N° d'ordre : **ANNÉE 2016**

THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

THÈSE EN VUE DU
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Elodie Le Tilly

née le 1er avril 1989 à Fontenay aux Roses

Emergence des méthodes non invasives pour évaluer l'arthrose en préclinique

Thèse soutenue à Rennes
le 29 janvier 2016

devant le jury composé de :

Vincent LAGENTE
Professeur en Pharmacologie - Pharmacien
Faculté de Pharmacie Université Rennes 1 / *Président*

Laurent BECK
Chargé de Recherche Inserm
INSERM U791 LIOAD – Nantes / *Directeur de thèse*

Lydie SPARFEL
Professeur en Toxicologie - Pharmacien
Faculté de Pharmacie Université Rennes 1 / *Juge*

FACULTÉ DE PHARMACIE

UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Année 2016 No.

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Elodie Le Tilly

Née le 01/04/1989 à Fontenay aux Roses

Emergence des méthodes non invasives pour évaluer l'arthrose en préclinique

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 29 janvier 2016

Président de thèse : Monsieur Vincent Lagente – Professeur en Pharmacologie

Directeur de thèse : Monsieur Laurent Beck – Chargé de Recherche INSERM

Juge : Madame Lydie Sparfel – Professeur en Toxicologie

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE POUR L'ANNEE UNIVERSITAIRE DE SOUTENANCE :

CORPS ENSEIGNANT – FACULTE DE PHARMACIE

Faculté de Pharmacie de Rennes 1

Année universitaire 2015-2016

PROFESSEURS

BOUSTIE	Joël	LE CORRE	Pascal
BURGOT	Gwenola	LORANT (BOICHOT)	Elisabeth
DONNIO	Pierre-Yves	MOREL	Isabelle
FAILI	Ahmad	SERGENT	Odile
FARDEL	Olivier	SPARFEL-BERLIVET	Lydie
FELDEN	Brice	TOMASI	Sophie
GAMBAROTA	Giulio	URIAC	Philippe
GOUGEON	Anne	VAN DE WEGHE	Pierre
LAGENTE	Vincent	VERNHET	Laurent

PROFESSEURS ASSOCIES

BUREAU Loïc

DAVOUST Noëlle

PROFESSEURS EMERITES

CILLARD Josiane

MAITRES DE CONFERENCES

ABASQ-PAOFAI	Marie-Laurence	CHOLLET-KRUGLER	Marylène
ANINAT	Caroline	COLLIN	Xavier
AUGAGNEUR	Yoann	CORBEL	Jean-Charles
BEGRICHE	Karima	DAVID	Michèle
BOUSARGHIN	Latifa	DELALANDE	Olivier
BRANDHONNEUR	Nolwenn	DELMAIL	David
BRUYERE	Arnaud	DION	Sarah
BUNETEL	Laurence	DOLLO	Gilles

GILOT	David	MARTIN-CHOULY	Corinne
GOUAULT	Nicolas	MINET	Jacques
HITTI	Eric	MOURET-PLEIBER	Liza
JEAN	Mickaël	NOURY	Fanny
LECUREUR	Valérie	PINEL-MARIE	Marie-Laure
LE FERREC	Eric	PODECHARD	Normand
LE PABIC	Hélène	POTIN	Sophie
LEGOUIN-GARGADENNEC	Béatrice	RENAULT	Jacques
LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	ROUILLON	Astrid

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

GICQUEL Thomas

ATER

SMIDA Imen
PASCREAU Gaëtan
SAVARY Camille

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur Vincent Lagente pour m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse.

Merci également à Madame Lydie Sparfel pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur Laurent Beck pour avoir accepté de diriger ma thèse, et pour tout le temps qu'il a pu accorder à la rédaction et la correction de ce travail. Merci de m'avoir donné l'envie de continuer dans cette voie, pour ta confiance, ta disponibilité, ton humour et tes conseils. Merci aussi d'avoir accepté la direction de ma thèse de sciences, ces trois années vont, grâce à toi, être enrichissantes sur le plan professionnel, mais aussi personnel.

Merci à Messieurs Pierre Weiss et Jérôme Guicheux, pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire à Nantes.

Je remercie également toutes les personnes qui m'ont entourée pendant ces six années d'étude : à Rennes à la faculté, à Nancy en master 2, et à Nantes en stage de fin d'étude.

Enfin, merci à ceux qui me soutiennent au quotidien, rendez-vous à l'embuscade pour fêter ça.
A ma binôme de toujours Céline, on fêtera nos 10 ans d'amitié à l'heure où je soutiendrais cette thèse.
A mes copines de pharma Marie, Julie, Aurore, Adeline et Delphine pour ces six (même sept) années d'étude, et soirées pharma, ensembles.
A mes amis lorrains, Fanny, Anthony, Leslie, Cindy, Camille, Cynthia, Sandra, Maxence, Abdel, Elodie, Alexandra, Sissi, pour m'avoir fait découvrir Nancy lors de mon Master 2.
A mes collègues de bureau devenues plus que des amies : Maude, Mélanie, les Ninas, Leslie, Claire, Maeva.
A tous les autres membres du laboratoire, Vincent, Olivier, Greig, Cyril, Paulette,

Alexandra, Boris, Richard, Cécile, Laure, Fanny, Audrey, Guillaume, Michaël, Solenne, Maxence, Carole, Louise, Killian, Julie, Sophie, Maeva, Joëlle, Paul, Philippe, Sarah, Anne, Claire, Christophe, pour leur sympathie, leurs conseils, leur amitié et leur bonne humeur, pendant ces trois années au laboratoire.

Finalement, merci à ma famille, ma maman et mes frères Florian et Sébastien (et sa petite famille à lui), pour m’avoir supporté pendant ces six années, voire pendant ces 26 dernières années…

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES 9

LISTE DES TABLEAUX 11

LISTE DES ANNEXES 13

LISTE DES ABREVIATIONS 14

INTRODUCTION 16

PARTIE 1 : BIOLOGIE DU CARTILAGE ARTICULAIRE ET PHYSIO-PATHOLOGIE DE L'ARTHROSE 18

1. Le cartilage articulaire 18

1.1 Généralités 18

1.2. Les constituants du cartilage articulaire 20

1.2.1 Composition moléculaire 20

1.2.2 Les chondrocytes 20

1.2.3 La Matrice Extra-Cellulaire (MEC) 21

1.2.3.1 Les Protéoglycanes (PG) et Glycosaminoglycanes (GAG) 23

1.2.3.1.1 Les hyalectanes 25

1.2.3.1.2 Les protéoglycanes de membrane basale 27

1.2.3.1.3 Les petits protéoglycanes riches en leucine (SLRP) 27

1.2.3.1.4 Les protéoglycanes de surface 27

1.2.3.2 Les collagènes 28

1.2.3.2.1 Structure des fibres de collagène 29

1.2.3.2.2 Les collagènes du cartilage articulaire 30

1.2.3.3 Les autres constituants de la MEC 33

1.3 Le remodelage de la matrice extracellulaire 35

1.3.1 Les cytokines 36

1.3.2 Les molécules pro-inflammatoires 36

1.3.3 Les protéinases 37

1.3.4 Les facteurs de croissance 38

1.4 Organisation histologique du cartilage articulaire 40

2. Physiopathologie de l'arthrose 43

2.1 Les atteintes du cartilage articulaire 44

2.1.1 Influence des cytokines pro-inflammatoires dans l'arthrose 44

2.1.2 Mécanismes de dégradation de la matrice cartilagineuse 45
2.1.3 Modification du métabolisme des chondrocytes 46
2.2 Le remodelage de l'os sous-chondral 46
2.3 L'inflammation de la membrane synoviale 47
2.4 La composante douloureuse 48
PARTIE 2 : PRISE EN CHARGE DE LA PATHOLOGIE ARTHROSIQUE 50
1. L'arthrose en chiffres 50
2. Etiologie de l'arthrose 52
2.1 Facteurs de risque généraux 52
2.2 Facteurs de risque locaux 53
3. Signes cliniques 55
3.1 La douleur 55
3.2 La gêne fonctionnelle 55
3.3 Arthrose versus arthrite 56
4. Diagnostic de la gonarthrose 57
4.1 Evaluation de la douleur 57
4.2 Evaluation de la gêne fonctionnelle 58
4.3 Evaluation des atteintes structurelles 59
4.3.1 La radiologie 59
4.3.2 L'imagerie à résonance magnétique (IRM) 63
4.3.3 L'arthrographie 65
4.3.4 L'arthroscanner 65
4.3.5 L'échographie 66
5. Prise en charge de la gonarthrose 67
5.1 Recommandations dans la prise en charge de l'arthrose du genou 67
5.2 Traitements non pharmacologiques 67
5.3 Traitements pharmacologiques 69
5.3.1 Traitements symptomatiques *per os* 69
5.3.1.1 Traitements d'action rapide : les antalgiques et AINS 69
5.3.1.2 Traitements d'action lente : les AASALs 70
5.3.2 Traitements symptomatiques par voie intra-articulaire 74
5.3.2.1 Traitements d'action rapide : les infiltrations de corticoïdes 74
5.3.2.2 Traitements d'action lente : la viscosupplémentation 75
5.3.3 Traitements symptomatiques par voie percutanée 76

5.4 Traitements chirurgicaux 76
5.4.1 L'arthroscopie 76
5.4.2 L'ostéotomie tibiale 77
5.4.3 L'arthroplastie 78
5.5 Nouvelles approches thérapeutiques 80
PARTIE 3 : METHODES D'ÉVALUATION DE L'ARTHROSE UTILISÉES EN PRÉCLINIQUE DANS LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX MEDICAMENTS .. 82
1. La recherche préclinique 82
1.1 Les étapes de vie d'un médicament 82
1.2 La recherche préclinique dans l'arthrose 84
2. Modèles animaux d'arthrose utilisés en préclinique 85
2.1 La recherche du modèle idéal d'arthrose 85
2.2 Avantages et inconvénients des modèles animaux actuels 86
2.3 Les différents modèles d'arthrose 89
2.3.1 Modèles d'induction chirurgicale 89
2.3.2 Modèles d'induction chimique 91
2.3.3 Modèles d'arthrose spontanée 92
2.3.4 Modèles génétiquement modifiés 93
3. Le « gold standard » des méthodes d'évaluation de l'arthrose dans les études précliniques : l'histologie 93
3.1 Les colorations utilisées en histologie classique 94
3.2 Les différentes méthodes de scoring histologique de l'arthrose 96
3.2.1 Le score de Mankin 96
3.2.2 Le score OARSI 97
4. L'essor de nouvelles méthodes non invasives d'appréciation de l'arthrose 101
4.1 Pourquoi développer de nouvelles approches de suivi de l'arthrose ? 101
4.2 Les méthodes d'imagerie *in vivo* 101
4.2.1 La radiographie 102
4.2.1.1 Peut-on scorer l'arthrose chez le petit animal par radiographie ?.. 102
4.2.1.2 Méthodes de scoring de l'arthrose par radiographie chez l'animal 103
4.2.1.3 Exemples d'études ayant utilisé la radiographie 110
4.2.2 L'Imagerie à résonance magnétique (IRM) 111
4.2.2.1 L'IRM pour mesurer l'épaisseur et le volume du cartilage articulaire 112

4.2.2.2 L'IRM pour estimer les propriétés biophysiques du cartilage articulaire 114
4.2.2.3 Les autres utilisations de l'IRM 117
4.2.2.4 L'IRM pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans l'arthrose 119
4.2.3 La microtomographie à rayon X (micro-CT) *in vivo* 121
4.2.3.1 Le micro-CT classique 121
4.2.3.2 Le micro-CT couplé à un agent de contraste 124
4.2.3.3 Exemples d'études ayant utilisé le micro-CT dans l'arthrose 126
4.3 Les nouvelles méthodes d'analyse fonctionnelle de l'arthrose : l'analyse de la marche 127
4.3.1 Principe du système CatWalk® 128
4.3.2 Les modèles d'arthrose aigus par injection de MIA ou de collagénase 130
4.3.3 Les modèles d'arthrose par déstabilisation chirurgicale 131
4.4 Le dosage de biomarqueurs 132
4.4.1 Les biomarqueurs du métabolisme du cartilage 133
4.4.2 Les biomarqueurs du métabolisme osseux 135
4.4.3 Les biomarqueurs du métabolisme de la membrane synoviale 136

PARTIE 4 : EXEMPLE D'UNE ETUDE PRECLINIQUE UTILISANT DEUX METHODES NON INVASIVES POUR EVALUER L'ARTHROSE *IN VIVO* CHEZ L'ANIMAL 137
1. Matériel et Méthodes 137
2. Résultats 140
2.1 Validation de la souris C57BL/6 âgée de 18 mois comme modèle d'arthrose 140
2.2 Validation des méthodes non invasives utilisées pour évaluer la progression de l'arthrose 141
2.3 Evaluation de l'effet anti-arthrosique du mélange *in vivo* 143
3. Conclusion 144

CONCLUSION 145

ANNEXES 147

BIBLIOGRAPHIE 159

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Anatomie d'une articulation de genou 19
Figure 2 : Composition moléculaire du cartilage articulaire 20
Figure 3 : Image en microscopie électronique d'un chondrocyte articulaire et coupe histologique de cartilage articulaire humain..... 21
Figure 4 : Organisation moléculaire de la MEC du cartilage articulaire normal 22
Figure 5 : Composition des différents glycosaminoglycanes (GAG) de la MEC du cartilage..... 24
Figure 6 : Structure de l'agrécane. 26
Figure 7 : Représentation schématique de l'organisation des fibrilles de collagène. 29
Figure 8 : Rôle des matrilines dans la formation du réseau matriciel du cartilage.... 34
Figure 9 : Effets anaboliques et cataboliques du PGE_2 sur les composants du cartilage articulaire..... 37
Figure 10 : Schéma d'une articulation saineet arthrosique..... 43
Figure 11 : Déséquilibre entre processus anaboliques et processus cataboliques impliqué dans l'arthrose..... 44
Figure 12 : Schéma récapitulatif de la physiopathogénie de l'arthrose..... 49
Figure 13 : Facteurs de risques prédisposant au développement de la gonarthrose 52
Figure 14 : Représentation des anomalies de l'alignement des membres inférieurs 54
Figure 15 : Méthode d'auto-évaluation de la douleur : Echelle visuelle analogique.. 57
Figure 16 : Clichés radiographiques représentatifs de chaque stade d'arthrose, selon la classification de Kellgren et Lawrence..... 62
Figure 17 : Clichés de genoux réalisés par imagerie à résonance magnétique 64
Figure 18 : Clichés de genoux réalisés par arthroscanner 66
Figure 19 : Images obtenues par arthroscopie d'un genou sain et d'un genou à un stade avancé d'arthrose 77
Figure 20 : Principe de l'ostéotomie tibiale, en représentation schématique et en vue radiographique..... 78
Figure 21 : Radiographies de face et de profil d'un genou après pose de prothèse totale de genou (PTG) 79
Figure 22 : Cycle de vie d'un médicament..... 84
Figure 23 : Modèles animaux d'arthrose utilisés en recherche préclinique 89
Figure 24 : Représentation schématique des différentes techniques chirurgicales

utilisées pour induire l'arthrose chez l'animal 91
Figure 25 : Méthode de scoring histologique de l'arthrose selon l'OARSI. 99
Figure 26 : Clichés radiographiques d'articulations de souris STR/Ort..... 103
Figure 27 : Comparaison des différents grades radiologiques et histologiques chez la souris STR/Ort selon Sarukawa et al..... 107
Figure 28 : Atlas radiologique représentatif des différents paramètres et grades radiologiques d'arthrose décrits chez le lapin par Boulocher et al. 109
Figure 29 : IRM d'une articulation postérieure de cochon d'inde en 2D et en 3D ... 113
Figure 30 : Images IRM de cartographie du temps de relaxation T1ρ et coloration à la Safranine-O représentatives d'articulations de cochon d'inde Dunkin-Hartley 115
Figure 31 : Images IRM représentatives de la technique de dGEMRIC sur des articulations de lapin. 116
Figure 32 : IRM d'articulation postérieure de lapin et tableau de scoring IRM d'arthrose chez des lapins ayant subi une rupture du LCA 117
Figure 33 : Images représentatives d'une articulation de cochon d'inde arthrosique par IRM 118
Figure 34 : Images obtenues par micro-CT d'articulations de rat 121
Figure 35 : Exemples de structures osseuses impliquées dans l'arthrose observables grâce au micro-CT dans un modèle d'arthrose chez le rat par injection de MIA..... 123
Figure 36 : Evaluation de la morphologie d'un cartilage articulaire chez le rat à différents âges par la technique d'EPIC-µCT. 126
Figure 37 : Le système CatWalk® 128
Figure 38 : Exemple d'enregistrement réalisé grâce au système CatWalk® 129
Figure 39 : Localisation schématique des différents épitopes du pro-collagène de type II 133
Figure 40 : Sections histologiques frontales d'articulations de souris C57BL/6 colorées à la Safranin-O, et radiographies correspondantes 141
Figure 41 : Analyse radiologique de la progression de l'arthrose chez la souris C57BL/6 mâle vieillissante..... 142
Figure 42 : Paramètres de la démarche de souris C57BL/6 de 6 et 18 mois évalués grâce au système CatWalk® 143
Figure 43 : Effet du traitement sur le score radiologique d'arthrose des souris C57BL/6 vieillissantes et sur les paramètres évalués par le CatWalk® 144

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Représentation schématique et en microscopie électronique à balayage (MEB) des différentes classes de collagènes présentes dans le cartilage 30
Tableau II : Classification des cytokines exprimées dans le cartilage articulaire 36
Tableau III : Principales matrix metalloproteinases (MMPs) impliquées dans le catabolisme du cartilage articulaire 38
Tableau IV : Organisation histologique en 4 couches du cartilage articulaire..... 42
Tableau V : Evaluation du coût socio-économique de l'arthrose, selon l'étude COART France réalisée en 2003 (Etude sur les Coûts de l'ARThrose)..... 51
Tableau VI : Répartition des prescriptions et coûts des traitements médicamenteux de l'arthrose, selon l'étude COART France réalisée en 2003..... 51
Tableau VII : Différences entre arthrose et arthrite..... 56
Tableau VIII : Différents clichés radiologiques réalisés lors du diagnostic d'arthrose du genou 60
Tableau IX : Critères radiologiques de scoring de l'arthrose selon Kellgren et Lawrence 61
Tableau X : Classification des stades radiologiques d'arthrose selon les critères de Kellgren et Lawrence..... 61
Tableau XI : Classification de Broderick des grades d'arthrose mis en évidence par imagerie à résonance magnétique (IRM) ou par arthroscanner 65
Tableau XII : Avantages et inconvénients des principales espèces animales utilisées comme modèles d'arthrose dans les études précliniques 88
Tableau XIII : Colorations histologiques classiques utilisées pour l'étude du cartilage 95
Tableau XIV : Méthode de scoring histologique de l'arthrose selon Mankin et al. 96
Tableau XV : Stades histologiques d'arthrose selon l'OARSI..... 100
Tableau XVI : Scores histologiques d'arthrose selon l'OARSI..... 100
Tableau XVII : Critères d'évaluation de l'arthrose par radiographie selon Pataki et al. 104
Tableau XVIII : Système de scoring radiologique d'arthrose utilisé chez le lapin, selon Boulocher et al..... 108
Tableau XIX : Tableau descriptif des modifications de l'aspect des différents tissus de l'articulation dans un modèle d'arthrose spontanée chez le cochon d'inde 119

Tableau XX : Paramètres osseux classiquement évalués dans les études sur l'arthrose par micro-CT 122
Tableau XXI : Biomarqueurs caractéristiques du métabolisme du cartilage articulaire 135
Tableau XXII : Critères radiologiques évalués pour scorer l'arthrose chez la souris 139

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Indice WOMAC 147
Annexe 2 : Indice algo-fonctionnel de Lequesne 148
Annexe 3 : Questionnaire de genou KOOS 149
Annexe 4 : 10 recommandations de l'EULAR pour la prise en charge de la gonarthrose 153
Annexe 5 : 25 recommandations de l'OARSI sur la prise en charge de la gonarthrose et la coxarthrose 154
Annexe 6 : Liste des spécialités prescrites dans la prise en charge de l'arthrose (DOROSZ, 2013) 156

LISTE DES ABREVIATIONS

AASALs	Anti-Arthrosiques Symptomatiques d'Action Lente
ADAMTS	A Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin motifs
AH	Acide Hyaluronique
AINS	Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
ALP	Alkaline Phosphatase
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
BMD	Bone Mineral Density
BMP	Bone Morphogenetic Protein
COMP	Cartilage Oligomeric Matrix Protein
COX-2	Cyclooxygenase-2
CRP	Complement Regulatory Protein
CS	Chondroïtine Sulfate
CSM	Cellule Souche Mésenchymateuse
CTGF ou CCN2	Connective Tissue Growth Factor
dGEMRIC	Delayed Gadolinium-Enhanced MRI of Cartilage
DMM	Déstabilisation du Ménisque Médial
DS	Dermatane Sulfate
DTPA	Diethylene-Triamine-Pent-Acetate
EI	Effet Indésirable
EULAR	The EUropean League Against Rheumatism
EVA	Echelle Visuelle Analogique
FGF	Fibroblast Growth Factor
GAG	Glycosaminoglycanes
GAIT	Glucosamine/chondroitin Arthritis Intervention Trial
Gd	Gadolinium
HAS	Haute Autorité de Santé
HES	Hématoxylline-Eosine-Safran
HS	Héparane Sulfate
IGF-1	Insulin-Like Growth Factor-1
IL	Interleukin
IL-1Ra	Interleukin-1 Receptor antagonist

iNos	Inducible Nitric oxide synthase
IRM	Imagerie à Résonance Magnétique
KOOS	Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score
KS	Kératane Sulfate
LCA	Ligament Croisé Antérieur
LEEM	Les Entreprises du Médicament
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
MEC	Matrice Extra-Cellulaire
MIA	Mono-IodoAcétate de sodium
MMP	Matrix Metalloproteinase
NO	Nitric Oxide
OARSI	OsteoArthritis Research Society International
OSM	Oncostatin M
PG	Protéoglycanes
PGE_2	Prostaglandine E2
PN	Polynucléaires Neutrophiles
PTG	Prothèse Totale de Genou
PUC	Prothèse Uni-Compartementale
SLRP	Small Leucine Rich Proteoglycans
SMR	Service Médical Rendu
SZP	Superficial Zone Protein
TGF-β	Transforming Growth Factor-β
TIMP	Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase
TNF-α	Tumor Necrosis Factor-α
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WOMAC	Western Ontario and MacMaster universities osteoarthritis index

INTRODUCTION

L'arthrose est une maladie dégénérative de l'articulation qui affecte des millions de personnes au monde. Elle touche différentes articulations, comme la main, la hanche, la colonne vertébrale ou le genou. Elle devient de plus en plus un problème de santé publique avec le vieillissement de la population, dans la mesure où sa prévalence est étroitement liée à l'âge (Loeser, 2011). Longtemps uniquement considérée comme une maladie du cartilage, il est maintenant admis qu'elle touche les différents tissus constituant l'articulation. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit l'arthrose comme « la résultante des phénomènes mécaniques et biologiques qui déstabilisent l'équilibre entre la synthèse et la dégradation du cartilage et de l'os sous-chondral ». Son étiologie n'est pas totalement élucidée, mais des facteurs mécaniques, comme des traumatismes ou l'obésité, semblent initier le développement d'arthrose, et certains facteurs de risque ont été décrits, comme l'âge, le sexe ou des facteurs génétiques (Buckwalter & Martin, 2006).

