1 mM N Na₃VO₄ et 1 mM NaF. Les lysats sont soniqués sur de la glace. La concentration protéique est déterminée en utilisant

la méthode de l'acide bicinchoninique (Pierce). Nous avons laissé migrer 10 µg de protéines totales sur un gel d'électrophorèse de polyacrylamide sodium dodécyl sulfate, et les avons électrotransférées sur une membrane de nitrocellulose. La membrane (blot) est incubée à la température de la pièce pendant 1 h dans une solution de blocage (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, et 5% [w/v] de lait en poudre sans gras [Nestlé Carnation]). Par la suite, la membrane est incubée toute la nuit à 4°C avec les anticorps à l'étude soient MMP-1 (1 : 250), MMP-13 (1 : 500), iNOS (1 : 1000), DP-1 (1 : 200), CRTH2 (1 : 200), phospho p38 (1 : 500), p38 (1 : 2000), phospho p42/44 (1 : 1000), p42/44 (1 : 2000), phospho JNK (1 : 2000), phospho NF-κB p65 (1 : 2000), NF-κB p65 (1 : 500), β-actine (1 : 350); puis lavée (5 fois, 5 min chacune) avec un tampon de lavage (TBS ou Tris-Buffered Saline, pH 7.5, 0.1% Tween 20). Enfin, la membrane est incubée avec un anticorps secondaire murin pour MMP-1 ou un anticorps secondaire de lapin pour toutes les autres protéines, ces anticorps secondaires sont conjugués à la peroxydase. Par la suite, la membrane est lavée (5 fois, 5 minutes chacune), et incubée à nouveau avec un réactif luminescent ou « SuperSignal Ultra Chemiluminescent reagent » (Pierce). Enfin, elle est exposée sur un film autoradiographique à performance élevée (Amersham Biosciences).

5. Dosage de l'oxyde nitrique (NO)

Le niveau de nitrites utilisé comme indicateur de la production de NO, a été déterminé grâce à l'essai de Griess (Green et al, 1982). Brièvement, il s'agit d'ajouter à 100 μL de milieu de culture de chondrocytes, 100 μL de réactif de Griess, et de laisser le mélange reposer pendant 15 minutes à la température de la pièce tout en le protégeant de la lumière. Par la suite, l'absorbance est lue avec le lecteur ELISA à une longueur d'onde de 550 nm. Le réactif de Griess est constitué dans les proportions 1 : 1, de 1% de sulfanilamide dissout dans 5% de H_3PO_4 , et de 0.1% de dihydrochlorure de naphthyléthylènediamine dissous dans l'eau.

6. Extraction de l'ARN et RT-PCR

L'ARN total provenant de chondrocytes OA, a été isolé en utilisant le réactif de TRizol selon les instructions d'emploi du manufacturier. L'ARN a été quantifié grâce à une trousse commerciale nommée « RiboGreen RNA quantification kit » (Molecular Probes), dissous dans l'eau traitée au diéthylpyrocarbonate (DEPC), et placé à -80°C . 1 μg d'ARN total a été transcrit à l'inverse par la transcriptase inverse de type « Moloney murin leukemia » (Fermentas), suivant les directives du fabricant. Un cinquième de la réaction de transcription inverse est analysé par PCR (Réaction en Chaîne de la Polymérase) en temps réel.

7. PCR en temps réel

La PCR quantitative a été effectuée dans un volume total de 25 µL contenant l'ADNc, 200 nM d'amorces sens et anti-sens, le réactif « SYBR[®] Green » (Qiagen), et l'uracil-N-glycosylase (UNG, 0.5 Unités; Epicentre Technologies). Après l'incubation à 50°C pendant 2 minutes (réaction UNG) et à 95°C pendant 10 minutes (inactivation de l'UNG et activation de l'enzyme AmpliTaq Gold), les mélanges (ADN et réactifs) ont subi 40 cycles d'amplifications (15 secondes à 95°C pour la dénaturation, et 1 minute pour l'hybridation et l'extension à 60°C). Nous avons utilisé le système de détection de type « Gene Amp 57000 Sequence » (Applied Biosystems).

Les amorces suivantes ont été utilisées : DP-1 (259 paires de bases ou pb) sens 5'-GCAACCTCTATGCGATGCAC-3' (Gallant et al, 2005); et anti-sens 5'-CAAGGCTCGGAGGTCTTCT-3' (Hirai et al, 2001); CRTH2 (300 pb) sens 5'-CCTCTGTGCCAGAGCCCCACGATGTCGGC-3' et anti-sens 5'-CACGGCCAAGAAGTAGGTGAAGAAG-3' (Gallant et al, 2005); GAPDH (318 pb) sens 5'-CAGAACATCATCCCTGCCTCT-3' et anti-sens 5'-GCTTGACAAAGTGGTCGTTGAG-3' (Cheng et al, 2004).

8. Immunohistochimie

Nous avons effectué l'immunohistochimie des spécimens de cartilage normal et OA selon la technique décrite par notre laboratoire (Fahmi et al, 2001). Brièvement, ces

spécimens ont été fixés dans 4% de paraformaldéhyde, et mis en présence de la paraffine. Des coupes histologiques de 5 µm ont été déposés sur des lames, déparaffinés dans du toluène, et déshydratés dans l'éthanol. Les spécimens ont été par la suite préincubés avec la chondroïtinase ABC (0.25 Unités/mL dans du tampon salin de phosphate, PBS, pH 8.0) pendant 1 h à 37°C, suivi d'une incubation de 30 minutes dans du Triton X-100 (0.3%) à la température ambiante. Les lames sont lavées dans du PBS (pH 7.4), incubées dans 2% de peroxyde d'hydrogène/méthanol durant 15 minutes, puis incubées pour 1 h dans du sérum normal (Vector Laboratories) et enfin, recouvertes avec le premier anticorps, soit l'anticorps contre le récepteur DP-1 (1 : 50), soit l'anticorps contre le récepteur CRTH2 (1 : 50), durant 18 h et à 4°C dans une chambre humidifiée. Notons que les anticorps contre DP-1 et CRTH2, utilisés ici, sont les mêmes anticorps utilisés lors de l'immunobuvardage, mais les dilutions sont différentes. Les lames sont lavées trois fois dans le PBS (pH 7.4), incubées avec un anticorps secondaire (kit Vectastain) pendant 45 minutes à la température de la pièce. Après des lavages dans du PBS (pH 7.4), les lames sont colorées par la méthode complexe d'avidine-biotine (Vectastain ABC kit; Vector Laboratories). La couleur est développée par le 3,3-diaminobenzidine (DAB; Vector Laboratories) contenant du peroxyde d'hydrogène. La coloration de contraste a été effectuée avec de l'éosine. La spécificité du marquage a été évaluée en substituant l'anticorps primaire par un anticorps IgG non immun de lapin (Chemicon), de concentration similaire à celle de l'anticorps primaire employé. Il existe deux autres moyens de déterminer la spécificité du marquage :

l'utilisation de peptides bloquants spécifiques pour DP-1 et CRTH2 et, l'omission de l'anticorps primaire.

9. Analyses statistiques

Les données sont exprimées par la moyenne \pm SEM. Nous avons utilisé le test t de Student pairé, et considéré qu'une valeur de $p < 0.05$ est statistiquement significative.

Partie D. RÉSULTATS

I. EFFETS DE LA PGD₂

1. EXPRESSIONS DES PROTÉINES MMP-1 et MMP-13

Nous avons déterminé l'effet de la PGD₂ sur l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13. Les chondrocytes sont prétraités pendant 1 h avec la PGD₂, puis sont stimulés avec IL-1 β durant 18 h. MMP-1 et MMP-13 sont contenus dans le milieu de culture (surnageant). Les niveaux d'expression de MMP-1 et MMP-13 sont très faibles, voire indétectables, dans les chondrocytes arthrosiques servant de contrôle (Fig. 1). Notons que dans toutes les expériences, le contrôle équivaut aux chondrocytes arthrosiques non prétraités à la PGD₂ et non stimulés avec IL-1 β . IL-1 β augmente l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13. Par contre, aux concentrations 5, 10, et 20 μ M, la PGD₂ diminue de façon dose-dépendante les niveaux d'expression protéiques de MMP-1 et MMP-13. Donc la PGD₂ inhibe l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13 induite par IL-1 β .

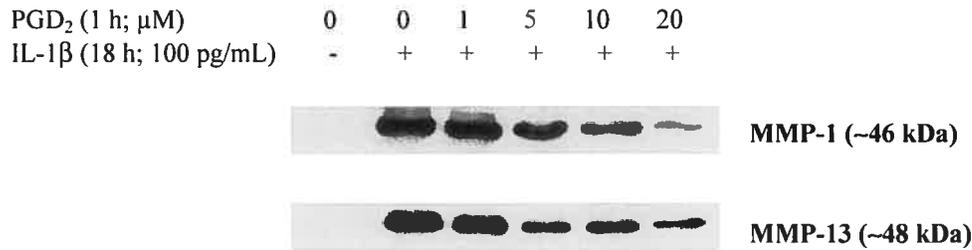


Figure 1. Inhibition par la PGD₂ de l'induction des protéines MMP-1 et MMP-13 médiée par IL-1 β dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraitées avec différentes concentrations de la PGD₂ pendant 1 h, puis stimulées avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 18 h. Cette figure est une représentation des résultats similaires obtenus avec cinq expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 20 μ L de milieu de culture.

2. PRODUCTION DE NO ET EXPRESSION PROTÉIQUE D'INOS

Nous avons examiné l'effet de la PGD₂ sur la production de NO. Comme le montre la figure 2, les chondrocytes contrôles montrent un niveau de NO très faible, tandis que les niveaux de NO pour tous les différents traitements, sont plus élevés par rapport au contrôle, et cela de manière statistiquement significative ($p < 0.05$). À partir de 5 μ M de PGD₂ la production de NO diminue par rapport à celle des chondrocytes stimulés uniquement avec IL-1 β . Cette réduction est d'environ 20%, 50% et 75% respectivement aux concentrations de 5 μ M, 10 μ M et 20 μ M de PGD₂, mais elle atteint une différence statistiquement

significative à 10 et 20 μM de PGD_2 . Ces résultats démontrent un effet d'inhibition de la PGD_2 sur la production de NO.

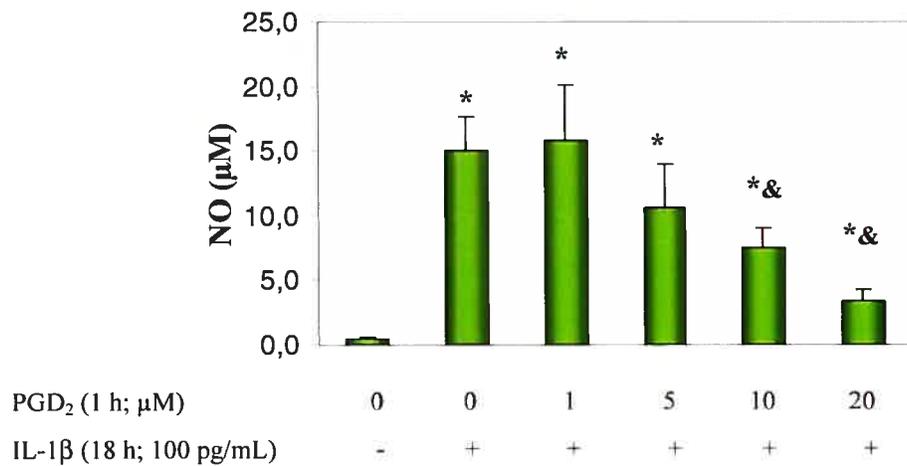


Figure 2. Diminution de la production de NO par la PGD_2 dans les chondrocytes arthrosiques humains.