Bien que variables d'un patient à l'autre, les principaux symptômes de l'arthrose incluent des douleurs à l'effort ainsi que des raideurs articulaires avec limitation des mouvements pouvant évoluer vers une déformation dans les cas sévères, associées ou non à un épanchement articulaire. Le diagnostic est basé sur ces symptômes caractéristiques, et peut être confirmé par radiographie (Buckwalter & Martin, 2006). Parmi les thérapeutiques actuelles, aucune ne permet de soigner l'arthrose. Les traitements non pharmacologiques (perte de poids, pratique d'une activité physique,…) et pharmacologiques (antalgiques, anti-inflammatoires et anti-arthrosiques d'action lente) ne font que réduire les symptômes, comme l'inflammation et la douleur, et sont responsables d'effets secondaires qui peuvent être handicapants. En dernier recours, la chirurgie de remplacement peut être envisagée. Il y a donc un intérêt considérable à développer des thérapeutiques permettant de stopper ou reverser la progression de l'arthrose.

Pour cela, il est nécessaire de définir dans les études précliniques des méthodes de suivi de la progression de l'arthrose, ainsi que des modèles fiables et proches de la pathologie humaine. La méthode de référence actuelle dans les études sur l'arthrose est l'histologie, qui est une technique longue, invasive et inutilisable dans

les études cliniques humaines. De nouvelles techniques non invasives utilisables chez l'animal se sont donc développées : des techniques d'imagerie, d'analyse de la démarche et la détection de biomarqueurs, qui sont des méthodes directement transposables à l'homme.

Ce travail sera divisé en quatre parties : une première partie introductive décrivant la composition du cartilage articulaire et la physiopathogénie de l'arthrose, suivie d'une partie sur la prise en charge de la maladie, puis une troisième sur les différentes méthodes d'évaluation de l'arthrose utilisées dans les études précliniques. Ce document se conclura par la présentation d'un exemple d'une étude utilisant des méthodes non invasives réalisée au cours de mon stage de Master 2.

PARTIE 1 : BIOLOGIE DU CARTILAGE ARTICULAIRE ET PHYSIO-PATHOLOGIE DE L'ARTHROSE

1. Le cartilage articulaire

1.1 Généralités

Le cartilage est un tissu conjonctif non vascularisé, alymphatique et non innervé composé d'un seul type cellulaire, le chondrocyte, qui permet la synthèse des principaux constituants de la matrice extra-cellulaire (MEC), les fibres de collagène et les protéoglycanes. On le retrouve dans différentes parties du corps, et on distingue 3 types de cartilage différents :

- le cartilage hyalin, qui contient des cellules volumineuses et une MEC constituée de microfibrilles de collagène peu abondantes et de faible diamètre, qui forment un réseau à mailles larges ; on le retrouve dans les articulations (hanche, genou, main, pied), le nez, la trachée et les côtes
- le cartilage fibreux, ou fibrocartilage, qui contient d'épais faisceaux de collagène de type I, le rendant très résistant aux forces de tractions ; il est retrouvé dans la colonne vertébrale et les ménisques
- le cartilage élastique, qui se caractérise par la présence de nombreuses fibres élastiques et par une densité cellulaire importante ; il est abondant dans le larynx, l'épiglotte, l'oreille et les trompes d'Eustache

Nous nous intéresserons dans ce travail uniquement au cartilage articulaire hyalin, et plus particulièrement à celui de l'articulation du genou.

L'articulation du genou est composée de trois tissus principaux qui ont un rôle majeur dans le développement de l'arthrose : le cartilage articulaire, l'os sous-chondral et la membrane synoviale. Les deux pièces osseuses (le tibia et le fémur) sont enchâssées dans une capsule articulaire délimitée par la membrane synoviale, qui secrète le liquide synovial qui baigne l'articulation. Le maintien de celle-ci est assuré par différents ligaments, muscles et tendons. Deux autres tissus s'ajoutent à cette structure, et qui sont aussi impliqués dans l'arthrose : le coussin adipeux de Hoffa (ou

fat pad), qui est un petit corps adipeux situé derrière le tendon rotulien, et qui semble avoir à la fois un rôle anti- et pro-inflammatoire, via la production de différents médiateurs (cytokines, adipokines, dérivés lipidiques, cellules stromales mésenchymateuses et cellules inflammatoires) qui interagissent avec les autres tissus de l'articulation (Ioan-Facsinay & Kloppenburg, 2013) ; ainsi que les ménisques, qui sont des petites structures fibrocartilagineuses situées entre le tibia et le fémur qui jouent un rôle de cale entre les 2 structures osseuses (Figure 1).

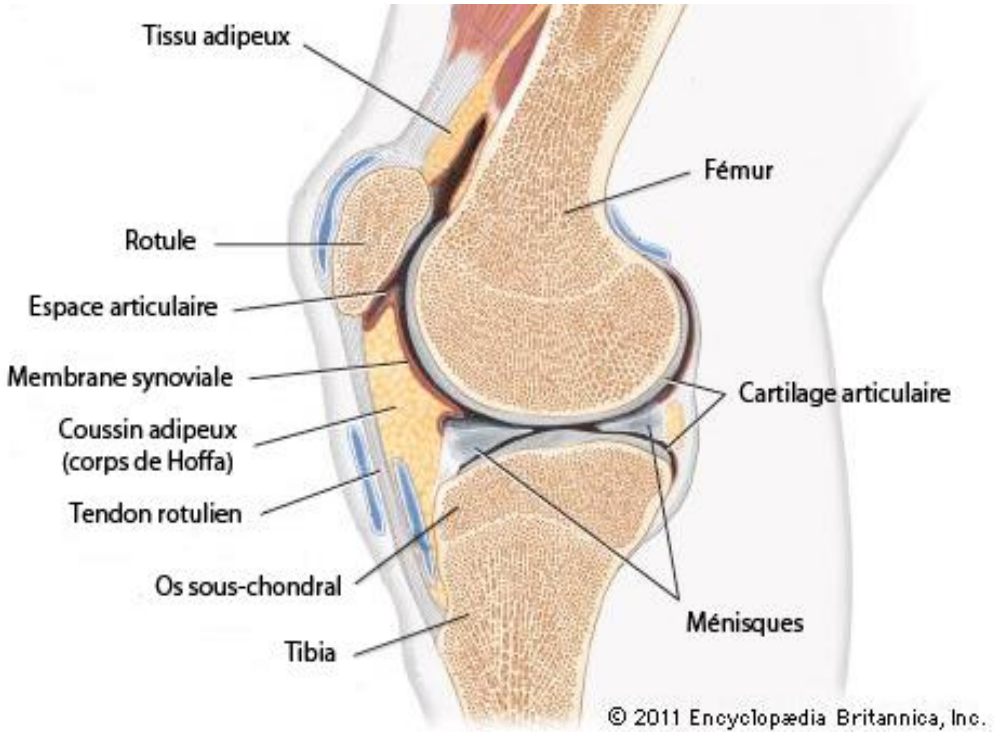


Figure 1 : Anatomie d'une articulation de genou. Les différents tissus de l'articulation sont représentés : le cartilage articulaire, situé juste au-dessus de l'os sous-chondral, et la membrane synoviale qui entoure l'articulation. Les ménisques sont localisés entre le tibia et le fémur et épousent la forme des 2 surfaces osseuses. Le corps de Hoffa est localisé en arrière de la rotule contre la membrane synoviale et libère différents médiateurs dans l'articulation

Les articulations porteuses, comme le genou, sont continuellement soumises à une charge mécanique. Pour supporter ces contraintes mécaniques, le cartilage articulaire se caractérise par un faible coefficient de friction, une haute capacité porteuse et une capacité de diffusion des chocs vers l'os sous-chondral. Cependant, un traumatisme, une charge mécanique excessive ou un défaut focal du cartilage, se traduisant par des symptômes douloureux et handicapants, entrainent le développement d'une arthrose précoce (Chen et al., 2013).

Le cartilage articulaire peut être le siège de nombreuses atteintes liées à des pertes de substances (origine traumatique), liées au vieillissement (arthrose) ou d'origine inflammatoire (polyarthrite rhumatoïde). Ces atteintes sont responsables d'une diminution de la cellularité et d'une dégradation de la MEC. De plus, l'avascularité du tissu et la faible capacité de prolifération des chondrocytes rendent toute réparation spontanée du cartilage articulaire presque impossible.

1.2. Les constituants du cartilage articulaire

1.2.1 Composition moléculaire

Le cartilage articulaire, d'une épaisseur de 2 à 4 mm, est composé majoritairement d'eau (70 à 80%), de 3% de cellules et de protéines de la MEC (protéoglycanes et collagènes majoritairement) (Figure 2) (Aigner & Stöve, 2003). La MEC permet le maintien de la structure du cartilage, les PG lui conférant sa capacité de résistance à la compression, alors que les collagènes permettent la résistance aux tensions. Le chondrocyte permet, lui, le maintien de la balance entre anabolisme et catabolisme au sein du cartilage.

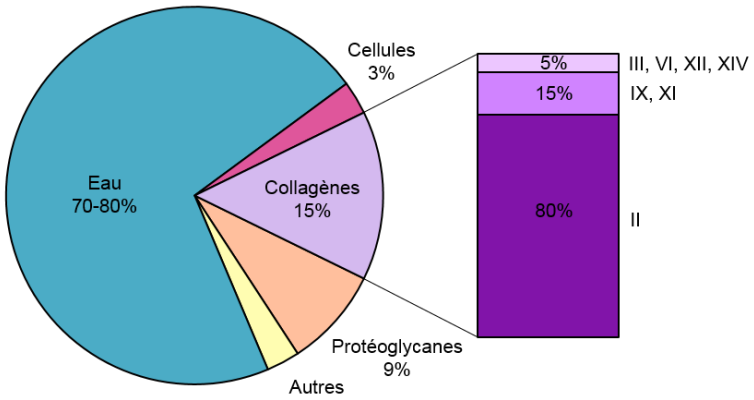


Figure 2 : Composition moléculaire du cartilage articulaire (d'après Aigner & Stöve, 2003)

1.2.2 Les chondrocytes

Le chondrocyte est l'unique type cellulaire constituant le cartilage. D'une taille comprise entre 10 et 40 µm, les chondrocytes sont des cellules arrondies ou polygonales enfermées dans des logettes appelées chondroplastes, et dérivent d'un

précurseur mésenchymateux (figure 3) (Archer & Francis-West, 2003). Le rôle principal des chondrocytes est de synthétiser et maintenir une MEC capable de supporter les contraintes mécaniques et les déformations. Ils ont de plus un rôle prépondérant dans le phénomène d'ossification endochondrale.

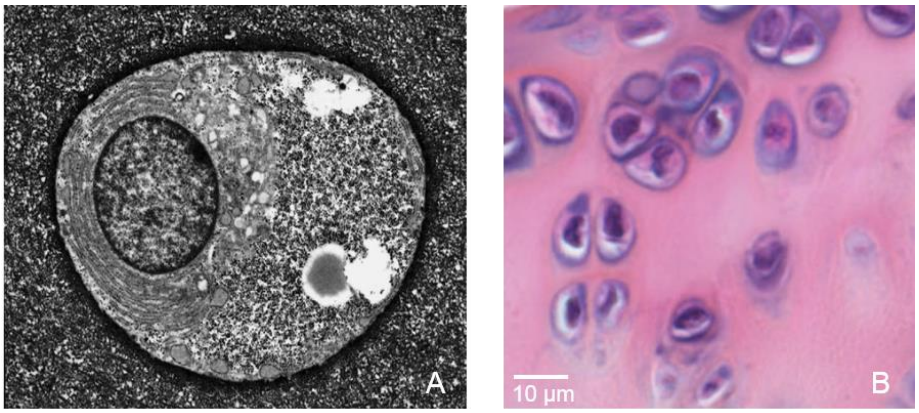


Figure 3 : Image en microscopie électronique d'un chondrocyte articulaire (A) (Archer & Francis-West, 2003) *et coupe histologique de cartilage articulaire humain, colorée à l'Hématoxylline-Eosine-Safran (HES) (B)*

Les chondrocytes sont des cellules métaboliquement actives synthétisant des cytokines, des facteurs de croissance ainsi que les molécules de la matrice extracellulaire tels que les collagènes, les glycoprotéines et protéoglycanes ainsi que les hyaluronanes. Parallèlement à leur rôle de synthèse, elles ont un rôle dans la résorption du cartilage grâce à l'action d'enzymes du catabolisme : les cathepsines, métalloprotéinases (MMP) et agrécanases (Troeberg & Nagase, 2011).

De fait de l'absence de vascularisation du cartilage, la nutrition des chondrocytes est assurée par diffusion des nutriments et métabolites à travers la surface articulaire, grâce au liquide synovial qui irrigue la capsule articulaire. Par conséquent, le métabolisme de la cellule s'opère à basse tension en oxygène (de 10% d'O_2 en surface à moins de 1% dans les couches profondes) par glycolyse anaérobie (Archer & Francis-West, 2003).

1.2.3 La Matrice Extra-Cellulaire (MEC)

La MEC du cartilage articulaire se compose d'un réseau dense de fibres de collagène (de type II, IX et XI), qui constitue la trame fibrillaire, entouré de substance fondamentale composée essentiellement d'eau et de protéoglycanes (PG), qui, grâce

à leur charge nette négative, attirent les ions sodium positifs, et donc les molécules d'eau par osmose, permettant la formation d'un gel hydraté baignant les cellules (Gao et al., 2014). La matrice contient également des protéines non collagéniques et non PG, comme la COMP (Cartilage Oligomeric Matrix Protein), la fibronectine ou les matrilines.

La MEC spécialisée du cartilage hyalin a deux fonctions : elle permet d'absorber les chocs, du fait de sa souplesse et de son élasticité, et fournit une surface lubrifiée aux articulations mobiles. En effet, la membrane synoviale produit un fluide lubrifiant possédant un faible coefficient de friction, composé d'acide hyaluronique (AH), un polysaccharide de haut poids moléculaire, associé à une protéine glycosylée, la lubricine, et différents lipides (phosphatidylicholines) et glycosaminoglycanes (GAG) (Das et al., 2013). Elle est organisée en différents compartiments autour des cellules, selon leur proximité par rapport aux chondrocytes, la zone péricellulaire (la plus proche des chondrocytes, et qui forme avec ceux-ci une structure appelée le « chondron »), la zone territoriale et la zone interterritoriale (la plus éloignée) (figure 4).

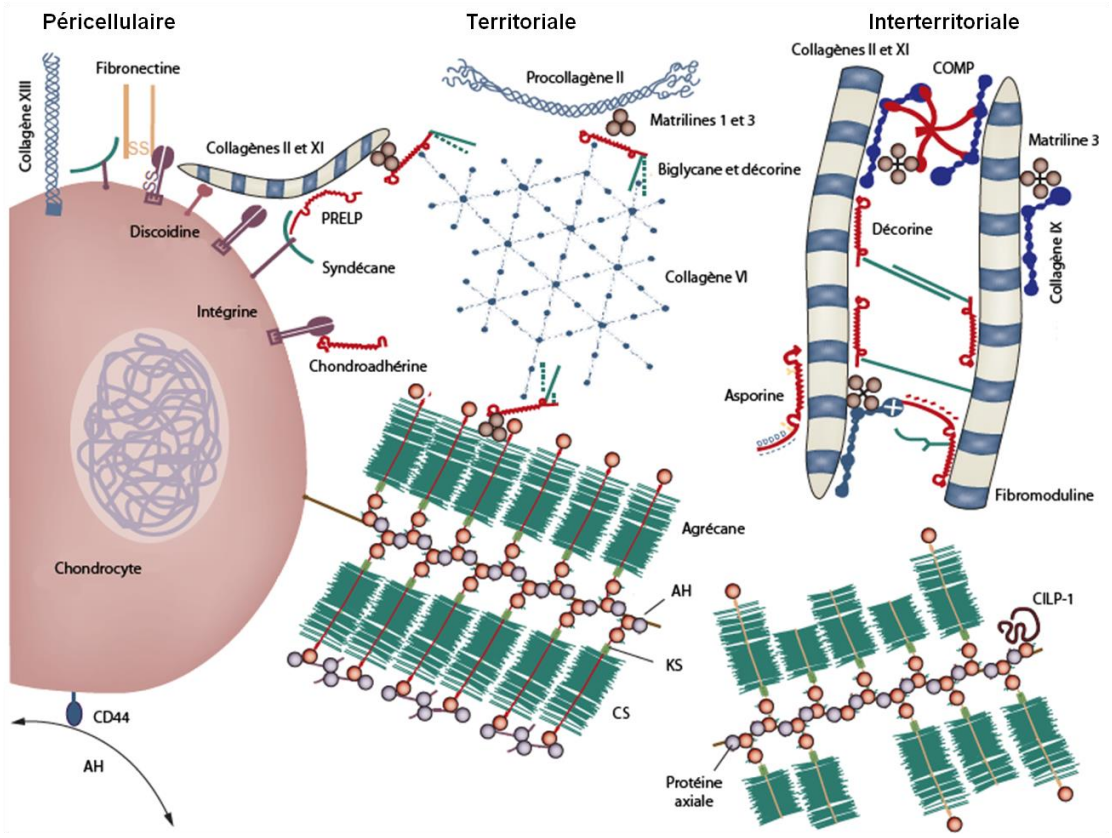
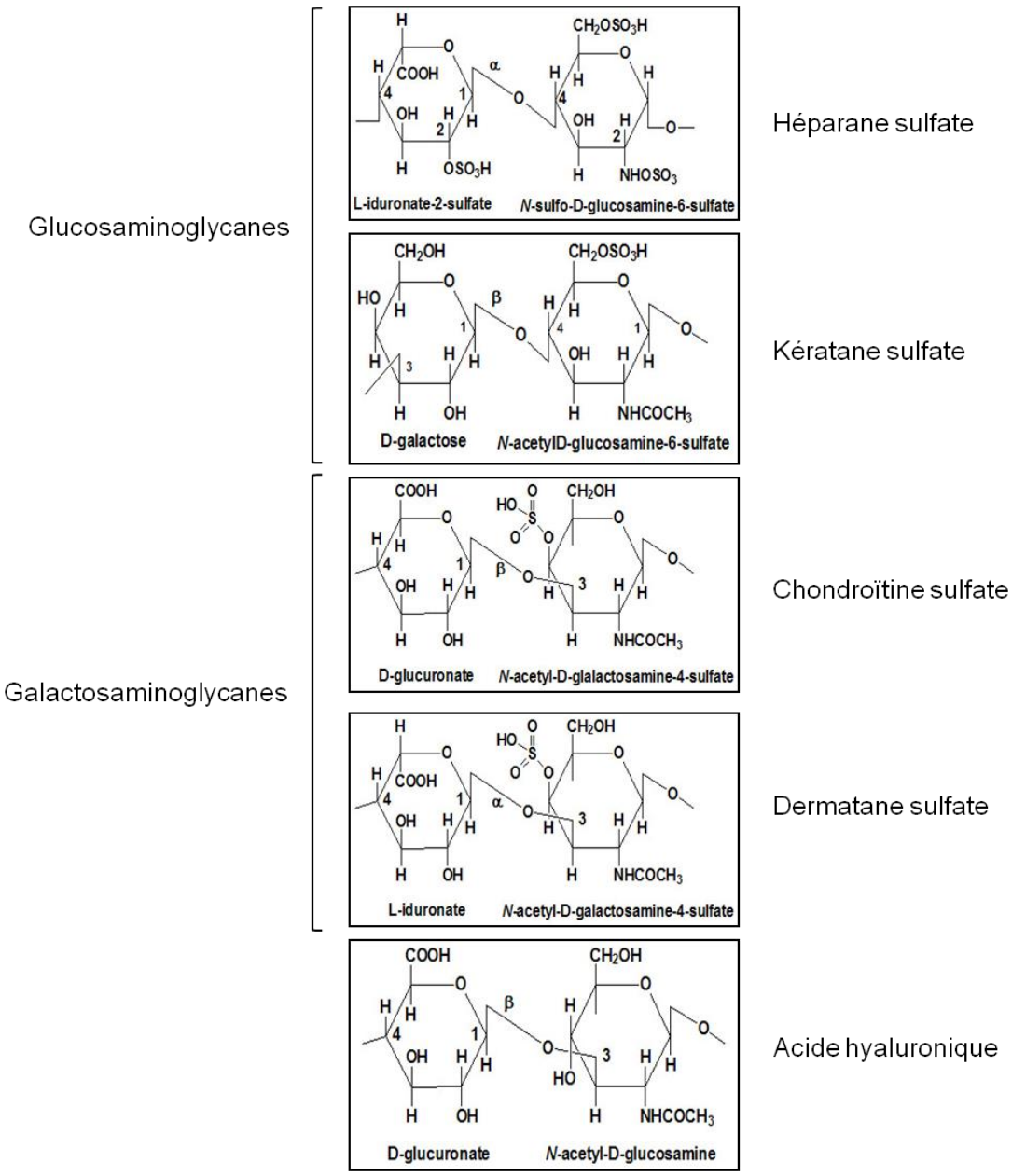


Figure 4 : Organisation moléculaire de la MEC du cartilage articulaire normal. La MEC est organisée en trois zones : péricellulaire (le chondron), territoriale (composée de collagène de type VI) et interterritoriale (riche en fibres de collagène II) (Heinegård & Saxne, 2010)

1.2.3.1 Les Protéoglycanes (PG) et Glycosaminoglycanes (GAG)

Les protéoglycanes sont composés d'une protéine axiale (« core protein ») liée de façon covalente à une ou plusieurs chaines polysaccharidiques de glycosaminoglycanes. Les GAG sont des hétéropolysaccharides formés d'une répétition d'unités disaccharidiques contenant un hexosamine (N-acétyl-D-glucosamine ou N-acétyl-D-galactosamine) et un acide hexuronique (glucuronate ou iduronate) ou un galactose (Dudhia, 2005). Ils sont chargés négativement de par la présence de groupements sulfates et carboxyliques portés sur les unités osidiques.

On distingue 2 groupes de GAG selon le sucre aminé qu'ils contiennent : d'une part les glucosaminoglycanes tels que l'héparane sulfate (HS) et le kératane sulfate (KS), et d'autre part les galactosaminoglycanes que sont la chondroïtine sulfate (CS) et le dermatane sulfate (DS). L'acide hyaluronique (AH) est un GAG particulier non sulfaté et non lié à une protéine axiale (figure 5).