Les chondrocytes sont prétraitées avec différentes concentrations de PGD_2 pendant 1 h, puis stimulées avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 18 h. Les résultats représentent la moyenne \pm SEM; $n = 8$ pour contrôle, IL-1 β seul et 10 μM PGD_2 + IL-1 β ; $n = 4$ pour 1-5 μM PGD_2 + IL-1 β ; $n = 6$ pour 20 μM PGD_2 + IL-1 β . * $p < 0.05$ vs contrôle, & $p < 0.05$ vs IL-1 β seul.

Nous nous sommes par la suite intéressés à étudier si la PGD_2 affecte l'expression protéique de l'enzyme inductible de synthèse de NO. Tel que représenté à la figure 3, le niveau d'expression d'iNOS est presque indétectable dans les conditions basales. Par

contre, les chondrocytes stimulés uniquement avec IL-1 β montrent une augmentation de l'expression d'iNOS par rapport au contrôle. Cependant, la PGD₂ réduit de manière croissante le niveau d'expression d'iNOS par rapport à celui obtenu avec la stimulation à IL-1 β seul, et cela, dès 5 μ M. Nos résultats démontrent donc clairement que la PGD₂ inhibe l'induction par IL-1 β de NO.

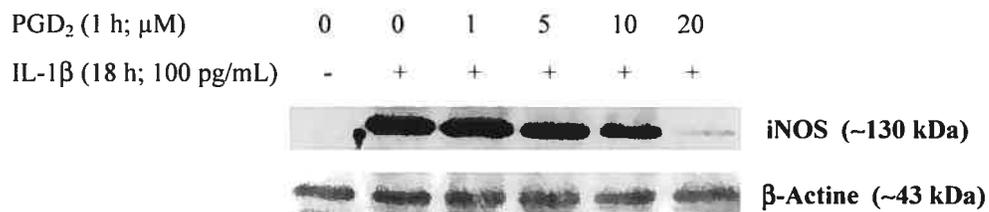


Figure 3. Inhibition par la PGD₂ de l'induction de l'expression protéique d'iNOS médiée par IL-1 β dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités avec des concentrations croissantes de PGD₂ pendant 1 h, puis stimulés avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 18 h. Cette figure est une représentation des résultats similaires obtenus avec quatre expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 10 μ g de protéines totales.

II. ÉTUDES DES MÉCANISMES IMPLIQUÉS

1. RÉCEPTEURS IMPLIQUÉS

1.1 Expressions des récepteurs membranaires de la PGD₂

Notre hypothèse stipule que les effets de la PGD₂ passent tout d'abord par la liaison avec des récepteurs. Tel que mentionné précédemment, deux de ces récepteurs membranaires, DP-1 et CRTH2, en se liant à la PGD₂, engendrent des effets pro- ou anti-inflammatoires dans plusieurs autres pathologies. Nous avons donc vérifié la présence de ces deux récepteurs membranaires sur les chondrocytes OA. La figure 4A présente les niveaux d'ARN, tandis que la figure 4B révèle la production de protéines de DP-1 et CRTH2 dans les chondrocytes OA de différents patients atteints d'arthrose. Gallant et al ont démontré l'expression des ARNm et protéines de DP-1 et CRTH2 dans les ostéoblastes humains (Gallant et al, 2005). Ces derniers constituent donc notre contrôle positif. Ces résultats démontrent que les chondrocytes OA expriment bel et bien les récepteurs DP-1 et CRTH2. Cependant, nous n'avons pas pu vérifier l'expression de ces récepteurs dans les chondrocytes normaux parce que nous ne disposions pas de cellules normales.

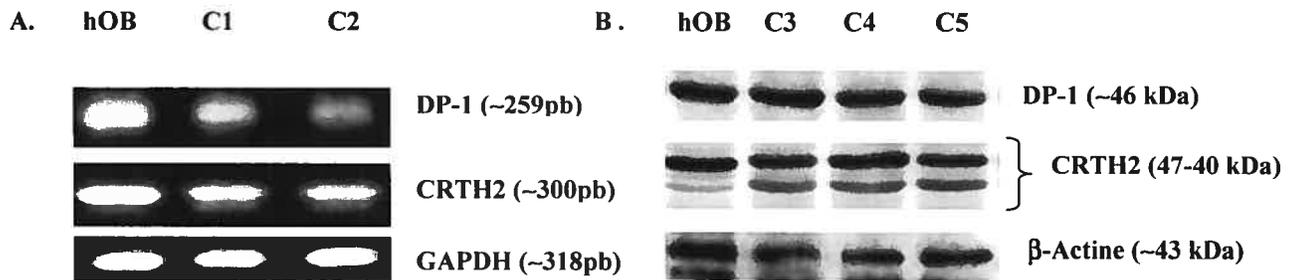


Figure 4. Expressions des ARNm (A) et des protéines (B) des récepteurs membranaires DP-1 et CRTH2 dans les chondrocytes arthrosiques humains. hOB : ostéoblastes humains, contrôle positif ; C : chondrocytes de différents patients OA numérotés de 1 à 5. A, la technique de PCR en temps réel, représentation des résultats similaires obtenus avec cinq expériences indépendantes. B, la technique d'immunobuvardage avec 25 µg de protéines totales, représentation des résultats similaires obtenus avec sept expériences indépendantes

De plus, nous avons examiné par la technique d'immunohistochimie, la présence des récepteurs DP-1 et CRTH2 dans le cartilage normal et le cartilage OA (Fig. 5). Les points noirs sur les coupes histologiques représentent le marquage avec l'anticorps spécifique pour chaque récepteur. Le marquage en rose correspond à l'éosine. La spécificité du marquage est confirmée par la coloration à l'IgG de lapin non immun (contrôle). Nous tenons à souligner que c'est la première fois que la présence de CRTH2 est montrée dans les chondrocytes normaux et OA. Ces résultats viennent donc confirmer la présence de récepteurs membranaires de la PGD_2 dans le cartilage humain.

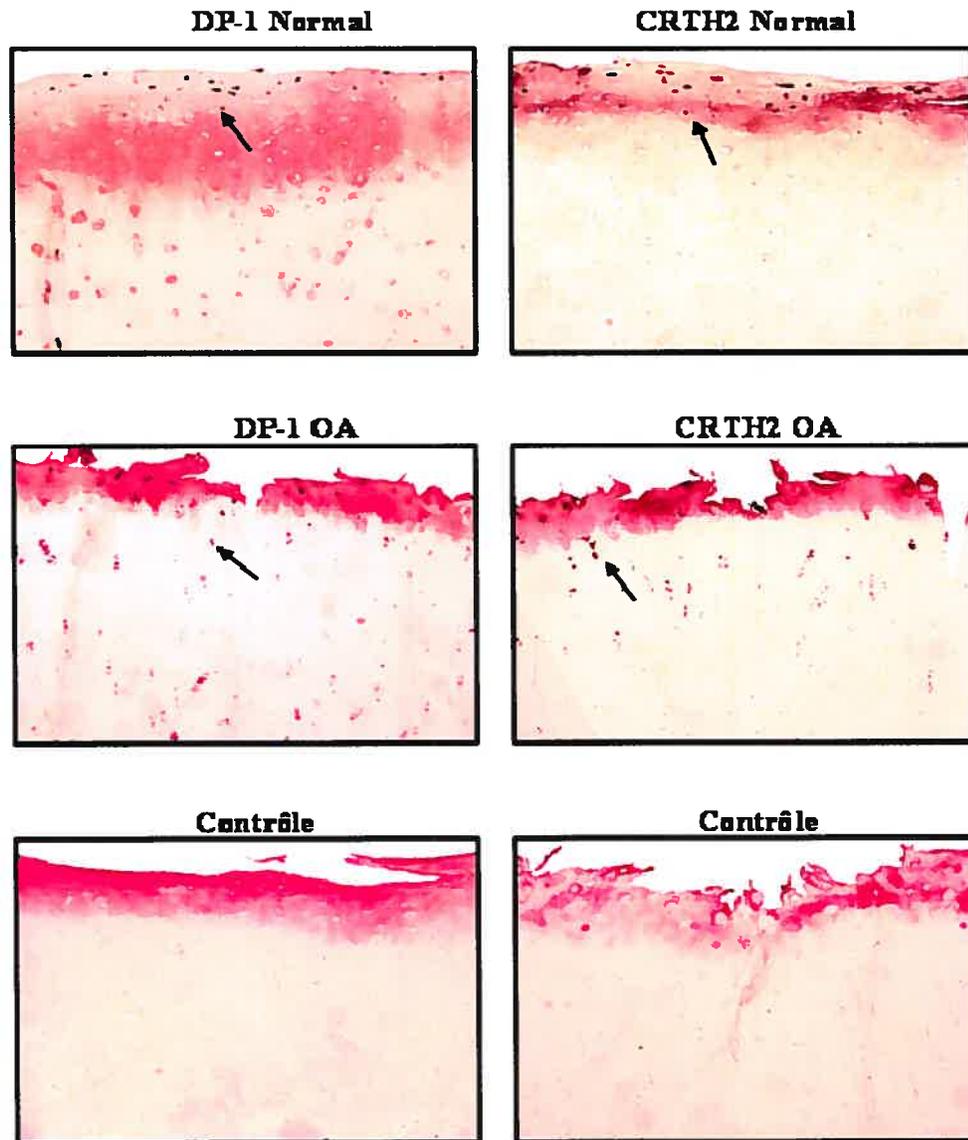


Figure 5. Expressions des récepteurs DP-1 et CRTH2 de la PGD₂ dans le cartilage normal (n=5) et le cartilage OA (n=5). Le contrôle négatif correspond à l'anticorps IgG de lapin non immun, utilisé dans la même concentration que celle de l'anticorps primaire. Ces résultats sont représentatifs de quatre spécimens différents. La flèche indique le marquage de la cellule exprimant le récepteur étudié.

1.2 Effets des agonistes spécifiques des récepteurs de la PGD₂

1.2.1 Expressions des protéines MMP-1 et MMP-13

Nous voulons déterminer si chacun des récepteurs membranaires de la PGD₂ participe à la diminution de MMP-1 et de MMP-13. Il est important de tenir compte du fait que la PGD₂ peut être métabolisée en milieu aqueux (Liston et al, 1985). Les chondrocytes arthrosiques humains ont été prétraités pendant 4 h, puis stimulés avec IL-1 β durant 18 h (Fig. 6). Nous vous présentons uniquement les résultats après 4 h de pré-incubation, car ces résultats ont montré un meilleur effet de la stimulation des récepteurs. BW245C et DK-PGD₂ sont les agonistes spécifiques et respectifs de DP-1 et CRTH2. Tout comme précédemment, MMP-1 et MMP-13 sont fortement exprimées dans les chondrocytes stimulés avec IL-1 β seul, par rapport aux contrôles. À 1 μ M, la PGD₂ n'affecte presque pas le niveau d'expression de MMP-1, tandis que celui de MMP-13 est diminué; à 10 μ M, la PGD₂ entraîne une diminution importante de l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13. Pour ce qui est des agonistes, nous voyons qu'à 10 μ M, BW245C induit une baisse significative de l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13. Par contre, DK-PGD₂ n'affecte pas les niveaux des MMP-1 et MMP-13. Ces résultats suggèrent donc que l'effet observé de PGD₂ sur l'expression des MMP-1 et MMP-13 impliquerait uniquement le récepteur DP-1.

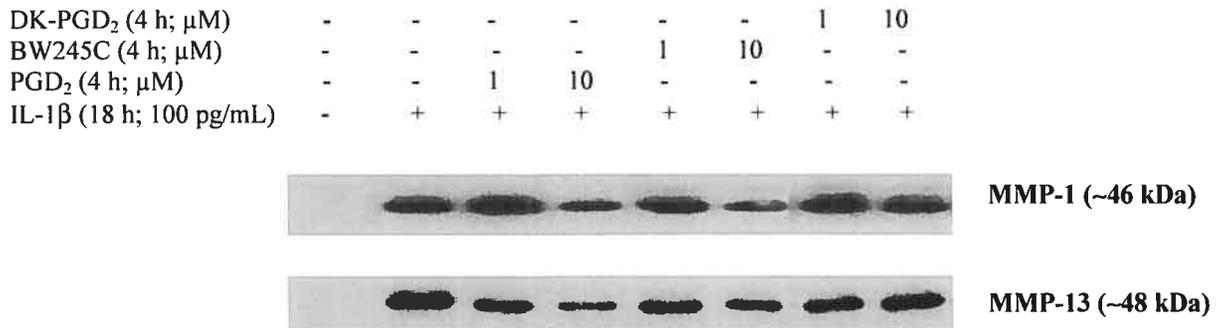


Figure 6. Effets de BW245C et DK-PGD₂ agonistes spécifiques respectifs de DP-1 et CRTH2 sur l'expression des protéines MMP-1 et MMP-13 dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités pendant 4 h avec deux concentrations de PGD₂, BW245C et DK-PGD₂, puis stimulés avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 18 h. Cette figure est représentative de trois expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 20 μ L de milieu de culture.

1.2.2 Production de NO et expression protéique d'iNOS

Nous avons ensuite étudié l'implication des récepteurs membranaires au niveau de la diminution de la production de NO par la PGD₂. La figure 7 montre à nouveau l'effet inhibiteur de la PGD₂ sur la production de NO, soit une diminution d'environ 20% et 75% respectivement aux concentrations de 1 μ M et 10 μ M de la PGD₂, et qui est statistiquement significative à 10 μ M de PGD₂ ($p < 0.05$). Les chondrocytes ayant reçu les différents traitements produisent de manière significative le NO ($p < 0.05$). Par contre, la production

de NO est faiblement diminuée (~15-20%), mais pas statistiquement significative, par les agonistes de chacun des récepteurs DP-1 et CRTH2.

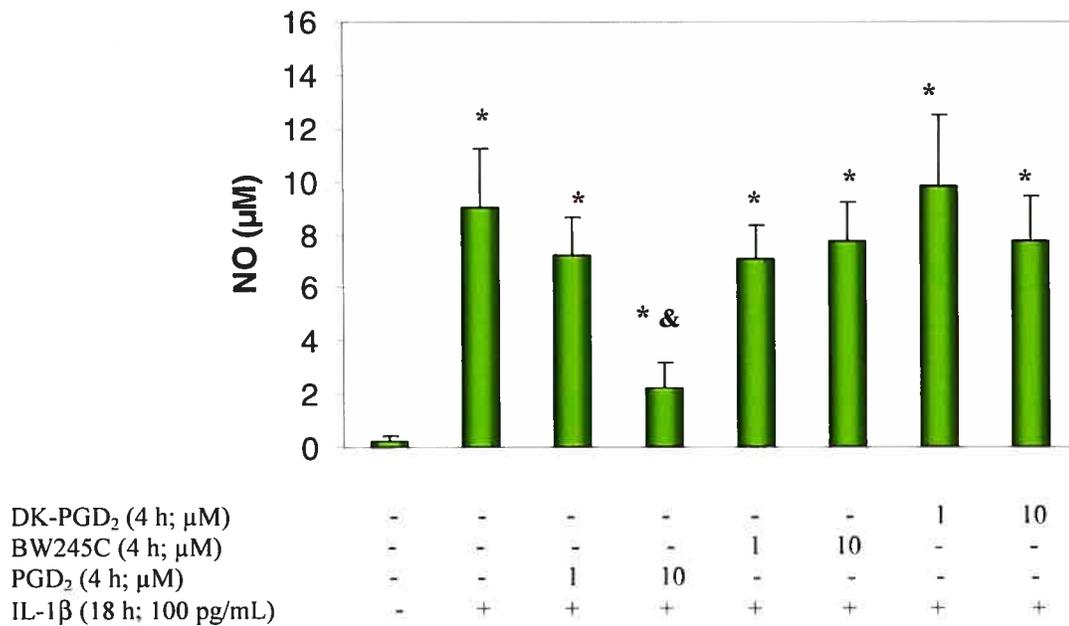


Figure 7. Effets de BW245C et DK-PGD₂ agonistes spécifiques et respectifs de DP-1 et CRTH2 sur la production de NO dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités avec différentes concentrations de PGD₂, BW245C et DK-PGD₂ pendant 4 h, puis stimulés avec IL-1β (100 pg/mL) durant 18 h. Les résultats représentent la moyenne ± SEM, n = 3. * p < 0.05 vs contrôle; & p < 0.05 vs IL-1β seul.

En ce qui concerne le niveau protéique d'iNOS, similairement les chondrocytes prétraités à la PGD₂ ont vu leur niveau d'expression d'iNOS baissé de manière dose-dépendante, et cela dès 1 µM, par rapport à ceux n'ayant été stimulés qu'avec IL-1β seule (Fig. 8). Par contre, ni BW245C, ni DK-PGD2 ne semblent affecter l'expression protéique d'iNOS. Ces résultats suggèrent qu'aucun des récepteurs membranaires de la PGD₂ n'est impliqué dans l'effet d'inhibition observé de la PGD₂ sur l'activité et l'expression d'iNOS.

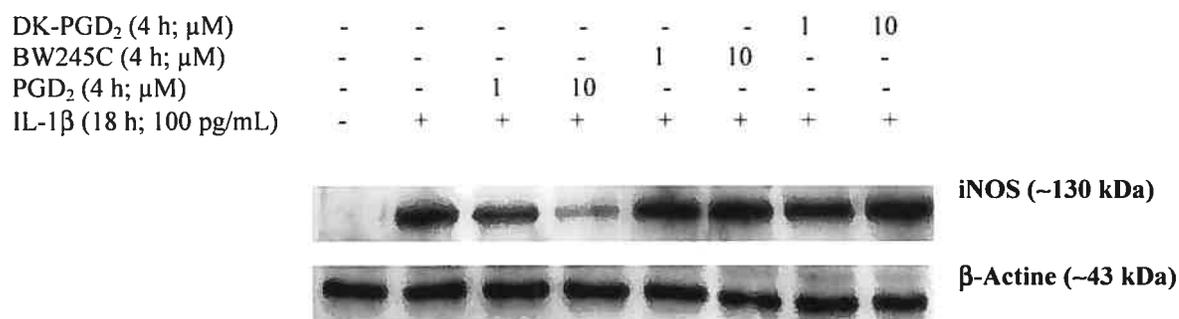


Figure 8. Effets de BW245C et DK-PGD2 agonistes spécifiques et respectifs de DP-1 et CRTH2 sur l'expression protéique d'iNOS dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités avec différentes concentrations de PGD₂, BW245C et DK-PGD2 pendant 4 h, puis stimulés avec IL-1β (100 pg/mL) durant 18 h. Cette figure est représentative de trois expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 10 µg de protéines totales.

2. VOIES DE SIGNALISATION INDUISANT LA SYNTHÈSE DE MMP-1, MMP-13, ET iNOS

Nous avons préalablement démontré que la PGD_2 inhibe l'expression de la stimulation par $IL-1\beta$ de MMP-1, MMP-13 et iNOS. Il est bien connu qu' $IL-1\beta$, en activant les voies de MAPK et de $NF-\kappa B$, induit la synthèse de MMP-1, MMP-13 et iNOS (Geng et al, 1996; Mengshol et al, 2000; Tak et al, 2001; Vincenti et al, 2002). Ainsi, nous avons étudié l'implication de la PGD_2 sur de ces voies de signalisation.

2.1 Voies des MAPKs (p38, JNK, et Erk)

Nous avons déterminé l'effet de la PGD_2 sur l'expression des protéines phosphorylées p38 (phospho p38), JNK (phospho JNK), et Erk1/2 (phospho p42/44). Ces protéines phosphorylées révèlent l'état d'activation des voies des MAPKs. Les chondrocytes OA humains ont été prétraités pendant 1 h avec la PGD_2 , puis stimulés avec $IL-1\beta$ durant 30 minutes (Fig. 9). En l'absence de stimulation avec $IL-1\beta$, les niveaux d'expression de phospho p38, phospho JNK et phospho p42/44 dans les chondrocytes OA humains sont très faibles et parfois non détectés par les anticorps utilisés. Lorsque stimulés avec $IL-1\beta$, les chondrocytes voient leurs niveaux en phospho p38, phospho JNK et phospho p42/44 augmentés par rapport aux contrôles. Cependant, quelle que soit la concentration de la PGD_2 utilisée, elle n'induit aucune variation sur l'expression de ces

protéines. De plus, il n'y a aucun changement des protéines totales p38, et p42/44. Notons tout de même que nous n'avons pas pu déterminer le niveau de protéines totales de JNK pour des raisons techniques avec l'anticopr.