<u>Figure 5</u> : Composition des différents glycosaminoglycanes (GAG) de la MEC du cartilage. Les différents GAG sont formés d'une répétition d'un hexosamine : le N-acétyl-D-glucosamine ou le N-acétyl-D-galactosamine, on les appelle glucosaminoglycanes ou galactosaminoglycanes ; et d'un acide hexuronique (glucuronate ou iduronate) ou un galactose

Le cartilage est constitué d'un grand nombre de PG différents. Ceux-ci interagissent fortement les uns avec les autres, procurant à la matrice ses propriétés mécaniques, et permettant la formation d'un tissu cartilagineux mature (Knudson & Knudson, 2001). Ils peuvent être classés en 4 familles distinctes : les hyalectanes, les PG de membrane basale, les petits PG riches en leucine (SLRPs) et les PG de surface.

1.2.3.1.1 Les hyalectanes

Les hyalectanes sont appelés ainsi car ce sont des PG qui interagissent avec les molécules d'acide hyaluronique et de lectine. Il existe 4 types de hyalectanes : le versicane, l'agrécane, le neurocane et le brévicane. L'agrécane et le versicane sont majoritairement exprimés dans le cartilage articulaire, tandis que le neurocane et le brévicane sont exprimés dans le système nerveux (Iozzo, 1998).

L'agrécane :

L'agrécane est le PG majoritaire du cartilage, dans lequel il est présent à très haute concentration sous forme d'agrégats. Il est composé d'une protéine axiale de 225 à 250 kDa, associée de façon covalente à une centaine de chaînes de chondroïtine sulfate et une trentaine de kératane sulfate. Il s'associe à l'acide hyaluronique et à une petite glycoprotéine de liaison de façon non covalente, pour former des agrégats de haut poids moléculaire (Dudhia, 2005).

Sa structure est divisée en 3 domaines dits globulaires (G1 à G3) et un domaine central correspondant à la zone substituée par les chaînes de GAG (figure 6) :

- un domaine G1 en N-terminal, permettant l'interaction de l'agrécane avec l'acide hyaluronique et la protéine de liaison pour former des agrégats
- un domaine G2, dont le rôle est peu connu
- un domaine G3 en C-terminal, comprenant un domaine de type Epidermal Growth Factor (EGF), un domaine de type protéine régulatrice du complément (CRP) et un domaine de type lectine. Le rôle des domaines de type EGF et CRP sont peu connus ; le domaine de type lectine semble lui interagir avec différentes protéines de la matrice, et aurait un rôle dans la formation des agrégats d'agrécane et d'acide hyaluronique (Aspberg, 2012)

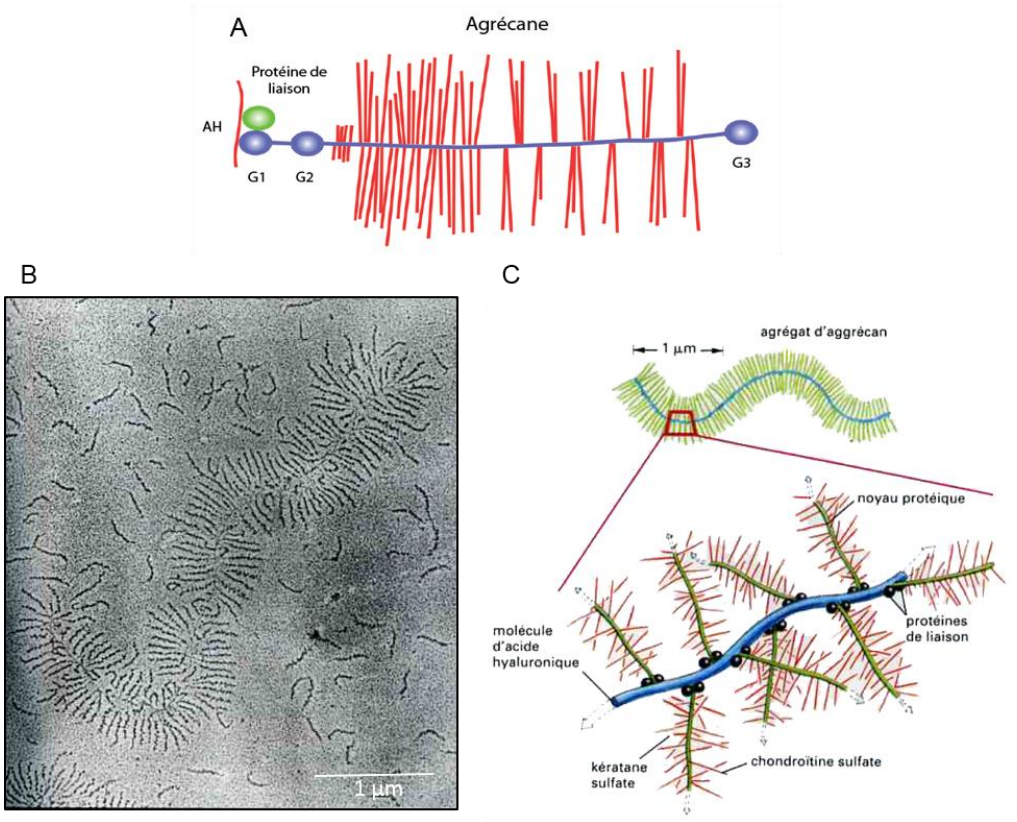


Figure 6 : Structure de l'agrécane. (A) Représentation schématique des trois domaines globulaires constituant l'agrécane (G1 à G3) et du domaine central qui lie les différentes chaînes de GAG (d'après Aspberg, 2012) ; (B) micrographie électronique d'un agrégat d'agrécane ; (C) représentation schématique d'un agrégat d'agrécane, constitué par une chaîne d'acide hyaluronique substituée par de nombreuses molécules d'agrécane (Alberts et al., 2014)

Ces agrégats sont emprisonnés dans le réseau de collagène et confèrent, grâce à leur forte charge électronégative créée par les chaînes de GAG, un pouvoir d'hydratation élevé au cartilage articulaire. Cette propriété de viscoélasticité permet la distribution des charges dans l'articulation (Aspberg, 2012).

Le versicane :

Le versicane possède une forte homologie de structure avec l'agrécane. Il est composé d'une protéine axiale de 450 kDa et de chaînes de chondroïtine sulfate. Dans le cartilage, le versicane est exprimé de façon importante et transitoire dans les zones de condensation mésenchymateuse, où il semble interagir dans la signalisation du TGF-β (Choocheep et al., 2010; Matsumoto et al., 2006).

1.2.3.1.2 Les protéoglycanes de membrane basale

On retrouve différents PG comme le perlécan, le bamacane et l'agrine au niveau des membranes basales épithéliales et des vaisseaux. Malgré l'absence de membrane basale et de vascularisation de certains organes comme le cartilage, les ménisques, le liquide synovial ou le disque intervertébral, on retrouve le perlécane dans la MEC, au sein de laquelle il a un rôle important de stabilisation et d'organisation de la matrice, grâce aux interactions avec différentes molécules de la matrice comme les laminines ou les fibres de collagènes, et de régulation de nombreux facteurs de croissance (BMP, TGF, VEGF, FGF…). Il a de plus un rôle dans la condensation des cellules mésenchymateuses pour former le tissu cartilagineux (Melrose et al., 2008).

1.2.3.1.3 Les petits protéoglycanes riches en leucine (SLRP)

Les SLRP sont des protéines de la MEC formées par une petite protéine axiale d'environ 36 à 42 kDa constituée de séquences répétitives de leucine comprises entre des domaines à cystéines, associée à des chaînes de GAG. Cette famille de protéines comprend 18 membres, divisés en 5 classes différentes, dont le biglycane et la décorine (Ni et al., 2014). Elles possèdent différents rôles dans le cartilage (Merline et al., 2009; Ni et al., 2014) :

- elles ont un rôle important dans la fibrillogénèse par interaction avec le collagène : elles augmentent la stabilité des fibres et protègent de plus l'accès des collagénases à leurs sites de clivages
- elles sont capables de se lier à différents récepteurs de surface, facteurs de croissance, cytokines et autres composants de la MEC, et donc d'influencer différentes fonctions cellulaires, comme les voies du Transforming Growth Factor (TGF-β) et de la Bone Morphogenetic Protein (BMP)
- elles ont de plus un rôle dans les processus inflammatoires, tels que dans la polyarthrite rhumatoïde mais aussi l'arthrose, par activation de la voie du complément et des voies du Toll-Like Receptor (TLR)

1.2.3.1.4 Les protéoglycanes de surface

Les PG de surface sont majoritairement composés d'HS, et sont localisés au niveau de la membrane plasmique des chondrocytes. Ils ont la capacité d'interagir avec une variété de molécules matricielles, ainsi que de se lier à de nombreux

médiateurs solubles, tels que des facteurs de croissance ou cytokines. On distingue 4 familles de PG de surface :

- les syndécanes ont un rôle important dans l'adhésion cellulaire et dans la signalisation des facteurs de croissance et des cytokines. Les 4 types de syndécanes sont exprimés dans le cartilage articulaire, avec une expression prédominante du syndécane-4, dont l'expression est fortement augmentée lors du développement de l'arthrose. Le syndécane-3, lui, aurait un rôle dans les phases précoces de la chondrogénèse (Pap & Bertrand, 2012)
- les glypicanes sont considérés comme des co-régulateurs de plusieurs voies de signalisation impliquées notamment dans la formation du tissu cartilagineux, comme la voie de la BMP, du fibroblast growth factor (FGF), la voie hedgehog et la voie Wnt (Dwivedi et al., 2013)
- le bétaglycane (ou récepteur de type III du TGF-β), comme son nom l'indique, interagit avec le TGF-β, régulant ainsi la prolifération et la différenciation cellulaire des chondrocytes (Rédini, 2001)
- le CD44 est le principal membre de la famille des protéines qui lient l'AH, qui a lui-même un rôle primordial dans la formation des agrégats d'agrécane. Le CD44 permet donc le maintien d'une MEC riche en PG à la surface des chondrocytes (Knudson, 2003).

1.2.3.2 Les collagènes

Les collagènes représentent la protéine de structure principale des divers tissus connectifs chez le mammifère. Actuellement, 28 types de collagènes différents ont été identifiés, et sont présent dans tous les organes du corps humain. Ils représentent environ 30% du contenu protéique du corps, soit 5% de son poids, et deux tiers du poids sec du cartilage articulaire adulte.

Ce sont des protéines fibreuses qui ont un rôle central dans la formation de la MEC, des membranes basales ainsi que d'autres structures de la MEC, et permettent le maintien de l'intégrité et la stabilité de tous les organes. Au sein du cartilage, ils sont responsables des propriétés biomécaniques telles que la résistance aux torsions et tensions subies par le tissu.

1.2.3.2.1 Structure des fibres de collagène

Les molécules de collagène ont une structure caractéristique : elles sont formées d'une répétition de triplets de type Gly-X-Y et ont une structure unique en triple hélice d'une longueur de 300 nm. La triple hélice de pas droit est composée de 3 chaines polypeptidiques, de type hélice α de pas gauche. Certains collagènes sont composés d'un homotrimère, c'est-à-dire de 3 chaines α identiques (par exemple, les collagènes de type II et III), ou bien d'un hétérodimère de différentes chaines α (le collagène de type I par exemple).

L'assemblage des différentes chaines α ne peut se faire qu'en la présence de résidus glycine tous les trois acides aminés au sein des chaines, résultant en des répétitions en tandem de domaines $(Gly\text{-}X\text{-}Y)_n$, où X et Y sont généralement des résidus proline ou hydroxyproline. Le nombre de triplets varie de quelques douzaines à plus de 500, selon le type de collagène. Pour des raisons d'encombrement stérique, le centre de la triple hélice est occupé uniquement par les résidus glycine (le plus petit des acides aminés), alors que les acides aminés en X et Y pointent vers l'extérieur de la triple hélice, offrant un potentiel important à interagir avec d'autres triples hélices (Figure 7) (Gelse et al., 2003; van der Rest & Garrone, 1991).

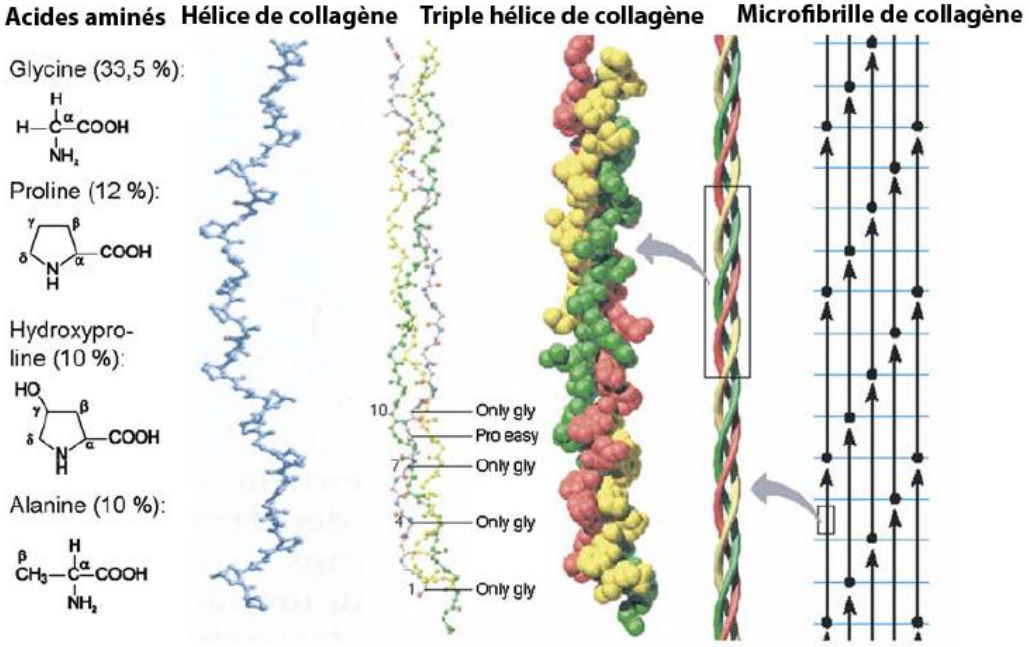


Figure 7 : Représentation schématique de l'organisation des fibrilles de collagène. Les différents acides aminés (glycine, proline, hydroxyproline et alanine) forment les hélices α de collagène, qui s'assemblent en triple hélice, qui elles-mêmes s'organisent en microfibrille de collagène (Schulz & Bader, 2007)

Les fibrilles de collagène sont usuellement hétérotypiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent contenir plus d'un type de collagène. Par exemple, les fibrilles de la peau sont constituées à la fois de collagène de type I et de type III, ceux du cartilage par des collagènes de type II et XI.

1.2.3.2.2 Les collagènes du cartilage articulaire

Le collagène de type II est le composant principal du cartilage articulaire adulte. Mais d'autres types de collagènes ont été identifiés au sein de la MEC, notamment les collagènes de type I, III, V, VI, IX, X, XI, XII, XIII, XIV et XVI. Les principaux collagènes du cartilage sont les types I, II, III, V, VI, IX, X et XI. Le tableau I regroupe les principaux collagènes exprimés dans le cartilage articulaire, ainsi que leur structure.

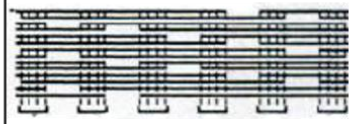
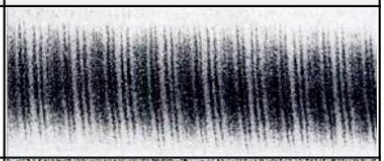
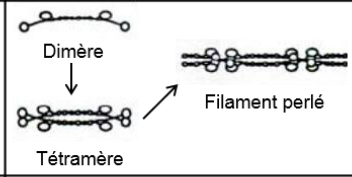
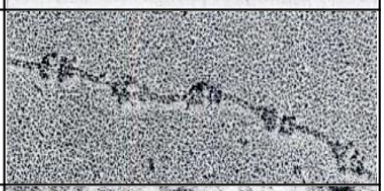
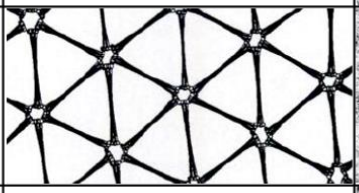
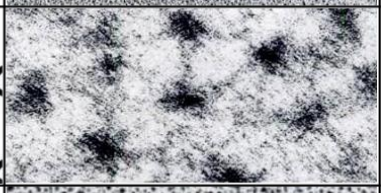
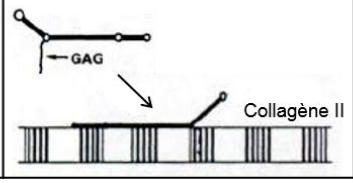
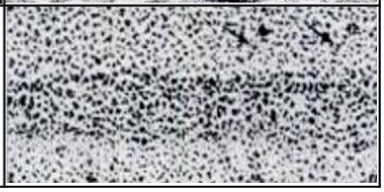
Classe	Collagènes du cartilage	Structure	
		Schématique	MEB
Collagènes fibrillaires	I, II, III, V, XI		
Collagènes microfibrillaires ou formant des filaments perlés	VI		
Collagènes formant des réseaux hexagonaux	X		
FACITs (Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple helices)	IX, XII, XIV		

Tableau I : Représentation schématique et en microscopie électronique à balayage (MEB) des différentes classes de collagènes présentes dans le cartilage (Schulz & Bader, 2007)

Le collagène de type I : C'est le collagène le plus abondant dans l'organisme des Vertébrés. Il est l'élément structurel principal des tissus connectifs fibreux, tels que le fibrocartilage, la peau, les tendons et ligaments, la cornée et l'os. Il est composé de deux chaines de type α1(I) et une chaine α2(I). Le cartilage articulaire n'exprime que

faiblement le collagène de type I, cependant on le retrouve dans les tissus osseux adjacents, ainsi que dans le cartilage fibreux des ménisques (Naumann et al., 2002).

Le collagène de type II : Il représente 80% des collagènes totaux du cartilage hyalin fœtal, puis 95% à l'âge adulte et est composé de 3 chaines α1(II) identiques. Il existe deux formes de transcrits pour le gène codant pour le collagène de type II : les type IIA et IIB, qui diffèrent par la présence ou non de l'exon 2. L'isoforme IIA est exprimée au cours du développement fœtal lors de la chondrogenèse, alors que l'isoforme IIB est exprimée dans le tissu cartilagineux adulte (Ng et al., 1993). Il a un rôle fondamental dans la formation et les fonctions du tissu cartilagineux. En effet, une mutation du gène codant pour le collagène de type II peut entrainer différentes pathologies au niveau du cartilage articulaire ou de la plaque de croissance, telles que des achondrogénèses, hypochondrogénèses, différentes dysplasies ainsi que certaines formes d'arthroses familiales. Les fibrilles de collagène du cartilage sont majoritairement assemblées en hétérofibrilles de collagène de type II et XI, associées à des fibres de type IX, XII et XIV, ainsi qu'à différentes protéines non-collagéniques. On les retrouve entremêlées dans un réseau microfibrillaire de collagène de type VI (Seibel et al., 2006).

Le collagène de type III : Le collagène de type III est constitué d'un homotrimère de 3 chaines α1(III) et est largement distribué dans les tissus aux propriétés élastiques contenant du collagène de type I. Il est aussi retrouvé dans le cartilage normal et arthrosique (Young et al., 2000), et son abondance varie de 0,5% à 10% des collagènes totaux. Il a la propriété de se lier à d'autres molécules de collagène de type III, ainsi que de former des liaisons fortes avec le collagène de type II, permettant la cohésion du tissu, notamment pendant une situation de stress, comme lors du développement de l'arthrose (Wu et al., 2010).

Le collagène de type V : Le collagène de type V est constitué de 3 hélices α1(V), α2(V) et α3(V), et s'associe avec le collagène de type I en hétéro-fibrilles. Bien que son rôle soit peu connu, il semble être impliqué dans le contrôle du diamètre des fibrilles de collagène. Sa présence a de plus été démontrée au sein de différents tissus cartilagineux, comme le cartilage articulaire (Wachsmuth et al., 2006).

Le collagène de type VI : Les fibrilles de collagène de type VI sont composées de 3 chaines α1(VI), α2(VI) et α3(VI). Son expression est quasi ubiquitaire et représente 1% des collagènes totaux. Au sein du cartilage, il est surtout concentré autour des cellules, dans la matrice péricellulaire des chondrocytes. Le collagène de type VI n'est pas lié de façon covalente aux autres fibres du cartilage, mais il est associé à l'agrécane ou au collagène II grâce à l'interaction des protéines matriline-1 avec les PG biglycane et décorine (Wiberg et al., 2003).

Le collagène de type IX : Le collagène de type IX ne forme pas de fibrille mais est présent à la surface des fibrilles de collagène de type II et XI. Il est composé de 3 chaines α1(IX), α2(IX) et α3(IX), et son abondance passe de 10% à l'état fœtal, à 1% dans le cartilage articulaire adulte. Chaque molécule de collagène de type IX contient 7 domaines de liaison, qui permettent la formation de liaisons covalentes entre la triple hélice de collagène de type IX et les fibrilles de collagène de type II, et entre différentes fibres de collagène IX. Il joue donc un rôle important dans la structure de la MEC en régulant l'organisation des fibrilles de collagène de type II, ainsi que les interactions avec les PG (Diab et al., 1996).

Le collagène de type X : Le collagène de type X est constitué d'un homotrimère de 3 chaines α1(X), et s'assemble en réseaux hexagonaux. Il est essentiellement exprimé au niveau de la plaque de croissance par les chondrocytes hypertrophiques, où ils représentent 45% des collagènes totaux. Il possède une affinité importante avec les fibres de collagène de type II et les PG de la MEC. Il joue de plus un rôle primordial dans le processus d'ossification endochondrale. Il aurait la propriété de faciliter les processus de minéralisation via des modifications de l'organisation de la matrice. Le collagène de type X est faiblement exprimé dans le cartilage articulaire normal, mais on le retrouve dans le cartilage arthrosique (Girkontaite et al., 1996; Shen, 2005).

Le collagène de type XI : La triple hélice de collagène de type XI existe sous plusieurs formes, soit 3 chaines α1(XI), α2(XI) et α3(XI), ou bien une des chaines est remplacée par une chaine de collagène de type V α1(XI), α1(V) et α3(XI). Il représente 10% des collagènes totaux du cartilage fœtal, et 3% chez l'adulte. Tout comme le collagène de type IX, les fibres de collagène XI ne s'agrègent pas en fibrilles, mais sont associées aux fibrilles de collagène de type II, pour permettre l'assemblage et la

croissance latérale de la fibrille (Blaschke et al., 2000; Li et al., 1995). Il a de plus été démontré que le collagène de type XI peut interagir avec les GAG de la matrice, comme l'HS ou le DS (Vaughan-Thomas et al., 2000).