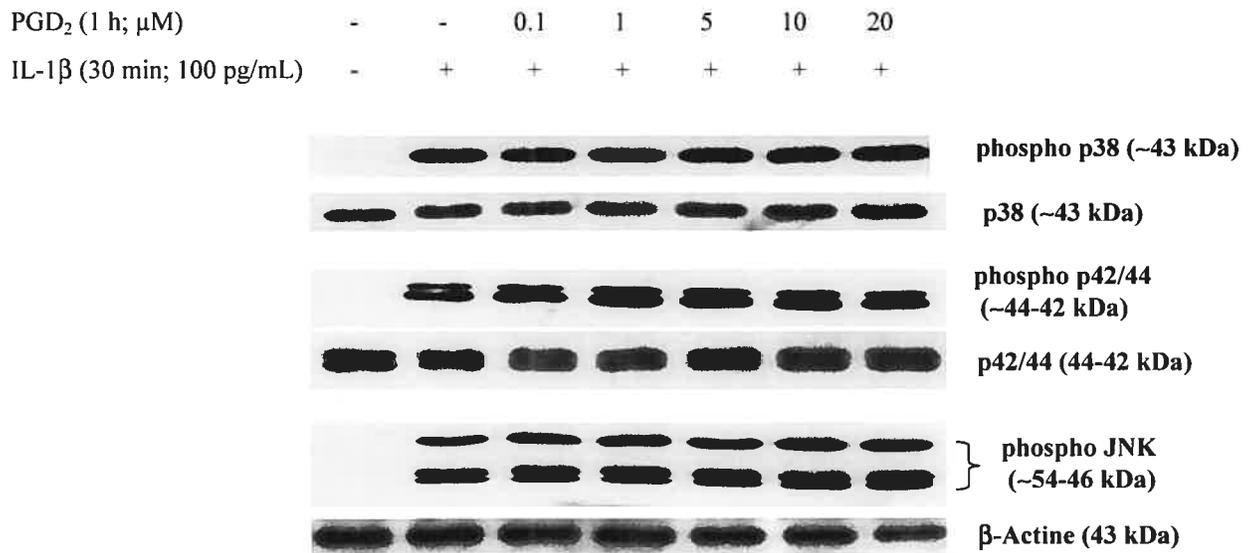


Figure 9. Effets de la PGD₂ sur la voie de signalisation des MAPKs dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités avec différentes concentrations de la PGD₂ pendant 1 h, puis stimulés avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 30 minutes. Cette figure est représentative de trois expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 10 μ g de protéines totales.

2.2 Voie de NF- κ B

Nous avons également examiné l'effet de la PGD₂ sur le facteur de transcription NF- κ B. Nous obtenons un niveau très bas de la protéine NF- κ B p65 phosphorylée (phospho NF- κ B p65) en l'absence de stimulation avec IL-1 β dans les chondrocytes arthrosiques humains (Fig. 10). IL-1 β stimule l'expression de la phospho NF- κ B p65 par rapport au contrôle. Par contre, les chondrocytes prétraités à la PGD₂ ne montrent aucune baisse du niveau de la phospho NF- κ B p65 par rapport aux cellules stimulées avec IL-1 β seul. De même, aucune variation du niveau des protéines totales de NF- κ B p65 n'a été observée.

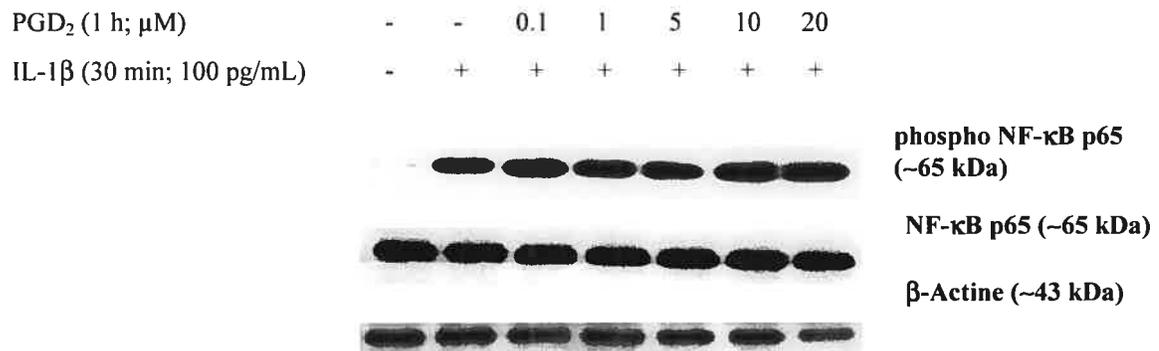


Figure 10. Effets de la PGD₂ sur la voie de signalisation NF- κ B dans les chondrocytes arthrosiques humains. Les chondrocytes sont prétraités avec différentes concentrations de la PGD₂ pendant 1 h, puis stimulés avec IL-1 β (100 pg/mL) durant 30 minutes. Cette figure est représentative de trois expériences indépendantes. Le niveau protéique est obtenu par la technique d'immunobuvardage avec 10 μ g de protéines totales.

Partie E. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Nous avons étudié dans ce projet de maîtrise, l'implication de la prostaglandine D₂ dans les réponses inflammatoires et cataboliques lors de l'arthrose.

Nous avons démontré que la PGD₂ inhibe l'induction par IL-1 β de l'expression des métalloprotéinases MMP-1 et MMP-13, de la production de NO et de l'expression d'iNOS dans les chondrocytes OA humains.

Il est connu que les chondrocytes stimulées avec IL-1 β voient augmenter significativement le niveau d'expression de MMP-1, MMP-13, et iNOS par rapport aux cellules non stimulées (Charles et al, 1993; Sakurai et al, 1995; Pelletier et al, 1997b). Nos résultats montrent une inhibition dose-dépendante par la PGD₂. À cet effet, les concentrations de la PGD₂ (1-20 μ M) utilisées dans notre étude sont celles généralement employées pour d'autres types de cellules (Hirai et al, 2001; Sawyer et al, 2002; Ward et al, 2002; Gallant et al, 2005; Liu et al, 2005). Aucune toxicité n'a été observée lors des différents traitements.

Nous avons montré que la PGD₂ inhibait à la fois l'activité et l'expression d'iNOS. Il faut se rappeler que l'activité d'iNOS est traduite par la production de NO. Nous pensons que la baisse d'expression d'iNOS, enzyme nécessaire à la production de NO, justifie la baisse de la production de ce facteur. Le profil similaire d'inhibition entre MMP-1, MMP-

13, NO et iNOS peut s'expliquer en partie par le fait que NO est connu pour activer et promouvoir la synthèse des MMPs (Pelletier et al, 1996; Clancy et al, 1998; Lotz et al, 1999). De même, la modulation directe de l'activité des MMPs par les donneurs de NO via la formation du peroxy-nitrite lié aux MMPs et la nitrosylation, a été démontrée (Rajgopalan et al, 1996; Owens et al, 1997). En outre, des études effectuées dans les laboratoires de l'Unité et ailleurs, ont montré que l'inhibition sélective *in vivo* d'iNOS réduit les symptômes de l'inflammation aussi bien que les aberrations biochimiques des tissus articulaires affectés (Connor et al, 1995; Martel-Pelletier et al, 1999; Pelletier et al, 1999a; Pelletier et al, 1999b; Pelletier et al, 2002).

Les métalloprotéinases, notamment MMP-1 et MMP-13, sont des enzymes impliquées dans la pathogenèse dégénérative des maladies articulaires (Harris et al, 1974; Krane et al, 1990; Chakraborti et al, 2003; Martel-Pelletier, 2004; Yasuda, 2006). L'implication de NO dans les maladies articulaires a été suggérée d'après les niveaux élevés de ses métabolites tels que les nitrites, les nitrates et les nitrosoprotéines, chez les patients atteints d'arthrose. Il est connu que NO joue un rôle dans l'induction de la mort des chondrocytes dans le cartilage humain OA (Stadler et al, 1991; Blanco et al, 1995; Evans et al, 1995; Hilliquin et al, 1997). Autrement dit, la forme radicalaire de l'oxyde nitrique (NO[•]) peut agir comme un agent toxique dans les processus pathologiques, particulièrement dans les désordres inflammatoires (Moncada et al, 1991; Alderton et al, 2001; Bogdan,

2001; Dawn et al, 2002). De plus, les chondrocytes sont considérés comme la source cellulaire intra-articulaire majeure de NO (Rediske et al, 1994; Evans et al, 1995). Ainsi, ces résultats sont intéressants et très prometteurs dans la mesure où la PGD₂ inhibe des facteurs surexprimés dans les chondrocytes OA qui favorisent la dégradation du cartilage. On peut ainsi se questionner sur une propriété potentielle anti-inflammatoire de la PGD₂.

Dans le but de comprendre comment la PGD₂ agit, nous avons déterminé quels seraient les mécanismes sous-jacents par lesquels la PGD₂ induirait ces effets. Nous nous sommes attardés d'une part, sur la stimulation des récepteurs membranaires de la PGD₂, et d'autre part, sur les voies de signalisation des MAPKs et de NF-κB.

Tout d'abord, nous avons voulu nous assurer de la présence des récepteurs membranaires de la PGD₂ dans les chondrocytes humains utilisées. En effet, il a été démontré que la PGD₂ se lie et active deux récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à la protéine G, à savoir DP-1 et CRTH2 (Boie et al, 1995; Hirai et al, 2001). Nous avons montré que le cartilage humain normal et OA expriment les récepteurs DP-1 et CRTH2. En utilisant les techniques de PCR en temps réel et d'immunobuvardage, nous avons respectivement pu démontrer la présence des ARNm et des protéines des deux récepteurs membranaires de la PGD₂ dans les chondrocytes OA humains. Pour ce qui est de la différence du niveau d'expression de l'ARNm de DP-1 nous pouvons l'expliquer par le

fait que les chondrocytes proviennent de patients OA qui n'ont pas exactement le même stade de la maladie, qui ont des antécédents médicaux différents, ou qui reçoivent des traitements différents. Tous ces facteurs auraient pu influencer l'expression de DP-1. De plus, l'analyse d'immunohistochimie effectuée sur le cartilage normal et le cartilage OA, vient confirmer la présence de DP-1 et CRTH2. Nous tenons à souligner que notre étude est la première à démontrer la présence du second récepteur membranaire CRTH2 dans le cartilage humain. D'autres études ont cependant identifié CRTH2 dans d'autres types cellulaires comme les cellules Th2, les éosinophiles, etc (Hirai et al, 2001; Monneret et al, 2001). De plus, nous nous sommes assurés (données non présentées) que la PGD₂ n'influençait pas l'expression de ces deux récepteurs membranaires.

Pour étudier spécifiquement l'implication des récepteurs membranaires de la PGD₂, nous avons utilisé BW245C et DK-PGD₂, les agonistes spécifiques de DP-1 et CRTH2 respectivement. Ces agonistes sont utilisés dans la plupart des études sur la PGD₂ et aux concentrations utilisées (Hirai et al, 2001; Monneret et al, 2002; Sawyer et al, 2002; Gallant et al, 2005; Liu et al, 2005). Nous avons montré que BW245C diminue l'expression protéique des MMP-1 et MMP-13, tandis que DK-PGD₂ ne les affecte pas. En comparant les résultats de la figure 1 et la figure 8, nous voyons également que 4 h de prétraitement avec la PGD₂ montre une diminution de MMP-13 et iNOS déjà à une concentration basse de la PGD₂ (1 µM), par rapport à 1 h de prétraitement avec la PGD₂. En somme, ces

résultats suggèrent que l'effet de la PGD_2 sur MMP-1 et MMP-13 passerait via le récepteur DP-1.

L'augmentation de l'adénosine 3', 5'-monophosphate cyclique (AMPC) a été décrite comme étant un mécanisme qui favorise la suppression de gènes transitoires (Case et al, 1990; Salati et al, 1991). Il a été rapporté que l'augmentation du niveau d'AMPC dans les fibroblastes humains inhibe l'activité enzymatique des collagénases (Koob et al, 1980). De plus, il est connu que dans d'autres types de cellules, la stimulation de DP-1 induit l'augmentation de l'AMPC, et que l'activation de CRTH2 induit la diminution de l'AMPC (Hirata et al, 1994; Boie et al, 1995; Hirai et al, 2001; Sawyer et al, 2002). Toutes ces informations pourraient justifier que BW245C en se liant à DP-1 induit une augmentation de l'AMPC qui entraînera par la suite la diminution de l'expression de MMP-1 et MMP-13, ce qui n'est pas le cas avec DK- PGD_2 . Par conséquent, l'augmentation du niveau d'AMPC pourrait être associée avec une réduction de l'expression de MMP-1 et MMP-13.

Par ailleurs, notre étude a montré qu'il y avait une très faible diminution non statistiquement significative seulement au niveau de la production de NO et aucun changement au niveau de l'expression d'iNOS lorsque chacun des récepteurs membranaires de la PGD_2 était stimulé par son agoniste spécifique. Ces résultats suggèrent que ni DP-1,

ni CRTH2 ne semblent participer à l'inhibition de NO. Il apparaît donc que d'autres facteurs y soient impliqués, et ceux-ci restent encore à être identifiés.

Des études effectuées dans d'autres types cellulaires révèlent que la PGD₂ est plus puissante que les ligands de ses récepteurs membranaires DP-1 et CRTH2. L'affinité pour le récepteur DP-1 chez la souris est classée comme suit PGD₂ > BW245C. De plus, des essais de liaisons compétitives révèlent que l'ordre d'affinité pour le récepteur DP-1 recombinant humain est PGD₂ > PGJ₂ > Δ¹²-PGJ₂ > 15 d-PGJ₂, et pour le récepteur CRTH2 recombinant humain est PGD₂ ≥ DK-PGD₂ ≥ 15 d-PGJ₂ > PGJ₂ ≥ Δ¹²-PGJ₂ ≥ indométacine ≥ 15(s)-15 methyl-PGD₂ (Wright et al, 1998; Sawyer et al, 2002; Nagata et al, 2003). D'après ces éléments, nous pouvons penser que la synergie des effets de la PGD₂ sur ses deux récepteurs membranaires, pourrait être amoindrie lorsque seulement un des récepteurs membranaires est stimulé. Cependant, nous avons également étudié d'autres agonistes de CRTH2 notamment R-PGD₂ et l'indométacine, et les résultats étaient similaires à ceux obtenus avec DK-PGD₂. BW245C est habituellement le seul agoniste spécifique pour DP-1 étudié et publié dans la littérature.

Étant donné que ni DP-1, ni CRTH2 ne semblent expliquer l'effet d'inhibition du NO, nous pouvons croire que la réponse se trouve ailleurs. Nous pensons qu'il est possible que le récepteur nucléaire de la PGD₂, à savoir PPAR_γ, pourrait être impliqué à ce niveau. Des études antérieures ont montré que PPAR_γ stimulé par ses agonistes, inhibe la

production de plusieurs médiateurs inflammatoires incluant IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, NO, ou MMP-9 (Jiang et al, 1998; Ricote et al, 1998; Marx et al, 1998; Su et al, 1999). De plus, il a été montré que l'induction de PPAR γ inhibe la stimulation par IL-1 β à la fois de l'expression de MMP-13 et de la production de NO dans les chondrocytes humains (Fahmi et al, 2001). L'étude de Fahmi et al a utilisé pour l'induction de PPAR γ , le 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J₂ (15d-PGJ₂). Ce dernier est un métabolite de la PGD₂. En effet, lorsque la PGD₂ est synthétisée (voir schéma de la biosynthèse des prostaglandines, Partie A, Fig.4), Shibata et al suggèrent que la PGD₂ est initialement convertie par déshydratation en PGJ₂ et en 15d-PGD₂. Par la suite, la PGJ₂ génère 15d-PGJ₂ et Δ^{12} -PGJ₂ (Shibata et al, 2002).

D'autre part, les voies de signalisation des MAPKs et de NF- κ B activées par IL-1 β , font partie des voies centrales dans la pathogenèse de l'arthrose. Des études sur l'induction de la voie des MAPKs, en particulier p38 et MEK-1/2, ont montré leur implication dans la régulation à la hausse de l'apoptose, de l'expression du gène d'iNOS, et de la production de NO, dans des chondrocytes bovins ou canins OA stimulés avec IL-1 β (Badger et al, 1998; Badger et al, 2000; Pelletier et al, 2001). Elles participent donc à l'induction d'effets cataboliques au niveau du cartilage (Geng et al, 1996; Barchowsky et al, 2000; Mengshol et al, 2000 ; Vincenti et al, 2002). Ces cascades de kinases conduisent à la transcription des gènes des MMPs comme MMP-1 et MMP-13, et d'iNOS (Geng et al, 1996; Mengshol et

al, 2000; Vincenti et al, 2002). Étant donné que la PGD₂ inhibe l'induction par IL-1 β de l'expression des protéines MMP-1, MMP-13, et iNOS, nous avons étudié l'effet de la PGD₂ sur ces voies de signalisation. Nos résultats ne révèlent aucun effet de la PGD₂ sur ces dernières, ce qui suggère que la PGD₂ agit possiblement à un autre niveau pour induire une baisse d'expressions de MMP-1, MMP-13 et iNOS. Par ailleurs, en tenant compte du rôle possiblement joué par le récepteur nucléaire de la PGD₂, il a été démontré que l'inhibition d'iNOS et MMP-13 par la stimulation de PPAR γ se produirait à travers la répression des voies de signalisation NF- κ B et AP-1 (Fahmi et al, 2001).

Les objectifs principaux dans la gestion de l'arthrose sont de réduire les symptômes, de minimiser les inaptitudes fonctionnelles et de limiter la progression des dommages structuraux. Des progrès considérables ont été faits dans ce sens, mais non sans risques. Découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques et développer des composés capables de moduler la progression de l'arthrose restent un défi.

Actuellement, de nouvelles approches thérapeutiques pour l'arthrose s'intéressent à l'inhibition des MMPs, et à la réduction de la production excessive de NO. À ce jour, il y a très peu études cliniques sur les inhibiteurs des MMPs. Certains effets indésirables (ex. tendinite) et l'absence d'efficacité ont été révélés (Close, 2001; Henrotin et al, 2002; Skilles et al, 2004; Steinmeyer et al, 2006). Néanmoins, la recherche se poursuit sur les moyens de réguler l'expression et l'activité des MMPs, et nous pensons que le fait d'induire la production de la PGD₂ serait un moyen intéressant. En ce qui concerne l'inhibition de

l'activité d'iNOS, Pelletier et al ont montré que les doses thérapeutiques de l'inhibiteur d'iNOS appelé N-iminoethyl-L-lysine, diminuent de manière dose-dépendante la taille des lésions du cartilage et l'incidence des ostéophytes, dans des chiens où l'arthrose a été produite (Pelletier et al, 1998). Cependant, certains de ces produits peuvent produire lors de l'utilisation courante, des effets indésirables qui ont jusqu'à présent limité leur développement. Ainsi, la PGD_2 pour son rôle joué dans l'inhibition de MMP-1, MMP-13, NO et iNOS, et pour le fait qu'elle est naturellement produite par l'organisme humain, peut susciter un intérêt intéressant comme nouvelle cible thérapeutique.

Quelques perspectives peuvent être envisagées dans la suite de cette étude, afin de comprendre complètement les mécanismes par lesquels la PGD_2 inhibe certains facteurs cataboliques.

Tout d'abord d'autres études peuvent être menées dans des chondrocytes humains d'une part, pour déterminer le niveau d'AMPc produit au cours de la stimulation des récepteurs membranaires de la PGD_2 et d'autre part, pour examiner l'effet de la stimulation et l'inhibition de l'AMPc sur l'expression de MMP-1, MMP-13, iNOS et la production de NO. Cela nous permettra de voir l'implication de cette voie sur l'expression de ces gènes dans les chondrocytes humains.

D'autres voies de signalisations peuvent être également étudiées telles que AP-1. En effet, AP-1 contribue dans la régulation de plusieurs processus tels que la prolifération, la différenciation, les réponses aux stress reliés à des stimuli ou des agents toxiques, etc. Chacune de ces situations physiologiques ou pathophysiologiques est régulée par une combinaison spécifique des membres de la famille *Jun* et *Fos* (homo ou hétérodimère). AP-1 fait aussi partie des facteurs de transcription importants dans l'expression des MMPs. La plupart des gènes des MMPs contiennent un site conservé d'AP-1 à la même localisation. Plusieurs évidences montrent que l'activation d'AP-1 est une étape nécessaire dans la chaîne des événements qui conduisent à l'érosion du cartilage (Kinne et al, 1994; Mulherin et al, 1996; Shiozawa et al, 1996; Kirwan, 1997; Mengshold et al, 2000; Mechta-Grigoriou et al, 2001). Plus précisément, un rôle direct d'AP-1 a été démontré durant la transcription des gènes de MMP-1 et MMP-13 par les cytokines telles qu'IL-1 et IL-17 (Benderdour et al, 2002; Sylvester et al, 2004). Plusieurs études de cotransfection ont montré que la forte expression des protéines *Jun* et *Fos* améliore l'activité du promoteur de MMP-1 (Vincenti et al, 1996; Benbow et al, 1997). D'autres études ont révélé chez les souris déficientes en *c-fos* que ce facteur est nécessaire pour l'induction des gènes de MMP-13 (Hu et al, 1994).

Par ailleurs, des études *in vivo* peuvent-être envisagées chez des animaux atteints d'arthrose. Il s'agirait d'administrer la PGD₂ et les agonistes sélectifs de DP-1 et CRTH2 aux animaux normaux et OA, afin de déterminer leurs effets sur l'expression de facteurs

cataboliques (ex. MMPs, NO), sur l'expression des facteurs inflammatoires (ex. COX-2, mPGES-1), et sur la progression de l'arthrose. Plusieurs modèles animaux ont été étudiés suivant les approches spontanées (Gaffen et al, 1997; Huebner et al, 1998), induites mécaniquement (Pond et al, 1973; Vignon et al, 1987; Marijnissen et al, 2002), et chimiquement (Dumond et al, 2004) dans de nombreux animaux comme le chien (Matyas et al, 2002), le lapin (Bluteau et al, 2002), le mouton (Little et al, 1996, Young et al, 2005) et d'autres (Gaffen et al, 1997; Huebner et al, 1998; Stoop et al, 2000). Notre laboratoire dispose déjà d'un modèle de chien OA (Boileau et al, 2006). Le modèle OA de chien possède plusieurs avantages tels que la possibilité de pratiquer une analyse topographique du cartilage articulaire et des ponctions répétées du liquide synovial, et ce modèle se rapproche plus de l'arthrose chez l'humain (Smith et al, 1997). Il n'en demeure pas moins que les modèles animaux d'arthrose actuels donnent une idée sur le processus entraînant la dégradation du cartilage, et des informations sur les changements survenant durant l'arthrose précoce, et, servent aussi à tester de nouveaux composés et approches thérapeutiques (Helga et al, 2006).

Partie F. CONCLUSION

L'arthrose affecte les gens de tous les groupes ethniques, dans toutes les localisations géographiques, et se développe à la fois chez l'homme et chez la femme, bien qu'elle apparaisse plus couramment chez la femme. L'arthrose est la cause la plus fréquente d'invalidité à long terme chez la plupart des personnes âgées, et représente un fardeau économique très important pour les gouvernements et le patient.