1.2.3.3 Les autres constituants de la MEC

La MEC du cartilage articulaire contient de plus de nombreuses protéines qui ne sont ni collagéniques, ni des PG, et qui ont un rôle structurel important au sein de la matrice. Ces protéines ont un rôle dans la régulation de l'assemblage de la matrice, la reconnaissance cellulaire et l'adhésion cellulaire, et auraient un rôle dans la dégradation et la réparation du cartilage (Neame et al., 1999; Roughley, 2001).

Les intégrines : Les intégrines sont des protéines transmembranaires hétérodimériques constituées de 2 sous-unités α et β ainsi que de larges domaines extracellulaires qui permettent la liaison des protéines de la MEC, et de courts domaines cytoplasmiques qui interagissent avec des protéines kinases et du cytosquelette. Elles ont donc un rôle important dans la prolifération, la différenciation, la survie et la migration cellulaire, ainsi que la morphogénèse et le remodelage de la matrice. Les chondrocytes articulaires adultes normaux expriment les intégrines α1β1, α3β1, α5β1, α10, αVβ1, αVβ3 et αVβ5. Dans le cartilage arthrosique, on note l'augmentation de l'expression des intégrines α1β1 et α3β1, ainsi que l'apparition des intégrines α2β1, α4β1 et α6β1. Elles auraient un rôle dans la réponse aux stimuli mécaniques, ainsi que dans la destruction de la matrice, notamment en situations pathologiques comme lors de l'arthrose (Loeser, 2014).

La fibronectine : La fibronectine est une glycoprotéine présente dans le cartilage articulaire. Elle a un rôle dans la signalisation cellulaire via sa liaison aux intégrines, et interagit avec les autres molécules de la MEC. Lors du développement de l'arthrose, la dégradation de la matrice entraine la production de fragments protéolytiques de fibronectine, qui entraineraient une augmentation de la production de cytokines (IL-1β et TNF-α) et d'enzymes de dégradation de la matrice (MMP) (Burton-Wurster et al., 1997).

La thrombospondine-5 ou COMP : Les thrombospondines sont des glycoprotéines matricielles dont on dénombre actuellement 5 membres. La plus étudiée dans le cartilage articulaire est la Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) ou thrombospondine-5. Cette protéine se lie aux fibres de collagène II et stabilise le réseau de collagène du cartilage. Elle est de plus exprimée dans les tendons, les ménisques et la membrane synoviale. Suite à une dégradation du cartilage, la COMP est libérée dans le liquide synovial puis dans le sérum. La valeur sérique normale de la protéine COMP est de 5 µg/ml. On observe une augmentation de ce marqueur lors de l'arthrose, qui servirait de marqueur de diagnostic du développement des pathologies dégénératives du cartilage (Wisłowska & Jabłońska, 2004).

Les matrilines : La famille des matrilines comprend 4 membres, les types 1 (ou cartilage matrix protein (CMP)) et 3 sont fortement exprimés dans le cartilage, alors que les types 2 et 4 ont un profil d'expression plus large. Elles permettent l'assemblage de la MEC grâce à leur interaction avec les chaines CS de l'agrécane, ainsi qu'avec les fibres de collagène de type II, XI et IX. De plus, elles ont un site de liaison aux PG biglycane et décorine, eux-mêmes liés au collagène de type VI, ainsi qu'avec COMP. L'ensemble de ces interactions permet la formation d'un réseau représenté en figure 8 (Klatt et al., 2010).

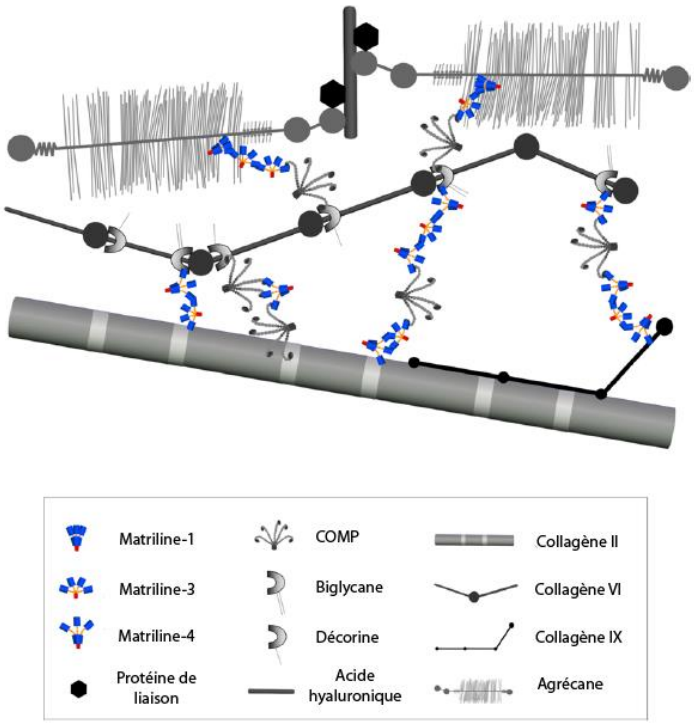


Figure 8 : Rôle des matrilines dans la formation du réseau matriciel du cartilage (Klatt et al., 2010)

La cartilage intermediate layer protein (CILP) : La CILP est synthétisée et libérée dans la MEC par les chondrocytes. En effet, cette protéine est hautement spécifique du cartilage et sa localisation dans la partie intermédiaire du cartilage lui confère un rôle dans le maintien de la structure du tissu. Son expression est augmentée avec l'âge et dans les stades précoces de l'arthrose, indiquant un rôle spécifique de cette protéine dans la réparation tissulaire (Lorenzo et al., 1998).

La lubricine et la superficial zone protein (SZP) : La lubricine et la SZP sont des glycoprotéines issues du même gène proteoglycan-4 (PRG4). La SZP est synthétisée par les chondrocytes de la zone superficielle du cartilage et secrétée dans le liquide synovial, alors que la lubricine, elle, est produite en quantité abondante par les synoviocytes constituant la membrane synoviale. On les retrouve aussi dans les ménisques, les ligaments ainsi que les tendons. Ces deux protéines ont un rôle dans la lubrification de l'articulation ainsi que dans la prolifération cellulaire, la cytoprotection et la formation de la matrice. Une diminution de la production de la lubricine et la SZP a été détectée lors du développement de l'arthrose, suggérant une corrélation entre la perte des capacités de lubrification du liquide synovial et la dégradation du cartilage (Lee et al., 2008).

1.3 Le remodelage de la matrice extracellulaire

Le renouvellement de la MEC est assuré par les chondrocytes, qui en synthétisent les constituants, ainsi que les enzymes responsables de sa dégradation. Dans les conditions physiologiques, il existe un équilibre entre des processus anaboliques et cataboliques, qui permet le maintien de l'intégrité et des fonctions de la MEC du cartilage. En absence d'inflammation ou d'une autre anomalie, le remodelage de la matrice est très faible. Lors d'une contrainte mécanique anormale, on note une perte du contenu en PG, ainsi que des dommages au réseau de collagène. De nombreux facteurs sont impliqués dans le maintien de cette balance anabolisme/catabolisme, dont différentes cytokines (IL-1β, TNF-α), des molécules pro-inflammatoires (NO, PGE_2), des enzymes (MMP, agrécanases) et des facteurs de croissance (TGF-β, BMP, IGF-1, FGF) (Mueller & Tuan, 2011).

1.3.1 Les cytokines

Les cytokines ont un rôle prépondérant dans le remodelage de la MEC du cartilage. On peut classer les différentes cytokines interagissant avec les chondrocytes en 4 classes, rassemblées dans le tableau II (Goldring & Goldring, 2004) :

- les cytokines cataboliques, qui sont associées à la dégradation de la matrice
- les cytokines anti-cataboliques ou inhibitrices, qui inhibent ou antagonisent l'activité des cytokines cataboliques
- les cytokines anaboliques, qui jouent le rôle de facteurs de croissance ou de différenciation sur les chondrocytes, afin d'augmenter leur activité de synthèse
- les cytokines ayant un rôle de modulation de l'activité des autres cytokines

Cataboliques	Anti-cataboliques	Anaboliques	Modulatrices
IL-1, 17, 18 TNF-α OSM	IL-4, 10, 13 IL-1ra	TGF-β1, 2, 3 BMP-2, 4, 6, 7, 9, 13 Activine CTGF (ou CCN2)	IL-6, 11 LIF

Tableau II : Classification des cytokines exprimées dans le cartilage articulaire (Goldring & Goldring, 2004; Sofat, 2009)

L'IL-1β et le TNF-α, particulièrement, ont un rôle primordial dans le remodelage de la matrice du cartilage articulaire. En effet, ces cytokines pro-inflammatoires sont des molécules initiatrices de la dégradation du cartilage, et leur implication dans la pathologie arthrosique sera développée plus loin.

1.3.2 Les molécules pro-inflammatoires

Le monoxyde d'azote (NO) : Le monoxyde d'azote est un médiateur proinflammatoire et catabolique, présent dans le cartilage sain dans des quantités de l'ordre du picogramme. Il est notamment synthétisé par l'enzyme iNos (inducible Nitric oxide synthase), qui voit son expression augmentée lors de l'arthrose. En effet, l'expression de iNos est induite par des facteurs mécaniques et par des cytokines pro-inflammatories. Le NO a de nombreux effets sur l'homéostasie du cartilage, notamment sur la MEC, via l'inhibition de la biosynthèse de PG et de collagène et l'induction des MMPs qui dégradent le cartilage. De plus, le NO est un inducteur de

l'apoptose et de la voie NF-κB, qui module la transcription des gènes pro-inflammatoires, comme l'IL-1β ou le TNF-α, de iNos et des MMPs. Le NO est aussi impliqué dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui conduisent à une dégradation de l'ADN et donc à une mort cellulaire, et dans les voies de la douleur (Abramson, 2008).

La prostaglandine E2 : Le PGE_2 est lui-aussi un médiateur de l'inflammation, mais aussi de la douleur, et est présent dans le cartilage normal en quantités très faibles. Sa production nécessite l'action de 2 enzymes : la cyclooxygenase-2 (COX-2) et la prostaglandin-E synthase (PGES), toutes les deux induites par l'IL-1β. Son action dans l'arthrose est moins connue que celle du NO, notamment car il agit via différents récepteurs et donc exerce différents effets sur le métabolisme des chondrocytes. En effet, il a été décrit à la fois des effets anaboliques et cataboliques du PGE_2 dans le cartilage articulaire (figure 9) (Goldring & Berenbaum, 2004; Haversath et al., 2012).

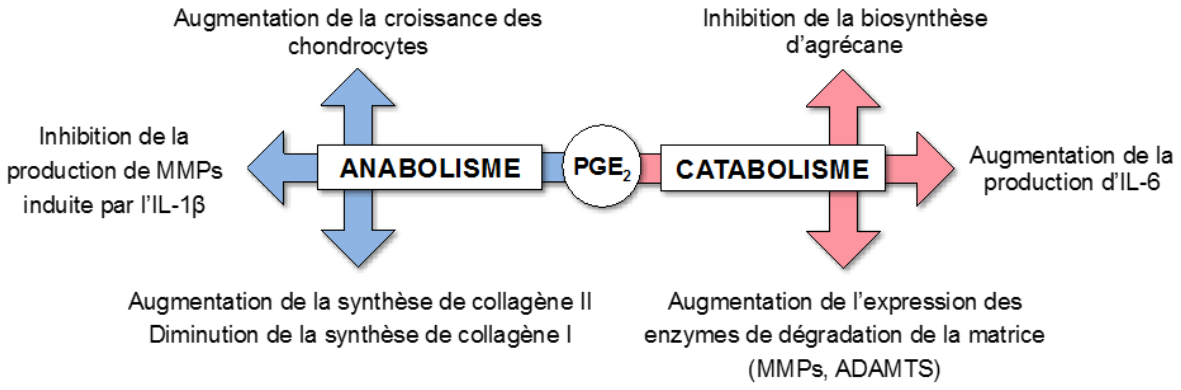


Figure 9 : Effets anaboliques et cataboliques du PGE_2 sur les composants du cartilage articulaire (Goldring & Berenbaum, 2004; Haversath et al., 2012)

1.3.3 Les protéinases

Les matrix metalloproteinases (MMPs) : Les MMPs sont des endopeptidases à zinc impliquées dans la dégradation des composants de toutes les MEC. Elles sont divisées en 3 classes, selon les substrats de la matrice qu'elles clivent : les stromélysines, les collagénases et les gélatinases. Toutes les métalloprotéinases actives sont inhibées par des protéases appelées « tissue inhibitor of matrix metalloproteinase » (TIMPs) afin de maintenir l'intégrité de la MEC. Les principales MMPs impliquées dans la dégradation du cartilage sont rassemblées dans le tableau III (Cawston & Young, 2009).

Parmi ces endopeptidases, la MMP-13 possède un rôle critique dans l'arthrose, car elle dégrade le collagène de type II et car son activité est régulée de façon positive par de nombreux stimuli cataboliques, tels que l'IL-1β ou le TNF-α.

Classe	Type	Substrat
Stromélysines	MMP-3 (stromelysin-1)	PG, fibronectine, laminine
	MMP-10 (stromelysin-2)	
Collagénases	MMP-1 (collagenase-1)	Collagènes de types I et III
	MMP-8 (collagenase-2)	
	MMP-13 (collagenase-3)	Collagène de type II
Gélatinases	MMP-2 (gelatinase A)	Collagène dénaturé, collagènes de types IV et V, élastine
	MMP-9 (gelatinase B)	

Tableau III : Principales matrix metalloproteinases (MMPs) impliquées dans le catabolisme du cartilage articulaire

Les agrécanases ou ADAMTS (A Disintegrin and Metalloprotease with Thrombospondin motifs) : Les agrécanases sont des métalloprotéases à zinc, et sont responsables de la dégradation de l'agrécane de la MEC. Ce sont les premières protéinases mises en jeu dans les processus de remodelage du cartilage ; elles sont donc considérées comme des marqueurs précoces de la dégradation du cartilage lors de l'arthrose. Il existe 19 membres dans la famille des ADAMTS, dont deux sont exprimées au sein du cartilage, l'agrécanase-1 (ou ADAMTS-4) et l'agrécanase-2 (ou ADAMTS-5). A l'état physiologique, une fine régulation de l'activité des agrécanases est nécessaire pour maintenir une balance entre anabolisme et catabolisme. De même que les MMPs, l'activité des agrécanases est régulée par les TIMPs. Cette balance est notamment perturbée lors du développement de l'arthrose en faveur de l'activité catabolique des agrécanases (Verma & Dalal, 2011).

1.3.4 Les facteurs de croissance

Le Transforming Growth Factor-β (TGF-β) : Le TGF-β (1 et 3 principalement) a un rôle indispensable dans le maintien de l'homéostasie du cartilage, via ses propriétés stimulatrices de la chondrogénèse. En effet, il permet la condensation, la

prolifération ainsi que la différenciation des cellules chondroprogénitrices en chondrocytes matures. L'origine des différents membres de la famille TGF est peu documentée, mais ils semblent être produits par une variété de cellules. La MEC du cartilage contient une quantité importante de TGF-β sous forme non active (elle stocke en effet environ 300 ng/ml de TGF-β) qui permet le maintien de la structure de la matrice. Lors de l'arthrose, l'expression du TGF-β est augmentée dans la phase précoce de son développement, pour tenter de réparer le cartilage lésé ; à terme les chondrocytes articulaires finissent par perdre leur sensibilité au TGF-β résultant en une accélération de la progression de l'arthrose (Zhen & Cao, 2014).

Les Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) : Les BMPs sont des membres de la superfamille du TGF-β et sont impliquées dans le maintien de l'intégrité du cartilage articulaire. Les BMP-2, 4 et 7 sont les plus étudiées dans le cartilage. La BMP-2 est régulée positivement par l'IL-1β et le TNF-α dans les chondrocytes arthrosiques et stimule la production de collagène de type II. La BMP-7, elle, est régulée négativement lors de l'arthrose et possède un effet anabolique dans le cartilage. Le rôle de la BMP-4, bien qu'anabolique, reste peu décrit dans l'arthrose (Mueller & Tuan, 2011).

L'Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) : L'IGF-1 est un facteur de croissance circulant qui atteint le cartilage articulaire via le liquide synovial. Il possède un fort pouvoir anabolique dans le cartilage, en stimulant la production de PG et en s'opposant en parallèle à leur destruction. Son expression est fortement augmentée dans l'arthrose, cependant les chondrocytes perdent leur sensibilité à l'IGF-1, notamment avec l'âge (Loeser et al., 2000). De manière plus globale, un lien fort a été établi entre la concentration d'IGF-1 plasmatique et la longévité. En effet, l'IGF-1 contrôle la croissance et le développement, notamment via son interaction avec l'hormone de croissance (GH). Des études ont montré qu'une diminution de l'expression d'IGF-1 serait associée à un prolongement de la durée de vie (Bartke et al., 2003).

Le Fibroblast Growth Factor (FGF) : Trois membres de la famille des FGFs sont impliqués dans le métabolisme du cartilage : le FGF-2 (ou bFGF), le FGF-18 et le FGF-8. Le FGF-2 est produit de manière endogène par le cartilage et est séquestré par le perlécane ; il est libéré lors de dommages subis par le tissu. Son rôle dans l'homéostasie du cartilage articulaire est controversé. En effet, le FGF-2 possède des

propriétés opposées selon l'espèce étudiée. Bien qu'ayant un rôle anabolique chez la souris, son implication dans le métabolisme du cartilage serait plutôt catabolique chez l'homme. Il inhiberait l'accumulation de PG, ainsi qu'antagoniserait l'action anabolique de la BMP-7 et de l'IGF-1 ; il induirait l'expression de la MMP-13 et réduirait l'expression de l'agrécane, tout en stimulant l'expression des agrécanases. Le FGF-18, lui, a un rôle anabolique, il entraine la prolifération des chondrocytes et stimule la production de matrice. Enfin, le FGF-8, aurait un rôle dans la dégradation du cartilage articulaire (Ellman et al., 2012).

1.4 Organisation histologique du cartilage articulaire

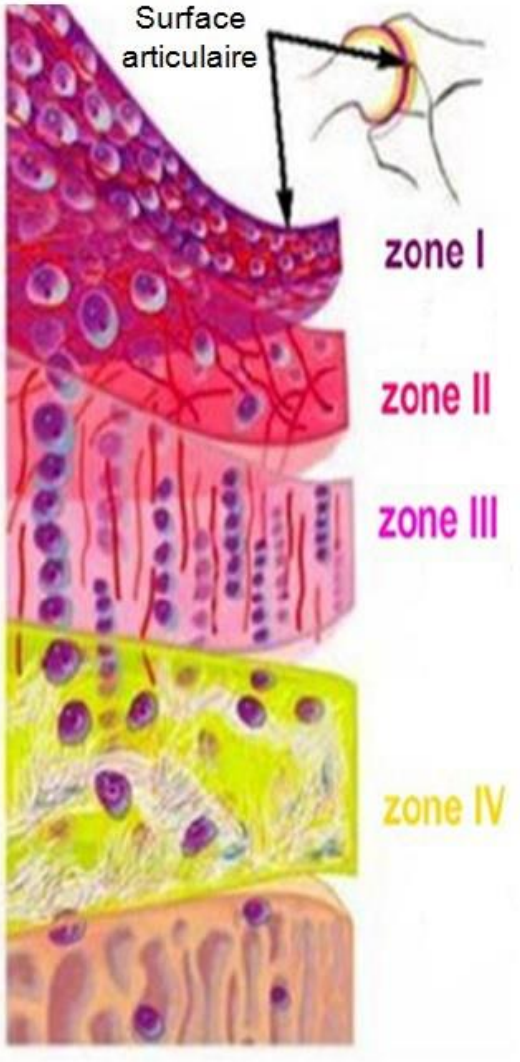
Le cartilage articulaire est organisé en 4 couches qui diffèrent selon la forme et l'activité des chondrocytes, le type et l'orientation des fibres de collagène, ainsi que le contenu en PG et en eau (Clouet et al., 2009). On distingue (tableau IV) :

- **la couche superficielle ou tangentielle** : cette couche est en contact direct avec le liquide synovial et constitue la surface de glissement de l'articulation. Elle représente 5 à 10% de l'épaisseur du cartilage et est divisée en 2 sous-couches. La couche la plus superficielle ne contient pas de cellules, peu de PG et est essentiellement constituée de fibres de collagène de types I, II et III. Elle est recouverte de macromolécules, telles que la SZP et l'AH, qui permettent la lubrification de la surface articulaire. La zone plus profonde, contient des chondrocytes aplatis verticalement qui synthétisent des couches de collagènes orientées parallèlement à la surface de l'articulation.
  Cette couche est également riche en eau, ainsi qu'en fibronectine, qui, associée aux fibres de collagène, confère au cartilage une résistance importante aux forces de cisaillement.

- **la couche moyenne ou de transition** : celle-ci représente 40 à 45% de l'épaisseur du cartilage, et est composée de fibres de collagènes de types II, VI, IX et XI, qui s'enchevêtrent en un réseau moins dense et orienté que dans les couches supérieures. Les chondrocytes sont volumineux et arrondis, et dispersés dans la MEC. Ils ont une forte activité de synthèse de PG et collagènes. Cette organisation permet la répartition et l'absorption des contraintes compressives.

- **la couche profonde ou radiale** : cette couche constitue 40% à 45% de l'épaisseur du cartilage articulaire, et se compose de fibres de collagènes II, IX et XI, organisées de manière perpendiculaire à la surface articulaire. Les chondrocytes sont disposés en colonnes alignées avec les fibres de collagène. Cette zone est très riche en PG et très pauvre en eau, et confère au cartilage articulaire ses propriétés de résistance aux forces de compression.

- **la couche calcifiée** : elle représente 5 à 10% de l'épaisseur du cartilage. Elle est séparée de la couche profonde par une ligne dense appelée « tidemark » qui sépare le cartilage non calcifié du cartilage calcifié. Cette couche est en contact avec l'os sous-chondral, et contient un nombre limité de chondrocytes, dits « hypertrophiques », qui sont caractérisés par leur volume important et par leur capacité de synthèse de collagène de type X. La calcification des fibres de collagène permet l'ancrage du cartilage à l'os sous-chondral.



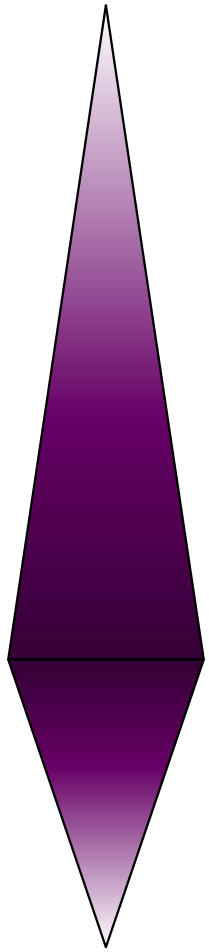
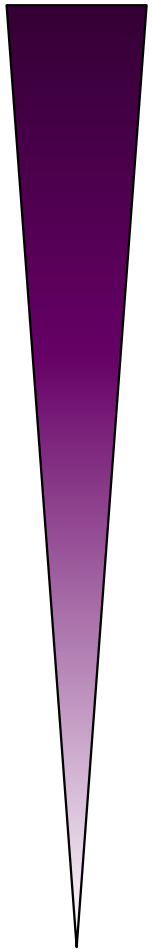
Couches	Organisation	Collagènes	Protéoglycanes	Eau
Superficielle (5-10%)	- Chondrocytes aplatis verticalement - Fibrilles de collagène parallèles à la surface articulaire - Riche en fibronectine	I, II et III		
Moyenne (40-45%)	- Chondrocytes volumineux et sphériques - Fibres de collagènes s'entrecroisent pour former un réseau	II, VI, IX et XI		
Profonde (40-45%)	- Chondrocytes et fibres de collagène disposées en colonnes perpendiculaires à la surface articulaire	II, IX et XI		
Calcifiée (5-10%)	- Repose sur l'os sous-chondral - Tidemark entre cette couche et la précédente - Chondrocytes hypertrophiques moins nombreux exprimant le collagène X	II, X et XI		

Tableau IV : Organisation histologique en 4 couches du cartilage articulaire (d'après Clouet et al., 2009)

2. Physiopathologie de l'arthrose

L'arthrose est une pathologie de l'ensemble des tissus de l'articulation. D'un point de vue moléculaire, elle se caractérise par la dégradation et la perte de cartilage articulaire, un remodelage de l'os sous-chondral avec formation d'ostéophytes (excroissances osseuses au niveau de l'articulation), ainsi qu'une inflammation chronique de la membrane synoviale (figure 10).

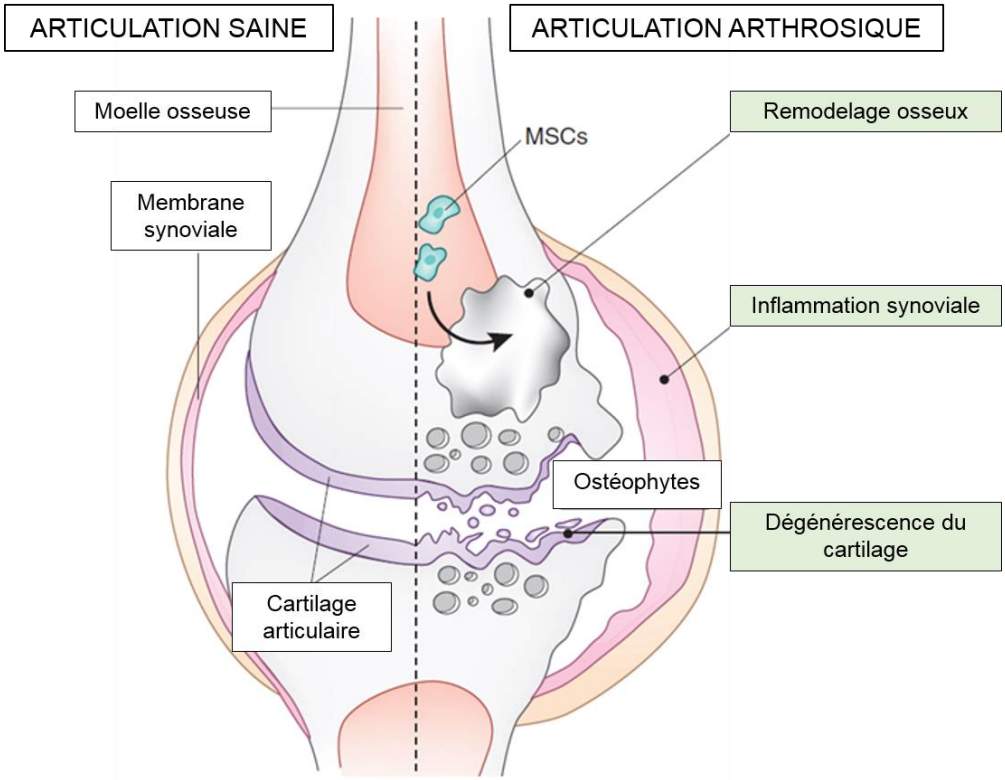


Figure 10 : Schéma d'une articulation saine (gauche) et arthrosique (droite), caractérisée par la dégradation du cartilage, une inflammation de la membrane synoviale, ainsi qu'on remodelage de l'os sous-chondral (d'après Bush & Beier, 2013)

Son étiologie reste mal connue, mais paraît résulter d'un déséquilibre métabolique entre différents stimuli mécaniques et biochimiques, aboutissant à l'échec des chondrocytes à maintenir la balance entre synthèse et dégradation du cartilage, en faveur de la dégénérescence des tissus articulaires (figure 11). S'associe à ce processus une inflammation de la membrane synoviale qui produit des médiateurs pro-inflammatoires, qui interagissent avec les chondrocytes et leur matrice (Martel-Pelletier et al., 2008).

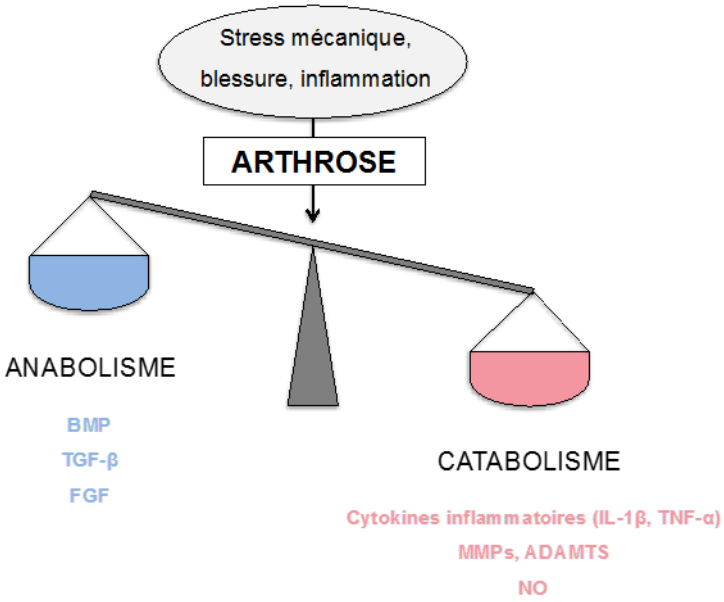


Figure 11 : Déséquilibre entre processus anaboliques et processus cataboliques impliqué dans l'arthrose. Lors d'une situation de stress (mécanique ou inflammatoire), la balance entre synthèse et dégradation du cartilage est perturbée, conduisant à la destruction de la MEC (d'après Clouet et al., 2009)

2.1 Les atteintes du cartilage articulaire

2.1.1 Influence des cytokines pro-inflammatoires dans l'arthrose

Parmi les cytokines impliquées dans le développement de la pathologie arthrosique, l'IL-1β et le TNF-α ont un rôle pro-inflammatoire prédominant. Celles-ci sont secrétées par le chondrocyte lui-même, affectent son métabolisme et activent différentes voies cataboliques. L'IL-1β semble associée à la destruction du cartilage, alors que le TNF-α entretiendrait la réaction inflammatoire. Ils régulent négativement la synthèse des différents constituants de la MEC, dont le collagène de type II et l'agrécane. Tous deux augmentent de plus la libération d'enzymes protéolytiques, telles que les MMP-1, 3 et 13, et les ADAMTS-4 et 5. Parallèlement, elles induisent la production d'autres cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-6, ou de chimiokines, comme l'IL-8, ainsi que la libération de NO et PGE_2. Tous ces phénomènes causent la dégradation du cartilage, mais entretiennent aussi la réaction inflammatoire dans l'articulation. Chez les patients arthrosiques, la production de ces deux cytokines est augmentée dans le liquide synovial, la membrane synoviale, l'os sous-chondral et le cartilage (Kapoor et al., 2010).

2.1.2 Mécanismes de dégradation de la matrice cartilagineuse

Dans l'articulation du genou, la dégradation de la matrice cartilagineuse est presque systématiquement due à une charge mécanique anormale subie par l'articulation, associée à une inflammation de la membrane synoviale. Dans les stades précoces, les enzymes de dégradation de la MEC sont surexprimées, causant une dégradation des PG et du collagène de type II, et une augmentation du contenu en eau, résultant en une perte des propriétés mécaniques de l'articulation. Pour tenter de réparer les dommages causés à la matrice, les chondrocytes prolifèrent et néosynthétisent des protéines de matrice de façon réactionnelle (collagène de type II et PG). Cependant, la matrice nouvellement synthétisée n'a pas la même composition dans la couche superficielle que dans les couches profondes, rendant le cartilage superficiel plus enclin à une érosion. A terme, les tentatives de réparation sont inefficaces et le cartilage articulaire disparait totalement (Umlauf et al., 2010).

Différentes enzymes protéolytiques sont impliquées dans la pathologie, dont principalement :

- les MMPs qui dégradent majoritairement les collagènes (surtout le collagène de type II). Parmi les MMPs dont l'expression augmente lors de l'arthrose, les principales effectrices sont les MMP-1, 3, 8 et 13
- les agrécanases qui dégradent l'agrécane (ADAMTS-4 et 5)

Parallèlement à cette perte de constituants de la MEC, les produits de dégradation de différentes molécules, comme le collagène de type II et l'acide hyaluronique (AH), ont aussi un rôle pro-inflammatoire et protéolytique. En effet, la dégradation du collagène de type II entraine la libération de différents peptides, un peptide C-terminal retrouvé dans l'urine et le liquide synovial, utilisé comme marqueur de diagnostic de l'arthrose, et un peptide N-terminal qui stimule la production de MMPs, de cathepsines (enzymes protéolytiques qui clivent le collagène II), et de cytokines pro-inflammatoires (IL-1β, 6 et 8). Les fragments d'AH induisent eux-aussi la dégradation et l'inflammation du cartilage, alors que l'AH non clivé présent dans le liquide synovial aurait un rôle chondroprotecteur, d'où l'utilisation d'injection intra-articulaire d'AH pour réduire la douleur et l'inflammation (Sofat, 2009).

2.1.3 Modification du métabolisme des chondrocytes

Une autre caractéristique de l'arthrose est la « différentiation hypertrophique » des chondrocytes articulaires. L'hypertrophie des chondrocytes est un phénomène physiologique ayant lieu pendant le processus d'ossification endochondrale qui permet la formation des os longs. Ce processus débute à partir d'une ébauche embryonnaire cartilagineuse envahie par son centre, puis à chaque extrémité, par des centres d'ossification primaire et secondaire qui vont remplacer le cartilage par du tissu osseux (sauf à la surface des os pour former le cartilage articulaire). Ce procédé se caractérise par une réorganisation et une différenciation progressive des chondrocytes qui vont s'aligner dans le sens de la croissance de l'os et vont proliférer. On distingue alors 4 stades de différenciation des chondrocytes : les chondrocytes restants, prolifératifs, pré-hypertrophiques et hypertrophiques. Ces derniers représentent le stade ultime de différenciation des chondrocytes, leur volume augmente et ils sécrètent de la matrice qui va minéraliser, avant de mourir en laissant place à des travées qui vont être envahies par des vaisseaux sanguins, des ostéoclastes et ostéoblastes et des cellules de la moelle osseuse, permettant la formation du tissu osseux (Mackie et al. , 2007). Ce phénomène n'a, en situation normale, lieu que lors de la formation de l'os. Cependant, lors du développement de l'arthrose, les chondrocytes rentrent en phase de différenciation terminale de nouveau, expriment les différents marqueurs de l'hypertrophie (MMP13, collagène de type X et phosphatase alcaline (ALP)), entrainant la minéralisation de la matrice environnante (Bertrand et al., 2010).

2.2 Le remodelage de l'os sous-chondral

Le rôle de l'os sous-chondral dans l'articulation est de distribuer les forces et amortir les chocs, en minimisant le stress mécanique du tissu cartilagineux. Parallèlement à une perte progressive du cartilage articulaire, on observe une sclérose de l'os sous-chondral, un épaississement des trabécules osseuses et la formation de nouveaux tissus osseux à la surface de l'articulation, appelés ostéophytes, et de kystes. On remarque que le renouvellement de l'os sous-chondral est augmenté de 20 fois lors du développement de l'arthrose. Il a été démontré que des altérations dans la structure de l'os sous-chondral prédisposaient à une perte de tissu cartilagineux.

Les causes de cette augmentation métabolique sont multiples (Burr & Gallant, 2012) :

- une charge mécanique répétitive, même normale, entraine la formation de microfractures dans l'os, causant une augmentation de la production de différents médiateurs qui stimulent le remodelage de l'os, comme le TGF-β, les IL-1 et 6 et le PGE_2. Ces microfractures entrainent de plus la libération de facteurs qui augmentent la résorption osseuse
- une invasion vasculaire dans les couches profondes du cartilage articulaire, due à la stimulation par des facteurs angiogéniques, comme le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) que l'on retrouve élevé dans le liquide synovial des patients arthrosiques, permettant l'accès au cartilage articulaire d'agents cataboliques (comme les MMPs et les ADAMTS)
- une communication entre l'os sous-chondral et le cartilage via des pores creusés dans l'os, permettant l'échange de différents médiateurs

2.3 L'inflammation de la membrane synoviale

Bien que longtemps considérée comme une pathologie non inflammatoire causée par la combinaison d'un stress mécanique et d'une dégradation enzymatique du cartilage, il est communément admis que l'inflammation à la fois de la membrane synoviale et au sein même du cartilage articulaire est une des caractéristiques de l'arthrose. Il ne faut cependant pas confondre arthrose, dans laquelle l'inflammation est secondaire à la destruction du cartilage, et arthrite dont l'origine est inflammatoire (tableau VII).

La membrane synoviale a un double rôle de nutrition des chondrocytes via le liquide synovial, et d'évacuation des déchets (métabolites et produits de dégradation de la matrice). Lors du développement de l'arthrose, on remarque une hypertrophie et une hyperplasie de la membrane synoviale, associées à une infiltration de cellules mononucléées (lymphocytes T et B, macrophages). Parallèlement, on observe une néo-vascularisation sous l'action du VEGF, qui facilite l'accès aux cellules inflammatoires, ainsi qu'une augmentation de la production de différentes cytokines pro-inflammatoires. Le tissu synovial contient de plus différentes adipokines secrétées par le tissu adipeux (visfatine, adiponectine, leptine), qui sont impliquées dans la dégradation et l'inflammation du cartilage (Sellam & Berenbaum, 2010).

2.4 La composante douloureuse

L'arthrose est fortement associée à des douleurs, qui semblent augmenter de façon graduelle avec la progression de la maladie. Dans les stades précoces, elle survient sous forme d'épisodes lors des mouvements, puis survient au repos dans les stades évolués. Ces douleurs ne prennent pas leur source dans le tissu cartilagineux, qui ne possède pas de fibres nociceptives, mais seraient secondaires à l'inflammation de la membrane synoviale et au remodelage de l'os sous-chondral (formation d'ostéophytes). Une inflammation chronique de la membrane synoviale est associée à des modifications de la transmission des signaux sensoriels, ainsi que dans la synthèse de neurotransmetteurs et neuromédiateurs (bradykinine, substance P, nerve growth factor (NGF)) qui stimulent les terminaisons nerveuses liées à la douleur, tout en potentialisant l'action des différentes cytokines pro-inflammatoires (Sellam & Berenbaum, 2010).

Pour conclure la partie 1, en figure 12 est récapitulée la physiopathogénie de l'arthrose, avec les différents tissus et médiateurs impliqués.

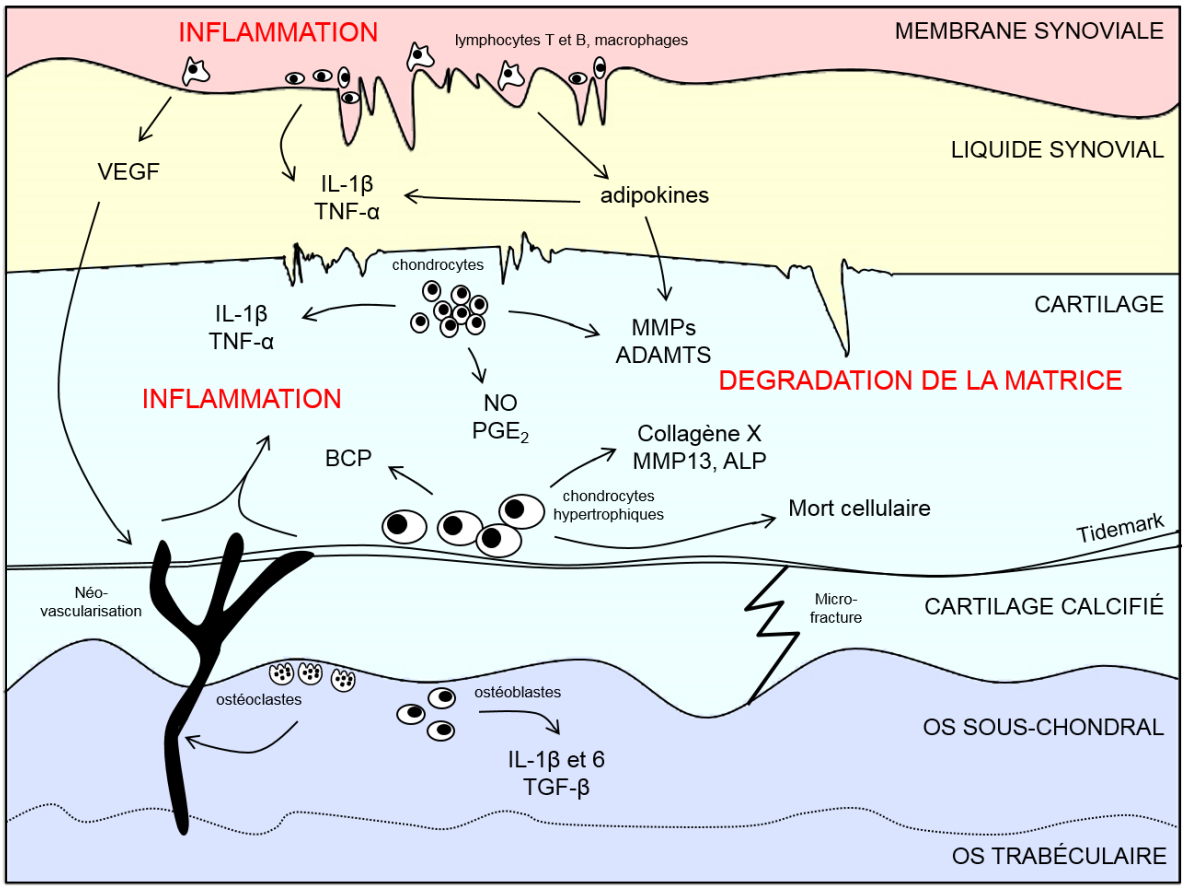


Figure 12 : Schéma récapitulatif de la physiopathogénie de l'arthrose. Lors d'une situation de stress mécanique, le métabolisme des chondrocytes est modifié en faveur de la libération de cytokines et médiateurs pro-inflammatoires (IL-1β, TNF-α, NO, PGE_2), ainsi que d'enzymes de dégradation de la MEC (MMPs, ADAMTS), conduisant à l'érosion de la surface articulaire et la création d'une inflammation au sein du tissu. Parallèlement, les chondrocytes entrent en hypertrophie (caractérisée par la production de collagène X, MMP13 et ALP), secrètent des cristaux minéraux de BCP (basic calcium phosphate), et meurent par apoptose et autophagie. A ces phénomènes s'associe une inflammation de la membrane synoviale, qui libère des médiateurs qui entretiennent l'inflammation et la dégradation du cartilage (IL-1β, TNF-α, adipokines), et du VEGF qui conduit à l'invasion des couches profondes du cartilage par des vaisseaux sanguins, permettant l'accès au cartilage aux cellules inflammatoires. On observe de plus un remodelage de l'os sous-chondral, qui est traversé par des vaisseaux, avec formation de microfractures, associé à une augmentation de la résorption osseuse par les ostéoclastes

PARTIE 2 : PRISE EN CHARGE DE LA PATHOLOGIE ARTHROSIQUE

1. L'arthrose en chiffres

L'arthrose est une des pathologies articulaires les plus communes et les plus invalidantes. Environ 10 millions de français seraient touchés par la maladie (soit 17% de la population), dont la moitié sont symptomatiques. Sa prévalence est fortement corrélée à l'âge : plus de 80% des patients arthrosiques ont plus de 50 ans (Le Pen et al., 2005). Elle touche principalement les articulations du rachis, du genou, des mains et de la hanche. La gonarthrose (arthrose du genou) touche en France 4,7% des hommes et 6,6% des femmes (Mazières, 2011).

La prise en charge de l'arthrose repose sur l'utilisation de traitements non pharmacologiques (perte de poids, pratique d'une activité sportive régulière, port de semelles orthopédiques), de traitements pharmacologiques (analgésiques, anti-inflammatoires, anti-arthrosiques...) et chirurgicaux (pose de prothèse). En 2003, une étude « Coûts de l'ARThrose » (étude COART) a été réalisée pour évaluer les coûts directs du traitement de la pathologie, qui s'élèvent à plus de 1,6 milliards d'euros, soit 1,7% des dépenses de santé de l'assurance maladie en France en 2003 (tableau V). Peu de données épidémiologiques ont été publiées depuis, mais on estime que ce chiffre s'élève à plus de 3 milliards d'euros en 2010 (Grange et al., 2012). Parmi les 13 millions de consultations concernant l'arthrose, 91% sont réalisées chez les médecins généralistes et 8% chez les rhumatologues. Trois pourcent des patients arthrosiques sont hospitalisés pour une arthroplastie, avec environ 80 000 poses de prothèses de hanche et 38 000 prothèses de genou par an, et représentent la moitié des coûts de l'arthrose (Le Pen et al., 2005).

L'étude COART rapporte de plus la répartition des traitements pharmacologiques actuels de l'arthrose, en nombre de prescriptions et en coût. Les molécules le plus prescrites étant les antalgiques (7 millions des prescriptions), les AINS (3,6 millions) et les anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASALs) (3,5 millions). Les topiques et corticoïdes injectables ne sont prescrits que dans une moindre mesure. Parallèlement, environ 500 000 anti-ulcéreux sont prescrits pour prévenir les effets indésirables gastriques des AINS (tableau VI).