Notre étude a montré que la PGD_2 induit l'inhibition de l'induction par $IL-1\beta$ de l'expression des protéines MMP-1, MMP-13, iNOS et de la production de NO dans les chondrocytes OA humains. Les chondrocytes expriment les récepteurs membranaires DP-1 et CRTH2. L'effet d'inhibition des MMP-1 et MMP-13 pourrait passer via le récepteur DP-1, tandis que ni DP-1, ni CRTH2 ne semblent intervenir dans l'effet d'inhibition d'iNOS et NO observé. D'autre part, la PGD_2 n'induirait aucun effet sur les voies de signalisation MAPKs et $NF-\kappa B$.

En dépit des traitements médicaux, nutritionnels, et physiques, ou du remplacement de l'articulation atteinte, le problème de l'arthrose n'est pas encore résolu. Cependant, notre étude a permis une meilleure compréhension de l'implication de la PGD_2 sur les processus cataboliques dans l'arthrose.

BIBLIOGRAPHIE

A

Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal* 2001; 357: 593-615

Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1986; 62: 1039-1049

Attur M, Dave M, Leung M, Abramson S, Amin AR. Differential expression of brain PGD₂ synthase in OA cartilage: role and mechanism of action of PGD₂ in eicosanoid metabolism. *Arthritis Rheum* 2003; 48: S430

Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: epidemiology. *Best Prac Research Clin Rheumatol* 2006; 20: 3-25

Arthroscope. La Société d'Arthrite du Canada. Les effets de l'arthrite dans la vie des Canadiens, 2003.
<http://www.arthrite.ca>

Astin JA. Why patients use alternative medicine: results of a national study, *JAMA* 1998; 279: 1548-1553

B

Badger AM, Cook MN, Lark MW, Newman-Tarr TM, Swift BA, Nelson AH, Barone FC, Kumar S. SB 203580 inhibits p38 mitogen-activated protein kinase, nitric oxide production, and inducible nitric oxide synthase in bovine cartilage-derived chondrocytes. *J Immunol* 1998; 161: 467-473

Badger AM, Roshak AK, Cook MN, Newman-Tarr TM, Swift BA, Carlson K, Connor JR, Lee LC, Gowen M, Lark MW, Kumar S. Differential effects of SB 242235, a selective p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, on IL-1 treated bovine and human cartilage/chondrocyte cultures. *Osteoarthritis Cartilage* 2000; 8: 434–443

Barchowsky A, Frleta D, Vincenti MP. Integration of NkappaB and mitogen-activated protein kinase/AP-1 pathways at the collagenase-1 promoter: divergence of IL-1 and TNF-dependent signal transduction in rabbit primary synovial fibroblasts. *Cytokine* 2000; 12: 1469-1479

Bardin T, Éveillard A. Mieux vivre avec l'arthrose. *Pratiques Hachette Santé*, 2005; 128 pages

Beckman JS, Koppenol WH. NO, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol* 1996; 40: C1424-C1437

Benbow U, Brinckerhoff CE. The AP-1 site and MMP gene regulation: What is all the fuss about? *Matrix Biol* 1997; 15: 519–526

Bender M, Tardif G, Pelletier JP, Di Battista JA, Reboul P, Ranger P, Martel-Pelletier J. Interleukin 17 (IL-17) induces collagenase-3 production in human osteoarthritic chondrocytes via AP-1 dependent activation: differential activation of AP-1 members by IL-17 and IL-1beta. *J Rheumatol* 2002; 29: 1262-1272

Berenbaum F. Osteoarthritis: epidemiology, pathology, and pathogenesis. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp 285-289

Bischoff HA, Roos EM. Effectiveness and safety of strengthening, aerobic, and coordination exercises for patients with osteoarthritis. *Curr Opin Rheum* 2003; 15: 141-144

Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H, Lotz M. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am J Pathol* 1995; 146: 75-85

Bluteau G, Gouttenoire J, Conrozier T, Mathieu P, Vignon E et al. Differential gene expression analysis in a rabbit model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament (ACL) section. *Biorheology* 2002; 39: 247-258

Bogdan C. Nitric oxide and immune response. *Nature Immunology* 2001; 2: 907-916

Boie Y, Sawyer N, Slipetz DM, Metters KM, Abramovitz M. Molecular cloning and characterization of human prostanoid DP receptor. *J Biol Chem* 1995; 270: 18910-18916

Boileau C, Martel-Pelletier J, Brunet J, Tardif G, Schrier D, Flory C, El-Kattan A, Boily M, Pelletier JP. Oral treatment with PD-0200347, an alpha2delta ligand, reduces the development of experimental osteoarthritis by inhibiting metalloproteinases and inducible nitric oxide synthase gene expression and synthesis in cartilage chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 488-500

Boskey AL, Posner AS. Bone structure, composition, and mineralization. *Orthop Clin North Am* 1984; 15: 597-612

Boskey AL. The musculoskeletal system: bone. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp17-21

Brandt KD, Myers SL, Burr D, Albrecht M. Osteoarthritis changes in canine articular cartilage, subchondral bone and synovium fifty-four months after transection of the anterior cruciate ligament. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1560-1570

Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, Breyer MD. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 661-690

Buckwalter JA, Rosenberg LC, Hunziker EB. Articular composition, structure, Response to injury and methods of facilitation repair, in: *Articular Cartilage and Knee Joint function, Basic Science and Arthroscopy*, Bristol-Myers/Zimmer Orthopaedic Symposium, New York Raven Press 1990, 19-56.

Buckwalter J, Mow V, Ratcliffe A. Restoration of injured or degenerated articular cartilage. *J Am Acad Orthop Surg* 1994; 2: 192-201

Buckwalter JA, Lane NE, Gordon SL. Exercise as a cause of osteoarthritis, in: K.E. Kuettner, V.M. Goldberg (Eds.). *Osteoarthritic Disorders*, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, IL, 1995, pp 405-417

Buckwalter JA, Mankin HJ. Articular cartilage II. Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. *J Bone Jt Surg* 1997; 79A: 612-632

C

Cannon GW. Osteoarthritis: treatment. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp293-297

Case JP, Lafyatis R, Kumkumian GK, Remmars EF, Wilder RL. IL-1 regulation of transin/stromelysin transcription in rheumatoid synovial fibroblasts appears to involve two antagonistic transduction pathways, an inhibitory prostaglandin-dependent pathway mediated by cAMP, and a stimulatory, protein kinase C-dependent pathway. *J Immunol* 1990; 145: 3755-3761

Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T. Regulation of matrix metalloproteinases : an overview. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 269-285

Chapman K, Mustafa Z, Irven C, Carr AJ, Clipsham K et al. Osteoarthritis-susceptibility locus on chromosome 11q, detected by linkage. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 167-174

Charles IG, Palmer RM, Hickery MS et al. Cloning, characterization and expression of a cDNA encoding an inducible nitric oxide synthase from the human chondrocyte. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11419-11423

Cheng S, Afif H, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Li X, Farrajota K, Lavigne M, Fahmi H. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators inhibit interleukine-1 β - induced membrane-associated prostaglandin E₂ synthase-1 expression in human synovial fibroblasts by interfering with Egr-1. *J Biol Chem* 2004; 279: 22057-22065

Cibere J, Kopec JA, Thorne A, Singer J, Canvin J, Robinson DB, Pope J et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled glucosamine discontinuation trial in knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 51: 738-745

Cimmino MA, Cutolo M. Plasma glucose concentrations in symptomatic osteoarthritis: a clinical and epidemiological survey. *Clin Exp Rheum* 1990; 8: 251-257

Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1141-1151

Clarck AG, Jordan JM, Vilim V, Renner JB, Dragomir AD et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity: the Johnston Country Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2356-2364

Close DR. Matrix metalloproteinase inhibitors in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 62-67.

Coggon D, Reading I, Croft P, McLaren M, Barrett D, Cooper C. Knee osteoarthritis and obesity. *Int J Obes Relat Meta Disord* 2001; 25:622-627

Coleman R, Smith WL, Narumiya S. VIII. International Union of Pharmacology Classification of Prostanoid Receptors: Properties, distribution, and structure of the receptor and their subtypes. *Pharmacol Rev* 1994; 46: 205-229

Connor JR, Manning PT, Settle SL, Moore WM, JeromeGM, Webber RK et al. Suppression of adjuvant-induced arthritis by selective inhibition of nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 1995; 273: 15-24

D

Dawn B, Bolli R. Role of nitric oxide in myocardial preconditioning. *Ann New York Acad Sciences* 2002; 962: 18-41

Derijard B, M Hibi, IH Wu et al. JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain. *Cell* 1994; 76: 1025-1037

Dougados M, Nguyen M, Berdah L, Mazieres B, Vignon E, Lequesne M. ECHODIAH Investigators Study Group, Evaluation of the structure-modifying effects of diacerein in hip osteoarthritis: ECHODIAH, a three-year, placebo-controlled trial. Evaluation of the chondromodulating effect of diacerein in OA of the hip. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2539-2547.

Dumond H, Presle N, Pottier P, Pacquelet S, Terlain B et al. Site specific changes in gene expression and cartilage metabolism during early experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12: 284-295

E

Edwards JCW. The musculoskeletal system: synovium. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp22-26

Egg D, Gunther R, Herold M, Kerschbaumer F. Prostaglandins E2 and F2 alpha concentrations in the synovial fluid in rheumatoid and traumatic knee joint diseases. *Z Rheumatol* 1980; 39: 170-175

Eisenberg DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S et al. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey. *JAMA* 1998; 280: 1569-1575.