Population arthrosique symptomatique		4,6 millions
Consultations	Nombre Coût	13,4 millions 270 millions €
Traitement	Nombre de prescriptions Coût	18 millions 574 millions €
Hospitalisations (arthroplasties)	Nombre Coût	127 000 820 millions €
Coût annuel par patient	Hospitalisé Non hospitalisé	5800 € 181 €
Coûts directs		1644 millions €

Tableau V : Evaluation du coût socio-économique de l'arthrose, selon l'étude COART France réalisée en 2003 (Etude sur les Coûts de l'ARThrose) (Le Pen et al., 2005)

Classe médicamenteuse	**Prescriptions annuelles**		**Coût annuel des traitements**	
	Milliers de prescriptions	**%**	**Millions d'euros**	**%**
Antalgiques	6957	41	106	18
AASALs	3529	21	207	36
AINS non spécifiques	1866	11	44	8
AINS spécifiques de COX-2	1764	11	151	26
Baumes	1518	9	6	1
Corticoïdes injectables	237	1	3	1
Protecteurs gastriques	594	4	50	9
Autres	273	2	5	1

Tableau VI : Répartition des prescriptions et coûts des traitements médicamenteux de l'arthrose, selon l'étude COART France réalisée en 2003 (Etude sur les Coûts de l'ARThrose) (Le Pen et al., 2005)

2. Etiologie de l'arthrose

L'étiologie exacte de l'arthrose est mal définie, elle survient le plus souvent sans cause apparente. On connaît cependant un certain nombre de facteurs de risques prédisposant au développement de la maladie (figure 13) (Johnson & Hunter, 2014; Suri et al., 2012).

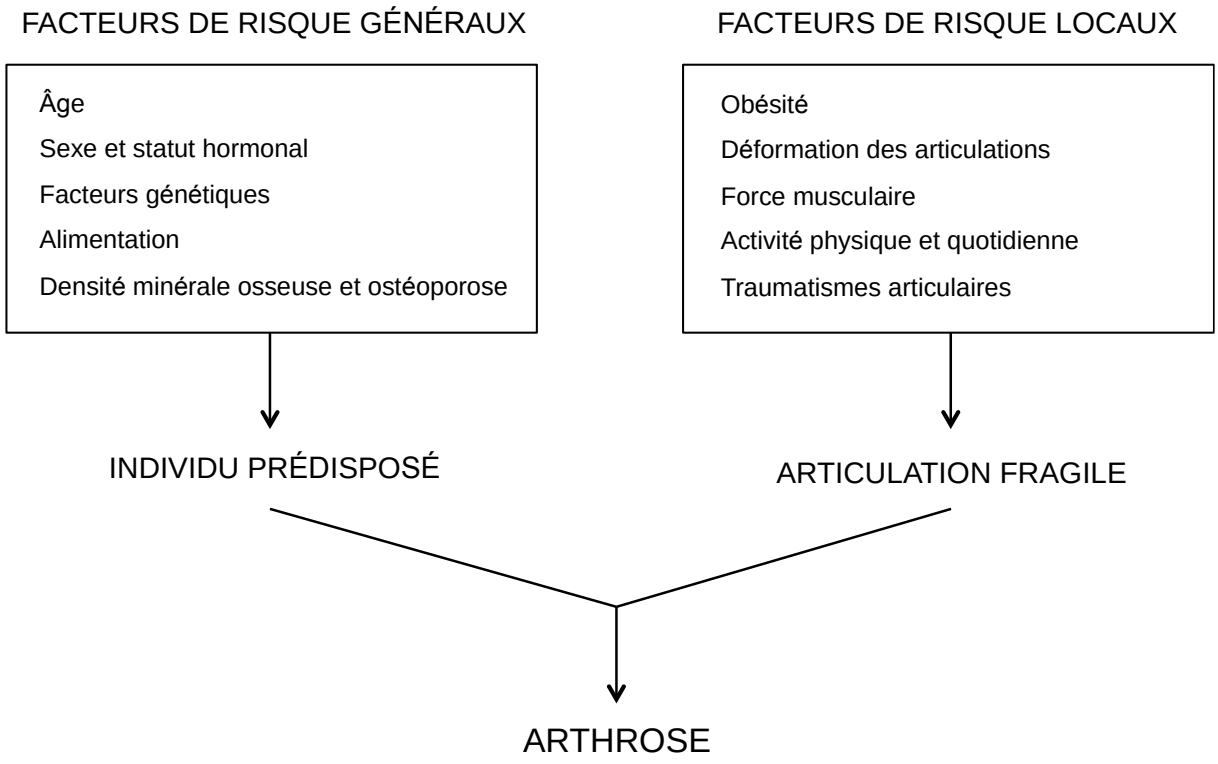


Figure 13 : Facteurs de risques prédisposant au développement de la gonarthrose (Johnson & Hunter, 2014; Suri et al., 2012)

2.1 Facteurs de risque généraux

✓ Age : l'âge est le facteur de risque prédominant dans l'arthrose. En effet, il existe une forte corrélation entre le développement de la pathologie et le vieillissement. De moins de 5% des patients âgés de 15 à 44 ans touchés par une arthrose d'au moins une articulation, le pourcentage passe de 15 à 30% à l'âge de 45 à 64 ans, et de 60 à 90% des plus de 65 ans dans certaines populations. Ce phénomène serait lié à la détérioration fonctionnelle et la senescence des chondrocytes, qui perdent leur capacité à maintenir l'intégrité structurelle du cartilage, probablement sous l'effet du stress oxydatif (Buckwalter & Martin, 2006).

✓ Sexe et statut hormonal : l'incidence de l'arthrose est plus importante chez la femme que chez l'homme. Elle est plus fréquente, plus souvent symptomatique et plus évolutive après la ménopause, suggérant un effet des oestrogènes sur le métabolisme des chondrocytes et/ou des cellules osseuses.

✓ Facteurs génétiques : l'arthrose semblerait avoir un caractère héréditaire (de 40% pour la gonarthrose), avec un mode de transmission multigénique. En effet, de nombreux gènes ont été identifiés pour leur implication dans le développement de l'arthrose, dont les gènes codant pour le récepteur à la vitamine D, l'IGF-1, le collagène de type II et le growth differentiation factor-5 (GDF-5).

✓ Alimentation : des ROS sont produits dans les articulations et s'accumuleraient avec l'âge, endommageant les tissus articulaires. Des études chez l'animal ont démontré que l'alimentation dans les stades précoces du développement pouvait entraîner une susceptibilité pour le développement d'arthrose, mais aucune étude n'a montré cet effet chez l'homme. Une carence en vitamines D et K, impliquées dans le métabolisme et la minéralisation cartilagineuse et osseuse, augmenterait l'incidence et la progression de l'arthrose. De même, un déficit en vitamine C, vitamine anti-oxydante, augmenterait la progression de la maladie.

✓ Densité minérale osseuse (BMD) et ostéoporose : un lien a été établi entre une haute densité minérale osseuse et le développement de l'arthrose. L'apparition d'ostéoporose, caractérisée par une diminution de la densité minérale osseuse, protégerait donc du développement de l'arthrose.

2.2 Facteurs de risque locaux

✓ Obésité : le risque de développer de l'arthrose du genou est multiplié par 3 chez les patients en excès de poids. C'est un des facteurs de risque les plus importants dans l'arthrose, et une perte de poids, même modeste, permet une réduction non négligeable du risque arthrosique. En effet, une étude épidémiologique de longue durée, l'étude Framingham, initialement réalisée pour déterminer les facteurs de risques associés aux maladies cardiovasculaires, a démontré qu'une diminution de l'indice de masse corporelle (IMC) de 2 valeurs chez les femmes, soit environ 5 kg, permet de diminuer le risque de développer de l'arthrose de 50% (Felson et al., 1992).

✓ Déformation des articulations : des anomalies de l'alignement des membres inférieurs entrainent une altération de la distribution des charges mécaniques, et sont donc des facteurs favorisant la progression de l'arthrose. Parmi ces anomalies, des déviations de l'axe entre le fémur et le tibia, le genu varum (écartement des genoux) ou le genu valgum (resserrement des genoux et écartement des chevilles), ou une inégalité de la longueur des membres inférieurs, sont associés à l'incidence de la gonarthrose (figure 14).

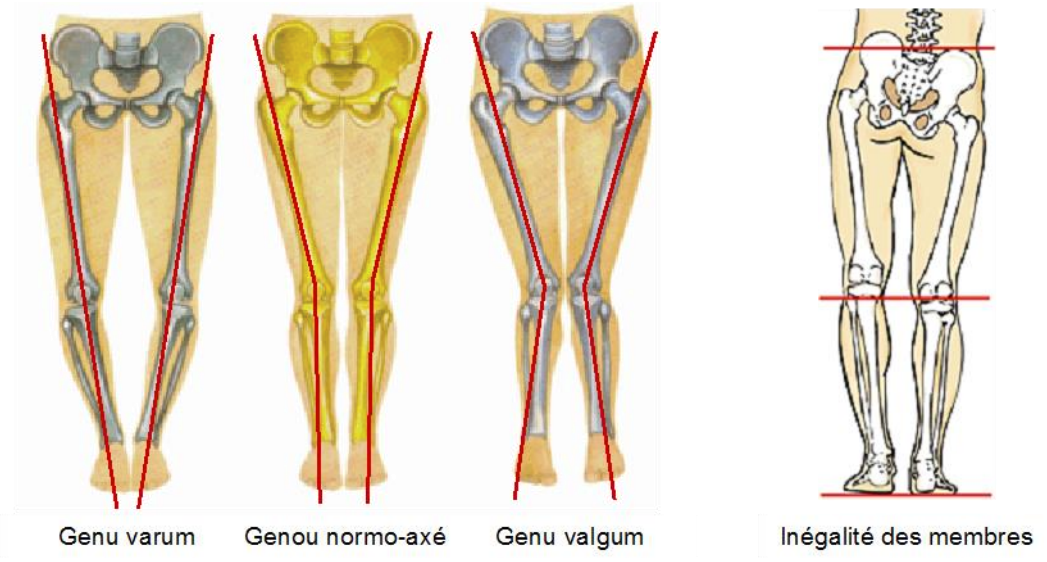


Figure 14 : Représentation des anomalies de l'alignement des membres inférieurs

✓ Force musculaire : la perte de force musculaire est une des conséquences de l'arthrose, mais c'est aussi un facteur de prédisposition, notamment une faiblesse des muscles quadriceps qui augmenterait le risque de dommages structuraux.

✓ Activités physiques et quotidiennes : certaines catégories de professions, nécessitant de s'agenouiller ou s'accroupir, et de porter ou soulever des charges, seraient plus à risque de manifester de l'arthrose. Une activité physique sportive modérée n'est pas directement associée au développement de l'arthrose, cependant, une corrélation existe chez les sportifs exerçants des mouvements répétitifs, intenses et avec des impacts importants (comme le tennis, le squash ou les sports d'équipes). On ne sait néanmoins pas si cette association est due à la pratique sportive elle-même ou aux blessures liées à cet entrainement.

✓ Traumatismes articulaires : des dommages articulaires, tels qu'une rupture des ligaments croisés antérieurs (LCA) ou une lésion méniscale, sont d'importants facteurs induisant le développement de l'arthrose. En effet, nombre de patients ayant subi une de ces blessures montrent des signes d'arthrose dans les 10 ans suivants la blessure initiale. De plus, une lésion méniscale (souvent associée à la rupture du LCA), accompagnée d'une méniscectomie est associée à un risque 14 fois supérieur d'arthrose radiographique sévère.

3. Signes cliniques

Parmi les cas d'arthrose, une sur deux est visible à la radiographie, et une arthrose radiographique sur deux est symptomatique. Les symptômes principaux associés à l'arthrose du genou sont la douleur et la présence d'une gêne fonctionnelle.

3.1 La douleur

La douleur dans l'arthrose est dite « mécanique » et présente des caractéristiques particulières :

- elle est déclenchée et aggravée par le mouvement
- elle cesse ou diminue lorsque l'articulation est au repos
- elle est moins importante le matin, augmente dans la journée et est maximale le soir
- elle gène traditionnellement l'endormissement, et peut exceptionnellement entraîner des réveils nocturnes
- elle réapparaît lorsque l'articulation est soumise à un effort (monter les escaliers par exemple)

Il peut exister des poussées inflammatoires sur fond douloureux chronique se manifestant par des réveils nocturnes, un épanchement articulaire et un dérouillage matinal (temps nécessaire le matin au réveil ou après un moment sans bouger pour débloquer des articulations enraidies, qui peut durer d'1/4 heure à plusieurs heures).

3.2 La gêne fonctionnelle

L'arthrose entraine une déformation de l'articulation, et engendre donc une limitation de la mobilité de celle-ci. Cette limitation sera variable en fonction de l'activité

du patient. L'ampleur des mouvements est réduite et le patient observe des raideurs et une sensibilité du genou touché. L'inflammation peut entrainer un gonflement dû à un épanchement liquidien. L'état général est toujours bon, sans fièvre ou amaigrissement, mais les lésions sont irréversibles et peuvent aboutir à une invalidité partielle.

3.3 Arthrose versus arthrite

L'arthrose et l'arthrite sont souvent confondues, car ont des similarités, elles appartiennent toutes les deux à la famille des rhumatismes, concernent les articulations et causent des douleurs souvent handicapantes. Néanmoins, ce sont deux pathologies différentes (tableau VII), notamment de par leur étiologie : l'arthrose est due à un désordre mécanique et métabolique, associé à une inflammation secondaire, alors que l'arthrite est due à une inflammation souvent d'origine auto-immunitaire ; et par le type de douleur associée : au mouvement dans l'arthrose, et au repos dans l'arthrite.

	Arthrose	**Arthrite**
Origine	Atteinte du cartilage d'origine mécanique ou génétique	Multiple : bactéries, microcristaux, immunité, hérédité, intolérance alimentaire
Type de douleur	Mécanique : douleurs au mouvement	Inflammatoire : douleurs au repos, diminuant au mouvement
Personnes touchées	Adultes et personnes âgées	Tout âge (dont les enfants)
Composition du liquide synovial	GB > 2000 mm^3 dont 50% de PN	GB < 2000 mm^3 dont moins de 50% de PN
Pathogénie	Usure du cartilage, puis douleurs et inflammation	Inflammation puis usure du cartilage
Localisation	Articulations portantes (rachis, genou, hanche) et mains	Toutes les articulations, et plusieurs articulations simultanément en cas de polyarthrite rhumatoïde
Symptômes	Douleur, raideur, déformations	Douleur, rougeur, gonflement, chaleur, raideur, altération de l'état général, déformations importantes

Tableau VII : Différences entre arthrose et arthrite

4. Diagnostic de la gonarthrose

Il existe 3 catégories de critères évalués dans le diagnostic de l'arthrose : la douleur, la gêne fonctionnelle et les atteintes structurelles. Le diagnostic de l'arthrose se base tout d'abord sur la présence des différents symptômes décrits au paragraphe 3 (sensibilité de l'articulation, craquements, restriction et douleur lors du mouvement, déformations, instabilité). L'examen clinique doit comprendre un examen de la force musculaire et de la stabilité des ligaments des différentes articulations. Le poids et l'IMC, ainsi que de mauvais alignements des articulations doivent aussi être inspectés. Cet examen clinique peut être complété d'un examen d'imagerie (radiographique majoritairement, ou d'imagerie à résonance magnétique (IRM)) pour confirmer le diagnostic d'arthrose ou exclure une autre pathologie.

4.1 Evaluation de la douleur

La douleur est un phénomène subjectif, il est donc difficile mais nécessaire de l'évaluer pour orienter le traitement. Deux outils ont été développés pour évaluer la douleur liée à l'arthrose :

- **l'échelle visuelle analogique (EVA)** : c'est une méthode d'auto-évaluation de la douleur par le patient permettant d'évaluer l'amélioration ou l'aggravation des symptômes suite au traitement. Elle se présente sous forme d'une règle à 2 faces : une pour le patient avec une ligne allant de « pas de douleur » à « douleur maximale imaginable », et une pour le soignant avec un score de 1 à 10 correspondant à l'intensité pointée par le patient (figure 15).

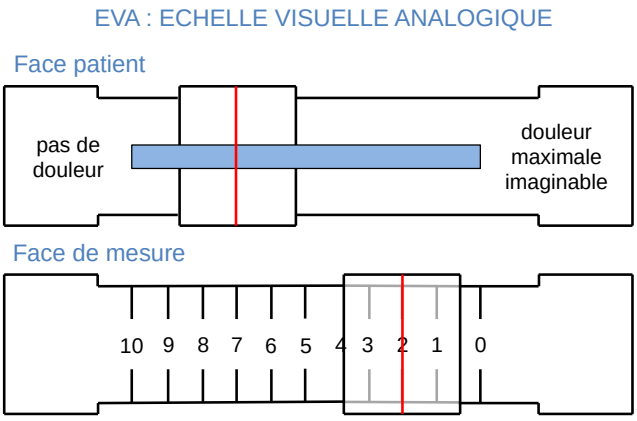


Figure 15 : Méthode d'auto-évaluation de la douleur : Echelle visuelle analogique (EVA)

- **la partie « douleur » de l'index « WOMAC » (Western Ontario and McMaster universities osteoarthritis index)** : c'est un questionnaire développé par les universités de Western Ontario et MacMaster pour évaluer l'arthrose des membres inférieurs, selon 3 critères : la douleur, la raideur articulaire et la gêne fonctionnelle. Deux types de cotations sont utilisées : l'échelle de Likert avec 5 réponses possibles (de 0 à 4) ou une échelle visuelle analogique de 100 mm (Annexe 1) (Bellamy et al., 1988).

4.2 Evaluation de la gêne fonctionnelle

De nombreux indices pour évaluer la gêne fonctionnelle ont été développés. Parmi eux, les 3 indices les plus utilisés sont : l'index WOMAC, qui évalue la capacité fonctionnelle des membres inférieurs (Annexe 1) (Bellamy et al., 1988), l'indice fonctionnel de Lequesne, qui est utilisé pour l'évaluation de la coxarthrose et de la gonarthrose (Annexe 2) (Lequesne, 1991), et le KOOS (Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score) (Annexe 3) (Roos et al., 1998).

L'indice WOMAC (Annexe 1) (Bellamy et al., 1988) est le plus ancien et le plus générique. Il est moins spécifique à la gonarthrose, et prend en compte la douleur, les raideurs et la gêne fonctionnelle des membres inférieurs (donc de la hanche à la cheville). Il permet de suivre l'évolution de la maladie au cours du temps : une variation d'au moins 10 points sera généralement considérée par les patients comme une amélioration « perceptible », alors qu'une valeur au-delà de 40 points sera considérée comme une gêne « importante ».

L'indice algo-fonctionnel de Lequesne (Annexe 2) (Lequesne, 1991) a été développé pour évaluer la douleur et la gêne fonctionnelle associées à l'arthrose de la hanche et du genou. Les 2 questionnaires sont très proches, et l'on considère qu'une valeur au-delà de 12 représente une gêne « très importante », et qu'une variation d'au moins 3 points indique une amélioration « notable ». Le traitement chirurgical est envisagé à partir d'un score de 10.

L'indice KOOS (Annexe 3) (Roos et al., 1998), enfin, est le plus récent et le plus spécifique de la gonarthrose. Ce questionnaire d'auto-évaluation est une extension du WOMAC, et évalue à la fois les conséquences à court et à long terme d'une blessure

au genou. Il est divisé en 5 catégories : la douleur, les autres symptômes, la gêne fonctionnelle dans la vie quotidienne, lors d'une activité sportive ou de loisirs, et la qualité de vie.

4.3 Evaluation des atteintes structurelles

4.3.1 La radiologie

La radiologie est l'examen complémentaire standard dans le diagnostic d'arthrose. Dans l'interprétation de ces examens radiographiques, il est important de se rappeler que les lésions débutantes d'arthrose ne peuvent être appréciées grâce aux rayons X. L'absence de modifications radiologiques ne signifie donc pas l'absence de manifestations symptomatologiques ; inversement, un examen radiologique peut être positif chez un patient non symptomatique.

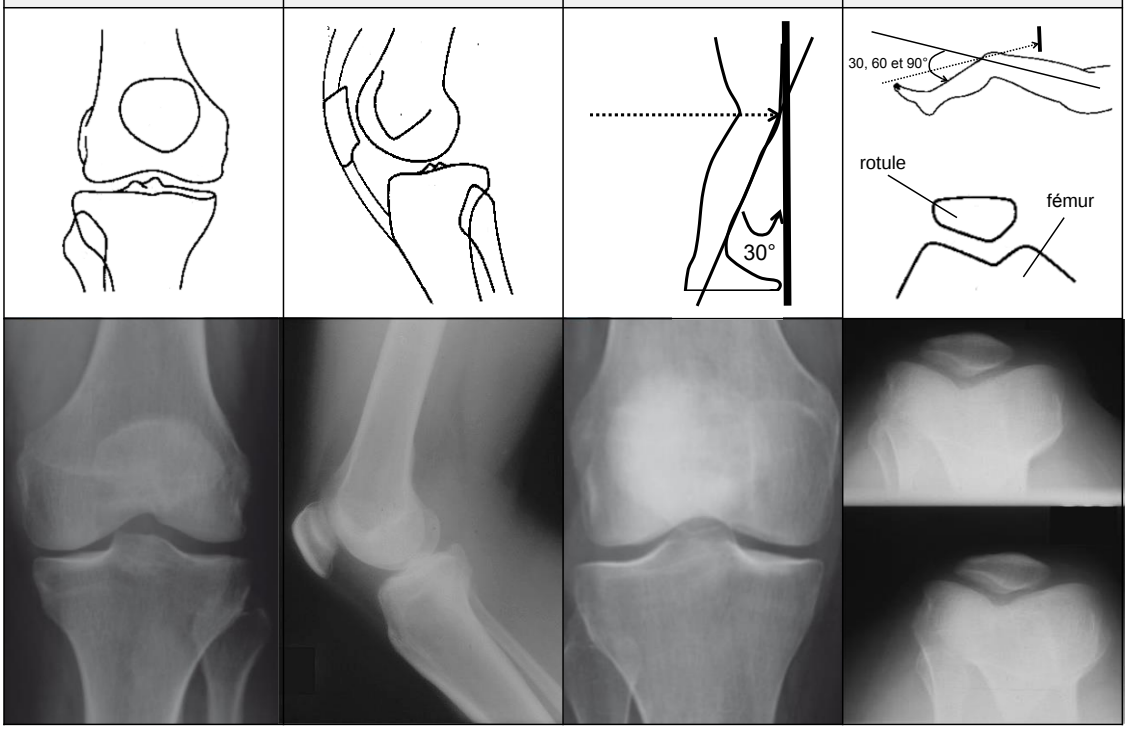
La radiographie ne permet pas de visualiser le cartilage, mais elle permet d'évaluer 4 paramètres caractéristiques liés à l'arthrose :

1. l'étude de l'interligne articulaire : on mesure ce que l'on appelle le « pincement de l'interligne articulaire », c'est-à-dire la diminution de la hauteur de l'espace entre le fémur et le plateau tibial. Grâce à la mesure de cet espacement, on peut indirectement évaluer la perte cartilagineuse, et établir une classification de l'évolution de la maladie selon la vitesse de pincement de l'interligne articulaire :

Forme évolutive lente	vitesse de pincement < 0,2 mm/an
Forme évolutive subaiguë	0,2 mm/an < vitesse de pincement < 2 mm/an
Arthrose destructive rapide	vitesse de pincement > 2 mm/an

2. l'ostéocondensation (ou sclérose) sous-chondrale : due au remodelage osseux, et qui apparaît à la radiographie comme une zone plus dense, blanche près de la surface articulaire
3. la présence d'ostéophytes, qui sont des excroissances osseuses visibles aux extrémités de l'articulation
4. la formation de géodes sous-chondrales, qui sont des trous dans l'os situés autour de l'articulation

Ces différents paramètres sont observés en réalisant 4 différents types de clichés standardisés, représentés dans le tableau VIII : les vues de face en charge en extension complète et de profil (15° de flexion), une vue selon l'incidence de Schuss (en arrière du genou, avec une trentaine de degrés de flexion) et des clichés fémoro-patellaire à 30, 60° et 90° pour apprécier une éventuelle arthrose entre le fémur et la rotule. Parallèlement, une radiographie de la totalité du membre inférieur (de la hanche à la cheville) est réalisée afin de déterminer une éventuelle désaxation en varus ou en valgus. Il est de plus systématiquement réalisé une radiographie du bassin, car des douleurs de genou peuvent irradier du bassin.

Vue de face	Vue de profil	Vue en « schuss »	Incidence fémoro-patellaire
			

<u>Tableau VIII</u> : Différents clichés radiologiques réalisés lors du diagnostic d'arthrose du genou (Sources : D. Loeuille, La lettre du rhumatologue n°370, mars 2011 Supplément 4 ; AFPPE poitou)

Différents scores radiologiques ont été développés pour évaluer l'évolution de l'arthrose, le plus utilisé est le score de Kellgren et Lawrence (tableaux IX et X) (Kellgren & Lawrence, 1957), qui classe les lésions radiographiques en 5 stades de gravité croissante, représentés dans la figure 16.

Critères	Points	Définition
Ostéophytes	0	Aucun
	1	Présents
	2	Larges
Hauteur de l'interligne articulaire	0	Normale
	1	Réduite
	2	Fortement réduite
	3	Complètement réduite
Sclérose sous-chondrale	0	Aucune
	1	Modérée
	2	Modérée avec kystes
	3	Sévère avec kystes
Déformation	0	Aucune
	1	Modérée
	2	Forte

Tableau IX : Critères radiologiques de scoring de l'arthrose selon Kellgren et Lawrence ; un grade 1 correspond à 1-2 points, le grade 2 à 3-4 points, le grade 3 à 5-9 points et le grade 4 à 10 points (Kellgren & Lawrence, 1957)

Grade 0	Radiographie normale
Grade 1	Pincement de l'interligne douteux et possibles ostéophytes
Grade 2	Ostéophytes certains et pincement de l'interligne absent ou faible
Grade 3	Ostéophytes de taille moyenne, pincement de l'interligne certain et sclérose, déformation possible
Grade 4	Larges ostéophytes, pincement de l'interligne important, sclérose sévère, déformation

Tableau X : Classification des stades radiologiques d'arthrose selon les critères de Kellgren et Lawrence (Kellgren & Lawrence, 1957)



<u>Figure 16</u> : Clichés radiographiques représentatifs de chaque stade d'arthrose, selon la classification de Kellgren et Lawrence (Ryu et al., 2012)*. Les flèches noires représentent le pincement de l'interligne, les flèches blanches les ostéophytes, les étoiles noires la sclérose de l'os sous-chondral, et les étoiles blanches la déformation de l'articulation.*

Le recours à des examens plus sophistiqués (et donc plus chers) tels que le l'IRM ou le scanner n'est pas réalisé si les examens clinique et radiographique sont concordants et montrent une arthrose. Ils peuvent être utiles dans les cas débutants, chez les sujets jeunes, ou lorsqu'on recherche des atteintes associées.

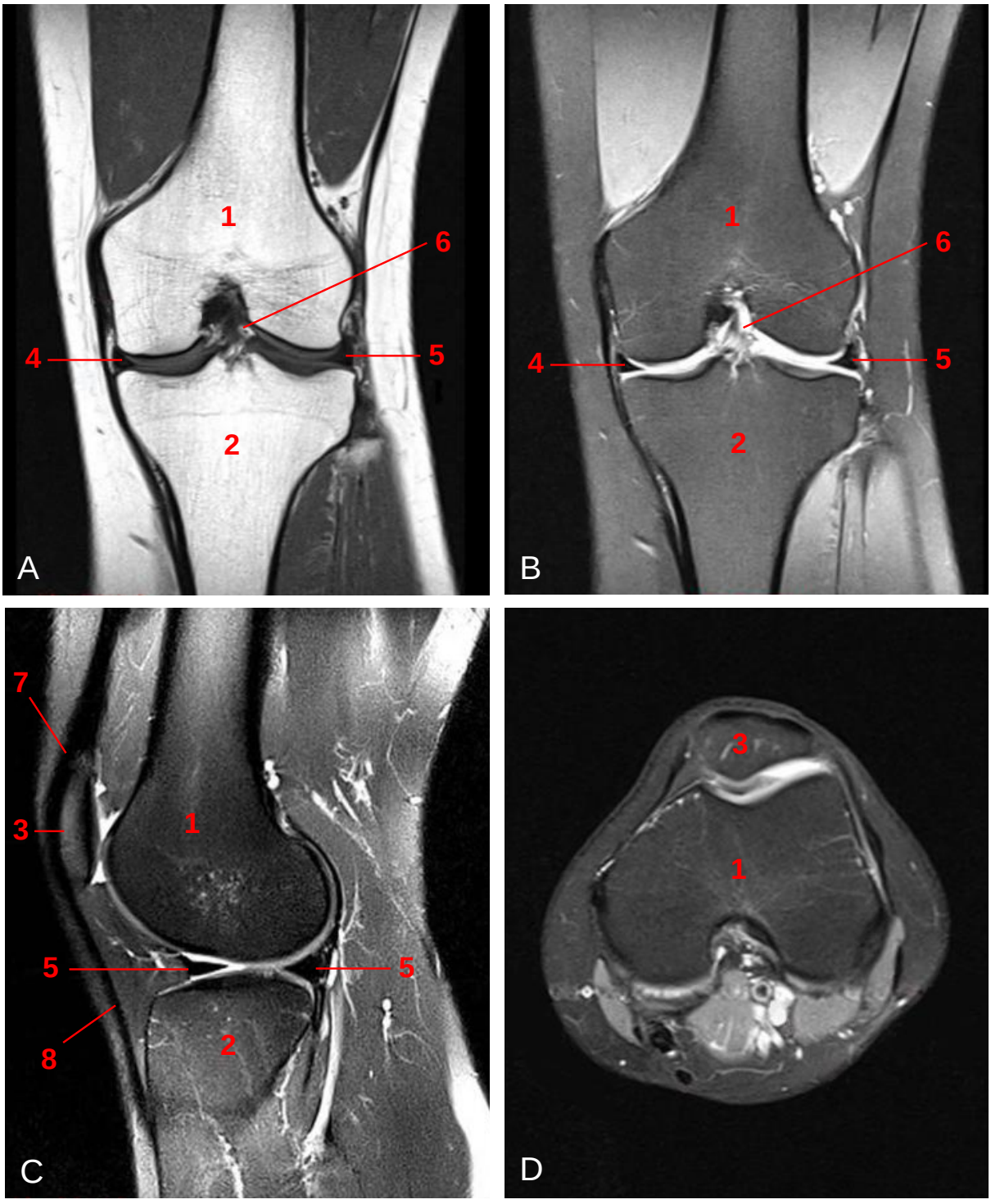
4.3.2 L'imagerie à résonance magnétique (IRM)

L'IRM peut être utile notamment dans les cas d'arthrose pré-radiographiques, c'est-à-dire les arthroses débutantes, non visibles à la radiographie. En effet, la radiographie ne permet de voir ni le cartilage, ni les structures non osseuses de l'articulation, comme les ménisques, la membrane synoviale, les ligaments, ou la moelle osseuse. L'IRM permet donc à la fois d'apprécier une éventuelle atteinte du cartilage, mais aussi des phénomènes inflammatoires de la membrane synoviale (épaississement de la membrane, épanchement liquidien), des déchirures méniscales, des ruptures ou inflammations des ligaments ou des tendons, et de l'os (œdème, fissures). Elle permet de plus d'exclure d'autres pathologies, telles qu'une ostéonécrose, une ostéochondromatose (métaplasie de la membrane synoviale avec formation de nodules cartilagineux dans le liquide synovial), une tumeur,...

Cette technique est non invasive et non irradiante. Pour réaliser ces clichés, le genou est fléchi d'environ 15° (position spontanée au repos), et on réalise classiquement 4 séquences (figure 17) :

- 3 séquences en pondération T2, dans les 3 plans de l'axe (axial, sagittal et coronal) : les liquides apparaissent blancs (hypersignal) et le cartilage apparaît gris foncé ou noir (hyposignal)
- 1 séquence en pondération T1 : le cartilage apparaît gris (signal intermédiaire), tandis que la graisse apparaît blanche (hypersignal) et les autres structures (os, tendons, ligaments, ménisques, capsule articulaire) et les liquides apparaissent noirs (hypo ou asignal)

Les séquences en T1 et T2 sont complémentaires ; les séquences en T1 sont particulièrement utiles pour visualiser les structures osseuses, alors que les séquences en T2 sont utilisées pour l'observation des ménisques, ligaments et du cartilage.



<u>Figure 17</u> : Clichés de genoux réalisés par imagerie à résonance magnétique (IRM) : vues coronales en T1 (A) et en T2 (B), vue sagittale en T2 (C) et axiale en T2 (D). Légende : 1 – fémur ; 2 – tibia ; 3 – rotule ; 4 – ménisque interne ; 5 – ménisque externe ; 6 – ligament croisé postérieur ; 7 – tendon du quadriceps ; 8 – tendon patellaire (Source : info-radiographielogie.ch)

Les anomalies du cartilage peuvent être classées en 5 grades selon la classification de Broderick (tableau XI) (Broderick et al., 1994).

Grade 0	Aspect normal
Grade 1	Anomalie de signal du cartilage sans anomalie de contour
Grade 2	Surface cartilagineuse modérément irrégulière ou focalisée de moins de 50% de l'épaisseur du cartilage
Grade 3	Surface cartilagineuse très irrégulière ou ulcération de plus de 50% de l'épaisseur du cartilage, sans atteindre l'os sous-chondral
Grade 4	Mise à nu de l'os sous-chondral

Tableau XI : Classification de Broderick des grades d'arthrose mis en évidence par imagerie à résonance magnétique (IRM) ou par arthroscanner (Broderick et al., 1994)

Bien que peu utilisé en pratique clinique, l'IRM possède une place importante en recherche dans le suivi de la progression de la maladie, grâce au développement de nouvelles méthodes semi-quantitatives et quantitatives, ou l'injection de produits de contraste.

4.3.3 L'arthrographie

La radiographie standard ne permet pas de visualiser les muscles, tendons, ligaments, ménisques ou le cartilage, qui sont radiotransparents. Elle peut donc être couplée à l'injection d'un produit de contraste dans l'articulation (iodé le plus souvent) pour observer ces structures, on appelle alors cette technique l'arthrographie. Elle est de plus en plus remplacée par l'arthroscanner qui consiste à réaliser des coupes scanographiques après l'injection d'iode dans l'articulation.

4.3.4 L'arthroscanner

L'arthroscanner est un examen irradiant et invasif (ponction de l'articulation avec risque septique) dont l'avantage majeur est de visualiser parfaitement la surface et l'épaisseur du cartilage (figure 18), sur plusieurs coupes, contrairement à l'arthrographie. Il permet donc de déceler la présence de lésions focales du cartilage (fissurations, ulcérations...) non visibles à la radiographie. Il permet de plus d'observer d'autres tissus articulaires comme l'os sous-chondral (donc la présence d'ostéophytes, de sclérose ou de géodes), la cavité articulaire ou la paroi synoviale. La classification des lésions utilisée est la même que pour l'IRM (classification de Broderick) (tableau XI).

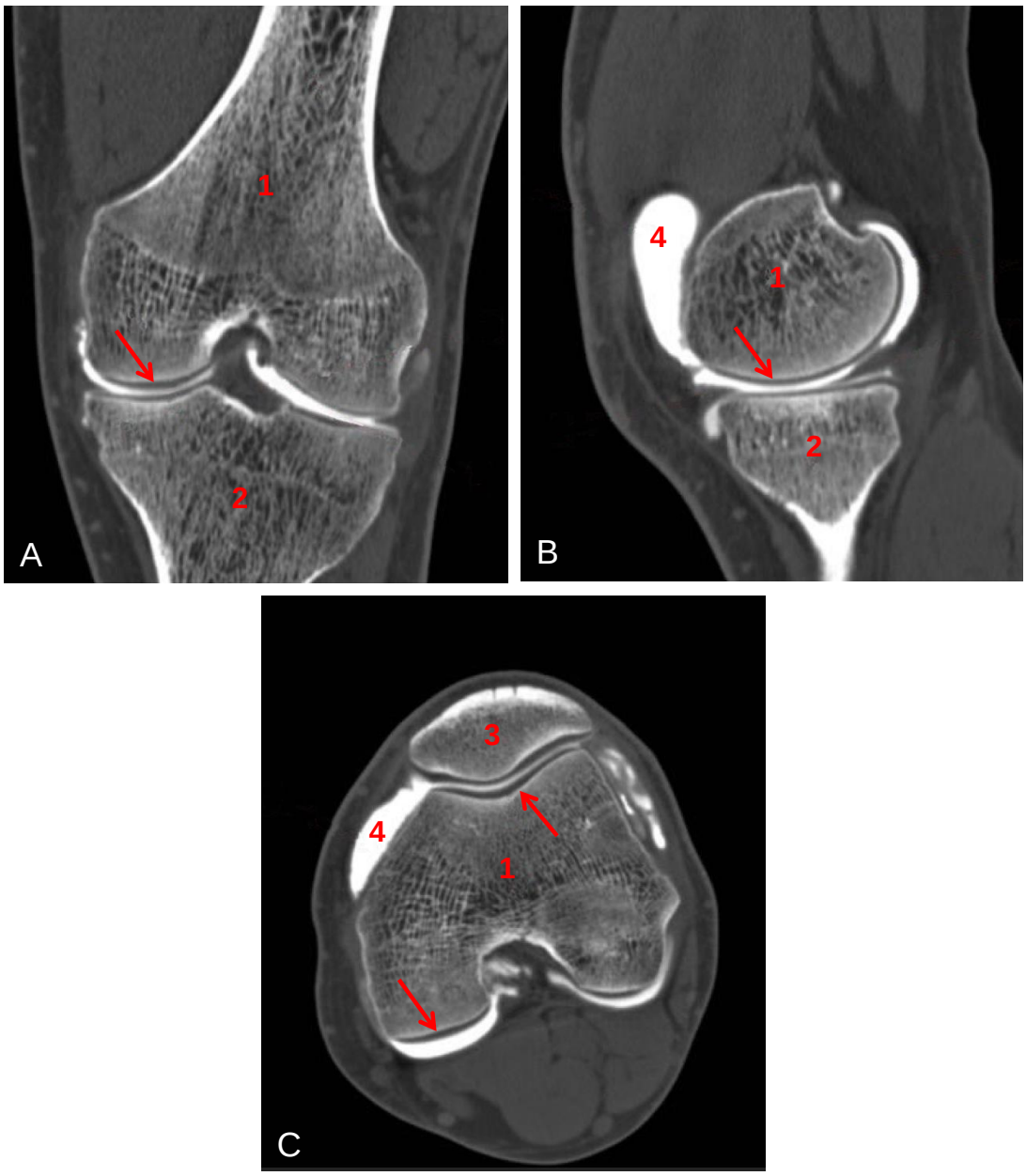


Figure 18 : Clichés de genoux réalisés par arthroscanner : vue coronale (A), sagittale (B) et axiale (C). Les flèches rouges représentent le cartilage articulaire. Légende : 1 – fémur ; 2 – tibia ; 3 – rotule ; 4 – produit de contraste (Source : info-radiologie.ch)

4.3.5 L'échographie

L'échographie est peu utilisée dans le diagnostic d'arthrose. Son indication est principalement réservée à l'étude d'épanchements, de kystes synoviaux, de synovite ou pour guider une infiltration. Le cartilage peut être visualisé sous la forme d'une bande plus foncée de structure homogène et de surface nette. Une lésion d'arthrose se traduit par un amincissement de cette bande et une délimitation de la surface moins nette.

5. Prise en charge de la gonarthrose

5.1 Recommandations dans la prise en charge de l'arthrose du genou

Le traitement de l'arthrose est le plus souvent prescrit sur de longues durées. Il est uniquement symptomatique, car aucune des alternatives thérapeutiques actuelles ne permet de soigner l'arthrose. Ces traitements ont donc pour objectif de calmer la douleur, diminuer la gêne fonctionnelle, améliorer la qualité de vie, et ultimement ralentir l'évolution de la pathologie. Ils combinent à la fois un traitement non pharmacologique et un traitement médicamenteux, voire une prise en charge chirurgicale.

Les recommandations actuelles pour la prise en charge de la gonarthrose sont basées, au niveau européen, sur les recommandations de l'European League Against Rheumatism (EULAR) (2003) (Annexe 4) (Jordan et al., 2003), et au niveau international, sur celles de l'Osteoarthritis Research Society International (OARSI) (2008) (Annexe 5) (Zhang et al., 2007; Zhang et al., 2008). Ces recommandations sont finalement très semblables et sont suivies par les médecins français, celles de l'OARSI regroupent la gonarthrose et la coxarthrose (arthrose de la hanche), alors que l'EULAR a émis des recommandations séparées. L'OARSI a de plus regroupé des recommandations générales, des recommandations sur les différents traitements non pharmacologiques, pharmacologiques et chirurgicaux dans le même document. L'EULAR a également publié des recommandations pour la prise en charge non pharmacologique de l'arthrose en 2013 (Fernandes et al., 2013).

5.2 Traitements non pharmacologiques

Toutes les recommandations sont unanimes sur la nécessité de prendre en charge tous les patients souffrant d'arthrose de façon non pharmacologique. Cette prise en charge repose sur :

- <u>l'éducation et l'information du patient</u> : le patient doit être sensibilisé aux objectifs du traitement et à l'importance d'adapter son mode vie, d'exercer une activité physique régulière, de contrôler son poids et de décharger ses articulations. Le but est d'encourager l'adhésion active du patient à la prise en charge de sa pathologie par des moyens non pharmacologiques, afin de permettre une diminution de la

consommation de soins et d'arrêts de travail, et d'améliorer la qualité de vie des patients.

- la perte de poids : on sait que l'obésité est un facteur défavorable au développement de l'arthrose, par l'augmentation du stress mécanique imposé aux articulations, mais aussi par l'action des adipokines secrétées par le tissu adipeux qui stimulent la dégradation du cartilage. On estime que le risque de gonarthrose est 4 fois plus important chez les femmes obèses et 5 fois plus important chez les hommes obèses que chez les personnes de même sexe de poids normal. Une étude a été réalisée en 2004 avec 300 patients arthrosiques âgés de plus de 60 ans et présentant un IMC supérieur à 28, l'étude « The Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial » (ADAPT). Cette étude avait pour but d'évaluer l'effet du suivi d'un régime alimentaire et d'exercices physiques sur les fonctions physiques et la douleur liées à l'arthrose. Elle a montré qu'une perte de poids de 5% correspondait à une amélioration des fonctions physiques de 24%, et une diminution de la douleur de 30% (Messier et al., 2004).

- l'utilisation d'aides techniques : bien que leur utilité n'ait pas été démontrée, il existe un consensus pour l'utilisation d'aides à la marche, tels que cannes ou béquilles du côté controlatéral à l'articulation lésée (côté sain), ou de déambulateur pour les atteintes bilatérales. L'utilisation d'orthèses (genouillères) et de semelles est recommandée pour réduire les douleurs et améliorer la marche.

- la pratique sportive : il est actuellement admis que la pratique d'une activité sportive modérée et régulière améliore à la fois la douleur et la fonction chez le patient arthrosique. Deux types d'exercices sont conseillés : des exercices dits « aérobie », et des exercices de type renforcement musculaire. Les exercices aérobie, typiquement une marche d'une heure (10 minutes d'échauffement + 40 minutes de marche + 10 minutes d'étirement) 3 fois par semaine, permettent d'entretenir la mobilité des articulations et combattre les raideurs. La marche peut être remplacée par le cyclisme ou la natation. Les exercices de renforcement musculaire, sur le même format d'une heure, ont pour but d'améliorer la force des muscles entourant l'articulation douloureuse, notamment les muscles quadriceps. Il n'existe actuellement pas d'argument sur la pratique de l'un ou l'autre des types d'exercice (Roddy et al., 2005).

- la kinésithérapie : la rééducation est recommandée, car elle peut permettre de diminuer les douleurs, grâce à des massages ou à l'application de chaleur sur l'articulation. Elle permet aussi de récupérer une certaine mobilité, en augmentant la souplesse, et de renforcer les muscles à proximité de l'articulation.

5.3 Traitements pharmacologiques

L'objectif essentiel des traitements existants est de soulager la douleur. Ceux-ci sont à adapter au patient, à ses comorbidités et comédications. Les différentes spécialités correspondant à chaque classe thérapeutique sont listées en annexe 6.

5.3.1 Traitements symptomatiques *per os*

5.3.1.1 Traitements d'action rapide : les antalgiques et AINS

Trois classes thérapeutiques sont actuellement utilisées pour leurs propriétés antalgiques d'action rapide : le paracétamol (ou acétaminophène), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les opioïdes.

Le paracétamol : C'est le traitement de première intention des douleurs faibles à modérées associées à la pathologie arthrosique. La posologie maximale du paracétamol est de 4 g/jour chez l'adulte, et sa tolérance est excellente, notamment au niveau digestif. Les effets indésirables sont rares, mais il est hépatotoxique à doses supra-thérapeutiques.

Les AINS : Ils sont utilisés en seconde intention si la réponse au paracétamol est inadéquate. Deux classes d'AINS sont prescrites dans l'arthrose : les AINS non spécifiques (agissant sur COX-1 et COX-2) et les AINS spécifiques de COX-2 (coxib). Pour rappel, les deux isoformes de la COX permettent la synthèse de prostaglandines ayant des propriétés différentes :

- la COX-1 permet la synthèse de prostaglandines participant à la protection de la muqueuse gastro-duodénale et à l'agrégation plaquettaire (voie de synthèse des thromboxanes)
- la COX-2 permet la synthèse de prostaglandines participant à la réaction inflammatoire

L'inhibition préférentielle de l'une de ces isoformes conduit à un profil d'effets indésirables différent. L'inhibition de la COX-1 conduit à des EI digestifs, alors que l'inhibition spécifique de la COX-2 cause des EI cardio-vasculaires. Le choix de l'AINS utilisé devra donc prendre en compte les différents facteurs de risque, contre-indications et interactions médicamenteuses. En l'absence de risque gastro-intestinal (perforation, ulcère, saignement), les AINS traditionnels sont recommandés ; en cas de non réponse ou d'intolérance, un autre AINS traditionnel doit être envisagé, ou un coxib. En présence d'un risque, les coxibs sont à privilégier. Les AINS doivent être associés à un gastro-protecteur en cas d'antécédents de lésion gastro-intestinale (inhibiteur de la pompe à protons, analogue de la prostaglandine E1 (misoprostol)).