Evans CH, Stefanovic-Racic M, Lancaster J. Nitric oxide and its role in orthopaedic disease. *Clin Orthop* 1995; 312: 275-294

Evi K, Trond U. Emerging roles of DP and CRTH2 in allergic inflammation. *Trends in Molecular Medecine* 2006; 12: 148-158

F

Fahmi H, Di Battista JA, Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Martel-Pelletier J. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators inhibit interleukine-1 β - induced nitric oxide and matrix metalloproteinase 13 production in human chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 595-607

Fahmi H, Pelletier JP, Martel-Pelletier J. PPAR γ ligands as modulators of inflammatory and catabolic responses in arthritis. An overview. *J Rheumatol* 2002; 29: 3-14

Fahmi H. mPGES-1 as a novel target for arthritis. *Curr Opin Rheum* 2004; 16: 623-627

Farrajota K, Cheng S, Martel-Pelletier J, Afif H, Pelletier JP, Li X, Ranger P, Fahmi H. Inhibition of interleukine-1 β - induced cyclooxygenase 2 expression in human synovial

fibroblasts by 15-désoxy- $\Delta^{12, 14}$ – prostaglandin J_2 through a histone deacetylase-independent mechanism. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 94-104

Felson DT, Zhang Y, Anthony JM, Naimark A, Anderson JJ. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The framinghan Study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 535-539

Felson DT. The epidemiology of osteoarthritis: prevalence and risk factors. In: K.E. Kuettner, V.M. Goldberg (Eds.). *Osteoarthritic Disorders*, American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, IL, 1995: pp13-14

Felson DT, Zhang Y. An update on the epidemiology of knee and hip osteoarthritis with a view to prevention. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1343-1355

Felson DT, Lawrence RC, Dieppe PA, Hirsch R, Helmick CG, Jordan JM, Kington RS et al. Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its factors. *Ann Intern Med* 2000; 133: 635-646

Fernandes JC, Martel Pelletier J, Pelletier JP. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 2002; 39: 237-246

Folkerts G, Kloek J, Muijsers R, Nijkamp FP. Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 251-262

Fox RI, Kang H. Structure and function of synoviocytes. In: *Arthritis and Allied Conditions*; twelfth edition vol. 1, Malvern, Lea & Febiger, 1993: pp.263-278

Frenkel SR, Di Cesare PE. Degradation and repair of articular cartilage. *Front Biosc* 1999; 4: d671-d685

G

Gaffen JD, Bayliss MT, Mason RM. Elevated aggrecan mRNA in early murine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5: 227-233

Gannon JM, Walker G, Fischer M, Carpenter R, Thompson RC Jr, Oegema TR Jr. Localization of type X collagen in canine growth plate and adult canine articular cartilage. *J Orthop Res* 1991; 9: 485-494

Gallant MA, Samadfam R, Hackett JA, Antoniou J, Parent JL, de Brum-Fernandes AJ. Production of prostaglandin D(2) by human osteoblasts and modulation of osteoprotegerin, RANKL, and cellular migration by DP and CRTH2 receptors. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 672-81

Geng Y, Valbracht J, Lotz M. Selective activation of mitogen-activated protein kinase subgroups c-Jun NH₂ terminal kinase and p38 by IL-1 and TNF in human articular chondrocytes. *J Clin Invest* 1996; 98: 2425-2430

Gilbey HJ, Ackland TR, Wang AW, Morton AR, Troughet T et al. Exercise improves early functional recovery after total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 2003; 408: 193-200

Goldring MB. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1916-1926

Goldring MB. The musculoskeletal system: articular cartilage. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp 10-16

Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131-138

Green J. The physicochemical structure of bone: cellular and noncellular elements. *Miner Electrolyte Metab* 1994; 20: 7-15

Grynbas MD, Alpert B, Katz I, Lieberman I, Pritzker KP. Subchondral bone in osteoarthritis. *Calcif Tissue Int* 1991; 49: 20-26

H

Han J, Lee JD, Bibbs L, Ulevitch RJ. A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells. *Science* 1994; 265: 808-811

- Hardingham TE, Fosang AJ.** Proteoglycans: many forms and many functions. *FASEB J* 1992; 6: 861-870
- Harris Jr ED, Welgus HG, Krane SM.** Collagenase. *N Engl J Med* 1974; 291: 557-563
- Hata AN, Breyer RM.** Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacol Therap* 2004; 103: 147-166
- Helga L, Wiltrud R.** Osteoarthritis: cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 2006; 40: 135-163
- Henrotin Y, Sanchez C, Reginster JY.** The inhibition of metalloproteinases to treat osteoarthritis: reality and new perspectives. *Expert Opin Ther Patents* 2002; 12: 29-43
- Hilliquin P, Borderie D, Hervann A, Menkes CJ, Ekindjian OG.** Nitric oxide as S-nitrosoproteins in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1512-1577
- Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, Ogawa K, Kenmotsu K, Takamori Y et al.** Prostaglandin D₂ selectively induces chemotaxis in T Helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* 2001; 193: 255-261
- Hochberg MC.** Osteoarthritis: clinical features. In: Klipper JH, Crofford LJ, Stone JH, Weyand CM (eds) *Primer On The Rheumatic Diseases*. Georgia: The Arthritis Foundation, 2001: pp289-292
- Hu E, Mueller F, Oliviero S, Papaioannou VE, Johnson R, Spiegelman BM.** Targeted disruption of the c-fos gene demonstrates c-fos-dependent and -independent pathways for gene expression stimulated by growth factors or oncogenes. *EMBO J* 1994; 13: 3094-3103
- Huebner JL, Otterness IG, Freund EM, Caterson B, Kraus VB.** Collagenase 1 and collagenase 3 expression in a guinea pig model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 877-890
- Huebner JL, Hanes MA, Beekman B, TeKoppele JM, Kraus VB.** A comparative analysis of bone and cartilage metabolism in two strains of guinea-pig with varying degrees of naturally occurring osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 758-767
- Hughes R, Carr A.** A randomized, double-blind, placebo controlled trial of glucosamine sulphate as an analgesic in osteoarthritis of the knee. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 279-284

J

Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammation cytokines. *Nature* 1998; 391: 82-86

K

Kabashima K, Narumiya S. The DP receptor, allergic inflammation and asthma. *Prostaglandins, leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2003; 69: 187-194

Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. Appleton & Lange, California, 1989; pp.228-241

Kevorkian L Young DA, Darrah C, Donell ST, Shepstone L, Porter S, Brockbank SM et al. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in cartilage. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 131-141

Kinne RW, Boehm S, Iftner T. Synovial fibroblast-like cells strongly express Jun-B and c-Fos proto-oncogenes in rheumatoid and osteoarthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 1994; 23: 111-115

Kirwan JR. The relationship between synovitis and erosions in rheumatoid arthritis. *British Journal of Rheumatology* 1997; 36: 225-228

Koob TJ, Jeffrey JJ, Eisen AZ, Bauer EA. Hormonal interactions in mammalian collagenase regulation. Comparative studies in human skin and rat uterus. *Biochem Biophys Acta* 1980; 629: 13-23

Krane SM. Introduction to rheumatic diseases. In: Rubinstein E, Federman DD (eds) *Scientific American Medicine*. Scientific American, New York, pp 1-10

L

Lane NE, Gore LR, Cummings SR, Hochberg MC, Scott JC, Williams EN, Nevitt MC. Serum vitamin D levels and incident changes of radiographic hip osteoarthritis: a longitudinal study. Study of Osteoporotic Fractures Research group. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 854-860

Lequesne MG, Dang N, Lane NE. Sport practice and osteoarthritis of limbs. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5: 75-80

Levik JR. Blood flow and mass transport in synovial joints. In: Renkin EM, Michel CC (eds) Handbook of physiology, vol IV, Microcirculation, Part 2. Bethesda, MD: American Physiological society, 1984; pp 917-947

Li X, Afif H, Cheng S, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Ranger P, Fahmi H. Expression and regulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human osteoarthritic cartilage and chondrocytes. *J Rheumatol* 2005; 32: 887-895

Lievensse AM, Bierma-Zeinstra SMA et al. Influence of sporting activities on the development of osteoarthritis of the hip: a systematic review. *Arthritis Care Res* 2003; 49: 228- 236

Liston TE, Roberts LJ. Metabolic fate of radiolabeled prostaglandin D₂ in normal human male volunteer. *J Biol Chem* 1985; 260: 13172-13180

Little CB, Gholsh P, Bellenger CR. Topographic variation in biglycan and decorin synthesis by articular cartilage in the early stages of osteoarthritis: an experimental study in sheep. *J Orthop Res* 1996; 14: 433-444

Liu F, Gonzalo JA, Manning S, O'Connell LE, Fedyk ER, Burke KE, Elder AM et al. Pharmacological characterization of guinea pig chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells (CRTH2). *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2005; 76: 133-47

Lotz M, Hashimoto S, Kuhn K. Mechanisms of chondrocyte apoptosis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 389-391

M

Mahmud I, Ueda N, Yamaguchi H, Yamasha R, Yamamoto S, Kanaoka Y et al. Prostaglandin D synthase in human megakaryoblastic cells. *J Biol chem* 1997; 272: 28263-28266

Mallette Y. Les maladies arthritiques - Traitements et solutions. Les éditions Quebecor, 2006 ; 144 pages

Mapp PI, Kidd BL, Gibson SJ, Terry JM, Revell PA, Ibrahim NB, Blake DR, Polak JM. Substance P-, calcitonin gene-related peptide- and C-flanking peptide of neuropeptide Y-immunoreactive fibres are present in normal synovium but depleted in patients with rheumatoid arthritis. *Neuroscience*. 1990; 37: 143-153

Marijnissen AC, van Rosermund PM, TeKoppele JM, Bijlsma JW, Lafeber FP. The canine groove model compared with the ACLT model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 145-155

Marks SC Jr, Popoff SN. Bone cell biology: the regulation of development, structure, and function in the skeleton. *Am J Anat* 1988; 183: 1-44

Marx N, Sukhova G, Murphy C, Libby P, Plutzky J. Macrophages in human atheroma contain PPAR-gamma: differentiation-dependent peroxysome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) expression and reduction of MMP-9 activity through PPARgamma activation in mononuclear phagocytes in vitro. *Am J Pathol* 1998; 153: 17-23

Martel-Pelletier J, Alaaeddine N, Pelletier JP. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Front Biosci* 1999; 4: D694-D703

Martel-Pelletier J, Welsch DJ, Pelletier JP. Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2001 Dec; 15(5): 805-829

Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Fahmi H. Cyclooxygenase-2 and prostaglandins in articular tissues. *Semin Arthritis Rheum* 2003 ; 33 :155-167

Martel-Pelletier J. Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage* 2004; 12: S31-S33

Martineck V. Anatomy and pathophysiology of articular cartilage. *Dtsch Z Sportmed* 2003; 54: 166-170

- Matyas JR, Huang D, Chung M, Adams ME.** Regional quantification of cartilage type II collagen and aggrecan messenger RNA in joints with early experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1536-1543
- McAlindon TE, Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Aliabadi P, Weissman B et al.** Relation of dietary intake and serum levels of vitamin D to progression of osteoarthritis of the knee among participants in the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1996; 125: 353-359
- McCoy JM, Wicks JR, Audoly LP.** The role of prostaglandin E2 receptors in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 2002; 110: 651-658
- Mechta-Grigoriou F, Gerald D, Yaniv M.** The mammalian Jun proteins: redundancy and specificity. *Oncogene* 2001; 20: 2378-2389
- Mengshol JA, Vincenti MP, Coon CL, Barchowsky A, Brinckerrhoff CE.** Interleukine-1 induction of collagenase 3 (matrix metalloproteinase 13) gene expression in chondrocytes requires p38, c-Jun N-terminal kinase, and nuclear factor kappaB: differential regulation of collagenase 1 and collagenase 3. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 801-811
- Miller SB.** Prostaglandins in health and disease: an overview. *Semin Arthritis Rheum* 2006; 36: 37-49
- Millis MB, Murphy SB, Poss R.** Osteotomies about the hip for the prevention and treatment of osteoarthritis. *Instr Course Lect* 45 (1996), pp. 209-226
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Biosynthesis of NO from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 1709-1715
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** NO: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142
- Monneret G, Gravel S, Diamond M, Rockach J, Powell WS.** Prostaglandin D₂ is a potent chemoattractant for human eosinophils that acts via a novel DP receptor. *Blood* 2001; 98: 1942-1948
- Monneret G, Cossette C, Gravel S, Rockach J, Powell WS.** 15R-methyl-prostaglandin D₂ is a potent and selective CRTH2/DP2 receptor agonist in human eosinophils. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 349-355

Mulherin D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Clinical improvement and radiological deterioration in rheumatoid arthritis: evidence that the pathogenesis of synovial inflammation and articular erosion may differ. *British Journal of Rheumatology* 1996; 35: 1263–1268

N

Nagata K, Tanaka K, Ogawa K et al. Selective expression of a novel surface molecule by human Th2 cells in vivo. *J Immunol* 1999; 162: 1278-1286

Nagata K, Hirai H. The second PGD₂ receptor CRTH2: structure, properties and functions in leukocytes. *Prost Leukot Essent Fatty Acids* 2003; 69: 169-177

Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiological Rev* 1999; 79: 1193-1226

Nestor BJ. Surgical treatment of the rheumatoid elbow. An overview. *Rheum Dis Clin North Am* 1998; 24: 83-99

Nevitt MC, Cummings SR, Lane NE, Hochberg MC, Scott JC, Pressman AR et al. Association of estrogen replacement therapy with the risk of osteoarthritis of the hip in elderly white women. *Arch Inter Med* 1996; 156: 2073-2080

O

Owens MW, Milligan SA, Jourdeuil D, Grisham MB. Effects of reactive metabolites of oxygen and nitrogen on gelatinase A activity. *Am J Physiol* 1997; 273: L445-L450

P

Park JY, Pilliger MH, Abramson SB. Prostaglandin E₂ synthesis and secretion : the role of PGE₂ synthases. *Clinical Immunology* 2006; 119: 229-240

Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Tardif G, Martel-Pelletier J. The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: possible role in osteoarthritic cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage* 1996; 4: 77-84

Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Cytokines, prostaglandins, and NSAIDs in cartilage integrity. In : *Recent Advances in Arthritis Research*. New York : Phase Five 1997a: 1-27

Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Howell DS. Etiopathogenesis of osteoarthritis. In: Koopman WJ , editor. *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*. 13th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997b, p. 1969-84

Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, Manning P, Connor JR, Currie MG, Di Battista JA, Martel-Pelletier J. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1275– 1286

Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, Manning P, Connor JR et al. Reduction in the structural changes of experimental osteoarthritis by nitric oxide inhibitor. *Osteoarthritis Cartilage* 1999a; 7: 416-418

Pelletier JP, Lascau-Coman V, Jovanovic D, Fernandes JC, Manning P et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors. *J Rheumatol* 1999b; 26: 2002-2014

Pelletier JP, Fernandes JC, Jovanovic DV, Reboul P, Martel-Pelletier J. Chondrocyte death in experimental osteoarthritis is mediated by MEK 1/2 and p38 pathways: role of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. *J Rheumatol* 2001; 28: 2509– 2519

Pelletier JP, Martel-Pelletier J. The novartis-ILAR rheumatology prize 2001 osteoarthritis : from molecule to man. *Arthritis Res* 2002; 4: 13-19

Pond MJ, Nuki G. Experimentally induced osteoarthritis in the dog. *Ann Rheum Dis* 1973; 32: 387-388

R

Rajgopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of the vascular metalloproteinases in vitro: implication for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest* 1996; 98: 2572-2579

Rao JK, Mihaliak K, Kroenke K, Bradley J, Tierney, Weinberger M. Use of complementary therapies for arthritis among patients of rheumatologists. *Ann Intern Med* 1999; 131: 409-416

Rediske J, Koehne CF, Zhang B, Lotz M. The inducible production of nitric oxide by articular cell types. *Osteoarthritis Cartilage* 1994; 2: 199-206

Reginster JY. The prevalence and burden of arthritis. *Rheumatol* 2002; 41 (supp 1): 3-6

Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK. The peroxysome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998; 391: 79-82

Rindone JP, Hiller D, Collacott E, Nordhaugen N, Arriola G. Randomized, controlled trial of glucosamine for treating osteoarthritis of the knee. *West J Med* 2000; 172: 91-94

Robey PG, Termine JD. Human bone cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1985; 37: 453-460

Rocchi S, Auwerx J. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ : a versatile metabolic regulator. *Ann Med* 1999; 31: 342-351

S

Sakurai H, Kohsaka H, Liu MF, Higashiyama H, Hirata Y, Kanno K et al. Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in inflammatory arthritides. *J Clin Invest* 1995; 96: 2357-63

- Salati LM, Ma X-J, McCormick CC, Stapleton SR, Goodrige AG.** Triiodothyrosine stimulates and cyclic AMP inhibits transcription of gene for malic enzyme in chick embryo hepatocytes in culture. *J Biol Chem* 1991; 266: 4010-4016
- Sawyer N, Cauchon E, Chateauneuf A et al.** Molecular pharmacology of human prostaglandin D₂ receptor, CRTH2. *Br J Pharmacol* 2002; 137:1163-1172
- Sazi-Puttini P, Cimmo M, Acarpa R, Caporali R et al.** Osteoarthritis: an overview of the disease and its treatment strategies. *Seminars Arthritis Rheum* 2005; 35 (suppl1): 1-10
- Scher JU, Pillinger MH.** 15d-PGJ2: the anti-inflammatory prostaglandin? *Clin Immunol* 2005; 114: 100-109
- Shan ZZ, Masuko-Hongo K, Dai SM, Nakamura H, Kato T, Nishioka K.** A potential role of 15-deoxy-delta (12,14)-prostaglandin J2 for induction of human articular chondrocyte apoptosis in arthritis. *J Biol Chem* 2004; 279: 37939-37950
- Sharma L, Kapoor D, Issa S. et al.** Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 147-156
- Shibata T, Kondo M, Osawa T, Shibata N, Kobayashi M, Uchida K.** 15-deoxy-delta 12,14-prostaglandin J2. A prostaglandin D2 metabolite generated during inflammatory processes. *J Biol Chem* 2002; 277: 10459-10466
- Shiozawa S, Shimizu K, Tanaka K, Hino K.** Studies on the contribution of c-fos/AP-1 to arthritic joint destruction. *Journal of Clinical Investigation* 1996; 99: 1210-1216
- Simkin PA.** Synovial physiology. In: *Arthritis and Allied Conditions*; twelfth edition vol. 1, Malvern, Lea & Febiger, 1993: pp.199-212
- Skiles JW, Gonnella NC, Jeng AY.** The design, structure, and clinical update of small molecular weight matrix metalloproteinase inhibitors. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2911-2977
- Slawomir M Wojtowicz-Praga, Robert B Dickson, Michael J Hawkins.** Matrix metalloproteinase inhibitors. *Invest New Drugs* 1997; 15: 61-75
- Smith M.M, Little CB, Rodgers K, Ghosh P.** Modèles animaux utilisés pour l'évaluation des médicaments anti-arthrosiques. *Pathologie et biologie* 1997; 45 : 313-320
- Spector TD, Cicuttini F, Baker J, Loughlin J, Hart D.** Genetic influences on osteoarthritis in women: a twin study. *BMJ* 1996; 312: 940-943

Stadler J, Stefanovic-Racic M, Billiar TR et al. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J Immunol* 1991; 147: 3915-3920

Steinmeyer J, Konttinen YT. Oral treatment options for degenerative joint disease – presence and future. *Advanced Drugs Delivery Reviews* 2006; 58: 168-211

Stoop R, Buma P, van der Kraan PM, Hollander AP, Clark Billinghamurst R et al. Differences in type II collagen degradation between peripheral and central cartilage of rat stifle joints after cranial cruciate ligament transection. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2121-2131

Su CG, Wen X, Bailey ST, Jiang W, Rangwala SM, Keilbaugh SA et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR γ ligands to inhibit the epithelial inflammatory response. *J Clin Invest* 1999; 104: 383-389

Sylvester J, Liacini A, Li WQ, Zafarullah M. Interleukin-17 signal transduction pathways implicated in inducing matrix metalloproteinase-3, -13 and aggrecanasa-1 genes in articular chondrocytes. *Cell Signal* 2004; 16: 469-476

T

Tak PP, Firestein GS. NF- κ B : a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11

Thie NM, Prasad NG, Major PW. Evaluation of glucosamine sulfate compared to ibuprofen for the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis: a randomized double blind controlled 3 month clinical trial. *J Rheumatol* 200; 28: 1347– 1355

Tsuboi K, Sugimoto Y, Ichikawa A. Prostanoid receptor subtypes. *Prost lipid mediators* 2002; 68-69: 535-556

U

Urade Y, Hayaishi O. Prostaglandin D synthase: structure and function. *Vitam Horm* 2000; 58: 89-120

Urade Y, Eguchi N. Lipocalin-type and hematopoietic prostaglandin D synthases as a novel example of functional convergence. *Prost Other Lipid Mediat* 2002; 68-69: 375-382

V

Van Baar ME, Assendelft WJ et al. Effectiveness of exercise therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee: a systematic review of randomized clinical trials. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1361-1369

Vignon E, Bejui J, Mathieu P, Hartmann JD, Ville G, Evreux JC et al. Histological cartilage changes in a rabbit model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1987; 14: 104-106

Vincenti MP, White LA, Schroen DJ, Benbow U, Brinckerhoff CE. Regulating expression of the gene for matrix metalloproteinase-1 (collagenase): Mechanism that control enzyme activity, transcription and mRNA stability. *Crit Rev Eukaryol Gene Exp* 1996; 6: 391-411

Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis : integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res* 2002; 4: 157-164

W

Ward C, Dransfield I, Murray J, Farrow SN, Haslett C, Rossi AG. Prostaglandin D2 and its metabolites induce caspase-dependent granulocyte apoptosis that is mediated via

inhibition of I kappa B alpha degradation using a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-independent mechanism. *J Immunol* 2002; 168: 6232-6243

WHO or World Health Organization

<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2003/pr81/fr/print.html>

WHO; World Health Report Archives 1995-2000. 2001

<http://www.who.int/whr2001/2001/archives/1997/factse.htm>

WHO; Global economic and health care burden of musculoskeletal disease. 2001
www.boneandjointdecade.org

Wieland HA, Michaelis M, Kirschbaum BJ, Rudolphi KA. Osteoarthritis - an untreatable disease? *Nature Reviews* 2005; 4: 331-344

Wilkinson LS, Edwards JC. Microvascular distribution in normal human synovium. *J Anat* 1989; 167: 129-136

Wright GD, Hughes AE, Regan M, Doherty M. Association of two loci on chromosome 2q with nodal osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 317-319

Wright DH, Metters KM, Abramovitz M, Ford-Hutchinson AW. Characterization of recombinant human prostanoid DP receptor and identification of L-644 698, a novel selective DP agonist. *Br J Pharmacol* 1998; 123: 1317-1324

Wright DH, Nantel F, Metters KM, Ford-Hutchinson AW. A novel biological role of PGD2 is suggested by distribution studies of rat DP prostanoid receptor. *Eur J Pharmacol* 1999; 377: 101-115

Y

Yasuda T. Cartilage destruction by matrix degradation products. *Mod Rheum* 2006 ; 16 : 197-205

Young AA, Smith MM, Smith SM, Cafe MA, Ghosh P, et al. Regional assesment of articular cartilage gene expression and small proteoglycan metabolism in an animal model of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R852-R861

Z

Zingarelli B, Cook JA. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ is a new therapeutic target in sepsis and inflammation. *SHOCK* 2005; 23: 393-399