Les opioïdes : En cas d'efficacité insuffisante du traitement lors de poussées douloureuses, l'utilisation d'antalgiques de palier 2 peut être envisagée. Leur usage doit être limité, car les effets indésirables sont fréquents (étourdissements, nausées, constipation, céphalées, somnolence,…) et il existe un risque de dépendance.

5.3.1.2 Traitements d'action lente : les AASALs

Les médicaments anti-arthrosiques symptomatiques d'action lente (AASALs) sont rassemblés en quatre molécules principales : la chondroïtine sulfate, la glucosamine, la diacérhéine et les insaponifiables d'huiles d'avocat et de soja. Ces molécules auraient un effet symptomatique et structuromodulateur. Elles ont toutes un effet différé, il est donc nécessaire de respecter une prise continue de plusieurs semaines avant d'observer un effet du traitement. Les AASALs ont une autorisation de mise sur le marché (AMM) uniquement dans le traitement symptomatique à effet différé de l'arthrose de la hanche et du genou, sauf la glucosamine qui n'a une indication que dans l'arthrose légère à modérée du genou. Dans certains pays, ces molécules sont commercialisées à titre de compléments alimentaires.

La Haute Autorité de Santé (HAS) a récemment réévalué la place des AASALs dans la prise en charge de l'arthrose. Elle estime que les effets sur la douleur et la gêne fonctionnelle liés à l'arthrose sont minimes et de pertinence discutable, et qu'ils ne permettent pas de réduire la consommation d'AINS. Compte tenu des données scientifiques disponibles, l'HAS estime que le service médical rendu (SMR) par ces médicaments est insuffisant et que les AASALs n'ont pas de place dans la stratégie thérapeutique de l'arthrose de la hanche et/ou du genou. Un arrêté ministériel du 31

mai 2013 prévoyait le déremboursement de la Piasclédine® et du Chondrosulf® à compter du 15 juillet 2013, cependant, par décision du 11 juillet 2013 et du 25 juillet 2013, le Conseil d'Etat a ordonné la suspension de cet arrêté, annulant donc le déremboursement de ces deux spécialités. Bien que les autorités françaises ne recommandent pas le recours aux AASALs et en raison de la bonne sécurité de ces molécules, les recommandations européennes et internationales (EULAR et OARSI) incluent ces molécules dans la prise en charge de l'arthrose.

L'efficacité clinique de ce type de traitement a jusque-là été difficile à démontrer, et ce pour plusieurs raisons. L'une d'elles est que l'arthrose est une pathologie à évolution lente, et nécessite donc un suivi à très long terme pour déceler un effet bénéfique d'un traitement. Une autre est l'utilisation de méthodes d'évaluation différentes entre les études cliniques. Bien que la comparaison des études soit relativement aisée pour l'évaluation de la douleur et de la gêne fonctionnelle par des méthodes validées (EVA, indice algofonctionnel de Lequesne), les techniques d'imagerie sont plus hétérogènes et permettent plus difficilement d'apprécier des modifications structurelles dues aux traitements. De plus, il existe un effet placebo important dans les études cliniques concernant l'arthrose (Zhang et al., 2008). Il est important de noter que l'origine et la composition des différents composés peut avoir un effet sur l'absorption et donc sur l'effet thérapeutique de chaque molécule, d'où la difficulté supplémentaire pour comparer les essais cliniques réalisés.

Même s'il est plutôt bien admis un effet bénéfique des AASALs, bien que modeste, notamment sur la douleur et une diminution du recours aux AINS, des études cliniques rigoureuses sont nécessaires pour définir l'effet de ces molécules.

<u>La chondroïtine sulfate : Chondrosulf® et Structum® :</u>

La chondroïtine sulfate est un constituant essentiel du cartilage. C'est un mucopolysaccharide qui possède une action inhibitrice de la dégradation du cartilage et un effet stimulateur de la synthèse de PG dans le cartilage. C'est un GAG dont l'unité de base de la CS est un disaccharide composé d'acide D-glucuronique lié en β1-3 à un N-acétyl-D-galactosamine. Les unités disaccharidiques sont liées entre elles par des liaisons β1-4. Elle est produite à partir de cartilage de trachée bovine

(Chondrosulf®) ou aviaire (Structum®). Elle est utilisée à une posologie de 1000 à 1200 mg/jour, et entraine des effets indésirables surtout digestifs (nausées, gastralgies, douleurs abdominales, diarrhées) et allergiques (éruptions cutanées).

De nombreuses études cliniques ont été réalisées pour démontrer l'efficacité de la CS dans le traitement de l'arthrose, dont notamment l'étude GAIT (Glucosamine/chondroitin Arthritis Intervention Trial) publiée en 2006 (Clegg et al., 2006), qui compare l'effet de la chondroïtine sulfate, la glucosamine, l'association de ces deux molécules, et le célécoxib. Cette étude multi-centrique, randomisée, en double aveugle, contre placebo, sur une durée initiale de 24 semaines (6 mois), n'a pas démontré d'effet bénéfique d'aucun des traitements sur la douleur liée à l'arthrose. Cependant, les résultats de cette étude restent controversés, car le traitement par AINS « de référence », n'a pas non plus démontré de résultat bénéfique chez les patients par rapport au placebo, et que le taux de réponse au traitement placebo était étonnamment élevé (60%). Cette étude a ensuite été prolongée sur 24 mois (Sawitzke et al., 2010), et bien qu'elle n'est pas permis de révéler un effet significativement bénéfique de chaque traitement, suggère un effet du célécoxib et de la glucosamine sur la douleur et la gêne fonctionnelle.

<u>La glucosamine : Dolenio®, Flexea®, Osaflexan®, Structoflex® et Voltaflex® :</u>

La glucosamine est elle-aussi un des constituants essentiel du cartilage articulaire. C'est un sucre entrant dans la composition des GAG de la MEC du cartilage, ainsi que du liquide synovial. Elle stimulerait la synthèse des PG par les chondrocytes et de l'acide hyaluronique par les synoviocytes. Différentes spécialités sont actuellement sur le marché, sous forme de sulfate de glucosamine (Dolenio® et Osaflexan®) ou de chlorhydrate de glucosamine (Flexea®, Structoflex® et Voltaflex®) avec une posologie de 1250 mg/jour. La substance active est obtenue à partir de carapaces de crustacés (par hydrolyse de la chitine). Les effets indésirables liés au traitement sont généralement légers et transitoires, avec, le plus fréquemment, céphalées, fatigue, nausées, douleurs abdominales, dyspepsie, diarrhée et constipation, ainsi que des éruptions cutanées, prurits et bouffées vasomotrices.

Parallèlement à l'étude GAIT, une étude a été réalisée en Europe pour évaluer l'effet de la glucosamine sur la douleur et la mobilité chez des patients arthrosiques

(Herrero-Beaumont & Ivorra, 2007). Cette étude, multi-centrique, randomisée, en double aveugle, contre placebo, et appelée GUIDE pour Glucosamine Unum-In-Die (une fois par jour) Efficacy, montre un effet bénéfique de la glucosamine et du paracétamol, avec un effet supérieur de la glucosamine. Cependant, cette étude a été beaucoup controversée car, contrairement à l'essai clinique GAIT, l'étude GUIDE a été sponsorisée par le fabricant de la glucosamine utilisée dans l'étude.

La diacérhéine : Art® et Zondar® :

La diacérhéine est une substance proche des laxatifs anthraquinoniques, qui aurait une activité anti-inflammatoire modérée (inférieure à celle du naproxène ou de l'indométacine) différée de 1 à 2 mois mais avec effet rémanent à l'arrêt de quelques semaines, ce qui permettrait de réduire la consommation d'AINS et/ou d'antalgiques au long cours chez les patients arthrosiques. Les spécialités existantes (Art® et Zondar®) sont prescrites à une posologie de 100 mg/jour au cours des repas, et peuvent entrainer différents symptômes digestifs (diarrhées, douleurs, syndromes allergiques,...). Elles sont contre-indiquées en cas d'hypersensibilité, de colopathie inflammatoire (Crohn, rectocolite hémorragique), de diarrhées ou syndromes occlusifs, de douleurs abdominales ou d'insuffisance hépatique, ainsi que chez l'enfant de moins de 15 ans. Elle agirait en diminuant la production de facteurs pro-inflammatoires, notamment l'IL-1β (Moldovan et al., 2000).

Les insaponifiables d'huile d'avocat et de soja : Piasclédine® :

La Piasclédine® est composée de 100 mg d'extrait d'avocat et 200 mg d'extrait de soja. Sa posologie est d'une gélule par jour au milieu du repas. Tout comme les autres AASALs, son effet est lent à apparaître, généralement au bout de 1 à 2 mois. Les effets indésirables sont rares, et comprennent des cas d'allergies, de rares régurgitations à odeur de graisse, diarrhées et gastralgies, et exceptionnellement d'atteinte hépatique. Ils auraient un effet anti-inflammatoire, via l'inhibition de la sécrétion d'IL-1β, de TNF-α, ainsi que de NO et de PGE_2 (Au et al., 2007) . Tout comme la diacérhéine, elle aurait un effet épargneur en AINS.

5.3.2 Traitements symptomatiques par voie intra-articulaire

En cas de poussées douloureuses ou d'épanchement liquidien, une injection intra-articulaire de corticoïdes ou d'AH peut être pratiquée. Cette injection est réalisée à travers la capsule articulaire, au sein du liquide synovial. Elle permet la libération du principe actif directement au sein de la zone douloureuse, en concentration importante, tout en évitant les effets indésirables liés à l'administration *per os*. Néanmoins, même si le risque d'effets secondaires est faible, le risque infectieux n'est pas à négliger. Ces injections peuvent être précédées d'un lavage articulaire (injection puis réaspiration de sérum physiologique dans l'articulation) dans le cas d'inflammation ou d'épanchement important. Ces infiltrations sont contre-indiquées en cas d'infection, d'allergie ou de trouble de la coagulation.

Tout comme pour les AASALs, l'efficacité des traitements par voie intra-articulaire est controversée, de par la multiplicité des spécialités sur le marché et l'absence de standardisation des études cliniques. En effet, on retrouve dans la littérature à la fois des études montrant un effet bénéfique des injections intra-articulaires de corticoïdes ou d'AH, mais aussi des études ne montrant pas d'effet supérieur au placebo (Ayhan et al., 2014; Hameed & Ihm, 2012).

5.3.2.1 Traitements d'action rapide : les infiltrations de corticoïdes

En cas de poussée douloureuse, l'utilisation des corticoïdes par voie injectable peut être bénéfique. Ce sont des anti-inflammatoires stéroïdiens dérivés du cortisol. Il existe 3 familles de corticoïdes utilisées en infiltration, rassemblées en annexe 6, les suspensions microcristallines, les suspensions aqueuses et les solutés hydrosolubles, qui diffèrent par leur durée d'action et leur diffusion systémique. Les suspensions ont une action prolongée (de quelques semaines) et une diffusion systémique moindre, mais avec un effet atrophiant local (notamment avec la triamcinolone), alors que les solutés hydrosolubles, moins utilisés, ont une action brève avec diffusion systémique rapide. Ces infiltrations peuvent être réalisées au cabinet, en condition d'asepsie habituelle. En cas d'épanchement, une ponction du liquide synovial doit être réalisée avant injection.

Les effets secondaires sont rares, mais il peut se produire des douleurs au site d'injection, des malaises vagaux, des réactions de « flush » (rougeur du visage avec sensation de chaleur et parfois de maux de tête) et une augmentation de la glycémie.

Ces injections peuvent être réalisées au maximum 3 fois par an, non pas pour éviter une toxicité du produit, mais car on considère que le traitement est inefficace si l'on n'observe pas d'amélioration après 3 injections.

5.3.2.2 Traitements d'action lente : la viscosupplémentation

L'injection intra-articulaire d'acide hyaluronique, ou viscosupplémentation, a pour but de remplacer et stimuler la production de l'AH dégradé lors du processus arthrosique, ceci entrainant une réduction des propriétés de lubrification et de protection du cartilage articulaire. L'AH aurait de plus un effet anti-inflammatoire et anti-nociceptif. Pour rappel, c'est un polysaccharide appartenant à la famille des GAG, et il en existe 2 types, les AH de haut poids moléculaire (supérieur à 6 millions de Dalton) et les AH de bas poids moléculaire (de 0,5 à 2,5 millions de Dalton), qui diffèrent en terme de pharmacocinétique et pharmacodynamie. Il existe actuellement de nombreuses spécialités à base d'acide hyaluronique (13 spécialités, rassemblées en annexe 6). Ils sont produits par extraction des crêtes de coq, ou par fermentation bactérienne. Les injections sont classiquement réalisées 1 fois par semaine pendant 3 semaines maximum (2 à 3 ml/injection). L'efficacité de ce traitement serait équivalente à celle des glucocorticoïdes, mais avec une durée d'action plus longue. En effet, l'effet antalgique de l'AH est retardé (effet maximal 3 à 5 semaines après la première injection) et parfois prolongé pendant 3, 6, voire 12 mois après l'arrêt. L'efficacité de la viscosupplémentation est moins bonne en présence d'épanchement ou dans les formes très avancées.

Depuis novembre 2000, ces produits ne possèdent plus le statut de médicament, mais de dispositifs médicaux. La Commission Nationale d'Evaluation des Dispositifs Médicaux et de Technologie de Santé (CNEDIMTS) a rendu un avis le 19 novembre 2013, confirmant un premier avis rendu le 25 juin 2013, qui recommandait le déremboursement de l'AH pour injection intra-articulaire dans le traitement de la gonarthrose pour SMR insuffisant. Suite à cet avis, la Société Française de Rhumatologie (SFR), via sa section arthrose, a exprimé son inquiétude quant au report de prescriptions vers les AINS, les antalgiques de pallier II et III, les injections intra-articulaires de corticoïdes et les prothèses, qui posent plus de problèmes de iatrogénie et entrainent des coûts supérieurs. Cependant, cet avis de la CNEDIMTS va être réévalué à cause d'un conflit d'intérêt lors de la première évaluation.

5.3.3 Traitements symptomatiques par voie percutanée

Les AINS topiques (crèmes, pommades, patchs) permettent d'avoir le même effet anti-inflammatoire que les AINS administrés *per os*, tout en évitant les effets secondaires, digestifs notamment. L'effet bénéfique des AINS topiques semble bien établi, des méta-analyses récentes ayant validé leur efficacité clinique. De plus, ils bénéficient d'un profil de toxicité excellent, avec des manifestations digestives de manière générale qu'en association avec des AINS oraux, et des réactions cutanées (érythème, prurit, et photosensibilisation due au kétoprofène).

5.4 Traitements chirurgicaux

Lorsque les thérapeutiques précédentes sont insuffisantes, ou que l'arthrose est à un stade avancé (à la radiologie notamment), la chirurgie peut être envisagée. Ces opérations visent à réaligner l'articulation (dans le cas d'un genu valgum ou varum par exemple), ou à remplacer une surface articulaire qui est mise à nu. En pratique, 3 actes chirurgicaux sont actuellement réalisés : l'arthroscopie, l'ostéotomie et l'arthroplastie.

5.4.1 L'arthroscopie

L'arthroscopie du genou est une technique mini-invasive permettant de réaliser différentes opérations au niveau de l'articulation sans avoir à l'ouvrir, grâce à l'introduction d'un arthroscope, qui est une fibre optique rigide reliée à une caméra permettant de visualiser l'intérieur de la capsule articulaire sur un moniteur, et d'instruments fins (figure 19). Cette opération est réalisée au bloc opératoire, sous anesthésie générale ou locale. Pendant toute l'opération, le genou est gonflé par du liquide physiologique. Elle peut avoir un objectif diagnostic, mais aussi un objectif thérapeutique.

Même si elle est peu utilisée dans cette indication, l'arthroscopie de diagnostic peut permettre de distinguer d'éventuelles lésions des ménisques, du cartilage articulaire, de la membrane synoviale ou des ligaments croisés, lorsque les moyens conventionnels ne fournissent pas de renseignements suffisants. Elle peut aussi permettre de réaliser des prélèvements intra-articulaires, notamment des biopsies de la membrane synoviale.

Elle sert aussi, plus souvent, à réaliser des interventions chirurgicales sur les différents tissus de l'articulation :

- le cartilage articulaire : régularisation de la surface lorsque celui-ci est irrégulier ou fissuré (figure 19)
- les ménisques : réparation, ablation partielle ou totale
- la membrane synoviale : excision d'adhérences ou de replis, ablation
- les ligaments : reconstruction

L'arthroscopie peut aussi permettre de réaliser un lavage articulaire, par irrigation de l'articulation avec du sérum physiologique, pour éliminer des fragments cartilagineux (ou osseux) libres dans l'articulation, des dépôts de fibrine, des micro-calcifications ou des enzymes protéolytiques.

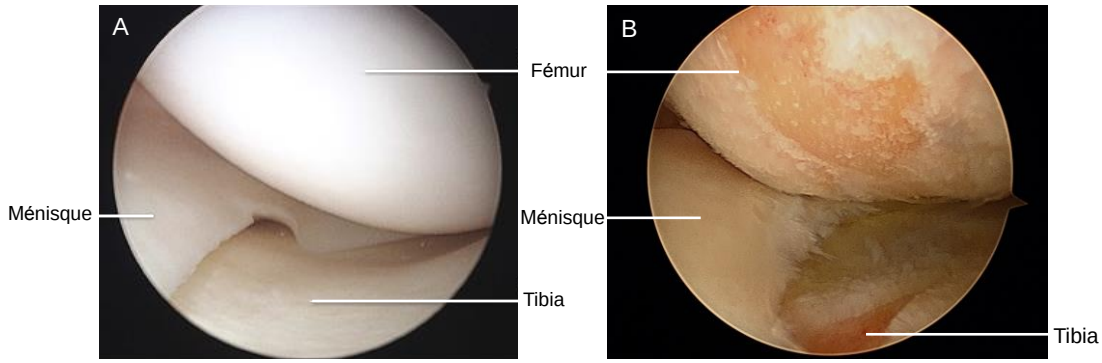


Figure 19 : Images obtenues par arthroscopie d'un genou sain (A) et d'un genou à un stade avancé d'arthrose (B). On peut observer la surface des fémur et tibia, ainsi que les ménisques ; lors de l'arthrose, on observe une érosion de la surface articulaire, ainsi que des ménisques (Sources : orthopedie-paris-sud.info ; arthrosport.com)

5.4.2 L'ostéotomie tibiale

L'ostéotomie tibiale est envisagée lors d'un désaxage important de l'articulation (genu valgum ou genu varum), lorsqu'il reste des zones en bon état dans l'articulation. Le but est de mieux répartir les contraintes appliquées sur l'articulation, en redressant le tibia, ou plus rarement le fémur. La technique consiste à sectionner l'os pour le redresser. Deux techniques peuvent être utilisées, soit enlever un morceau de l'os (ostéotomie de fermeture), soit rajouter un morceau d'os, prélevé sur le bassin ou artificiel (métal, ciment, substitut osseux) (ostéotomie d'ouverture). La fixation est ensuite assurée par un matériel d'ostéosynthèse (plaque, agrafe,...) (figure 20), et il est nécessaire d'attendre la consolidation de l'os, par formation d'un cal osseux.

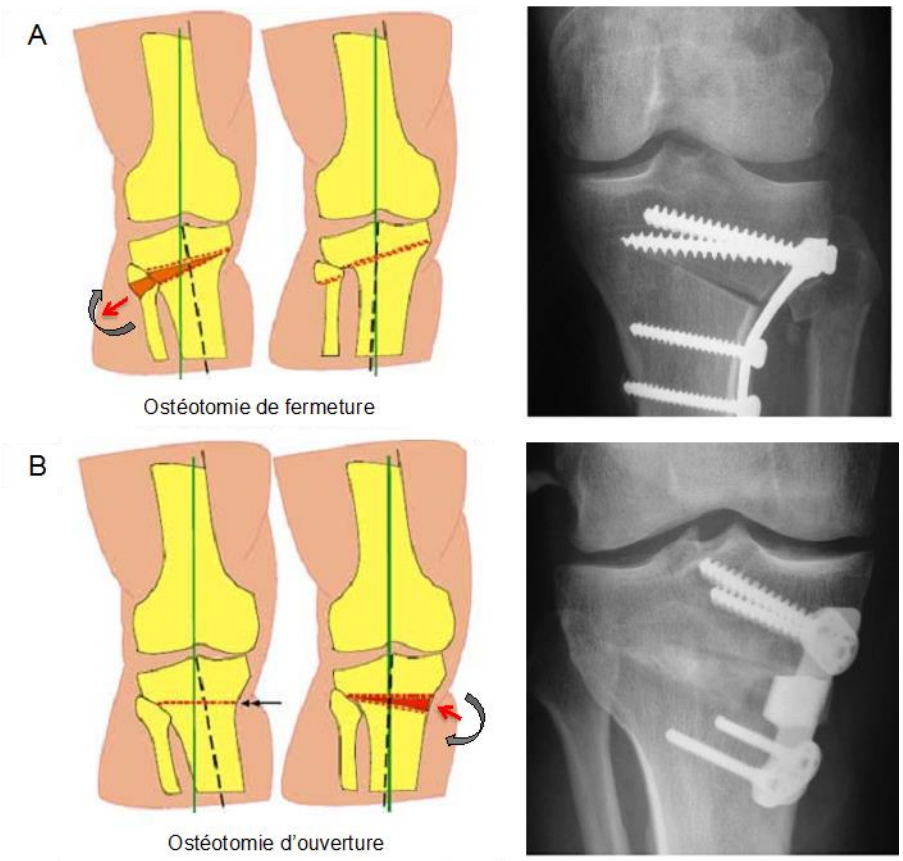


Figure 20 : Principe de l'ostéotomie tibiale, en représentation schématique et en vue radiographique. Elle peut être de fermeture, où l'on enlève une partie de l'os (A), ou d'ouverture, où l'on rajoute un morceau osseux (B) (Source : aix-ortho.fr)

Cette opération présente l'intérêt majeur d'être une intervention conservatrice, car ne touche pas les surfaces articulaires, et permet de ralentir voire éviter le recours à la pose de prothèse. Elle donne de très bons résultats sur une dizaine d'années, et est plutôt réservée au patient jeune et actif. Elle s'adresse aux cas d'arthrose unicompartimentale ; pour les lésions étendues à plusieurs compartiments de l'articulation, la prothèse est l'indication de choix.

5.4.3 L'arthroplastie

Il existe 2 types de prothèses articulaires de genou : les prothèses totales de genou (PTG), les plus répandues, et les prothèses partielles ou unicompartementales (PUC). L'arthroplastie est réalisée en dernier recours, lorsque l'articulation est trop abimée et qu'il est donc nécessaire d'enlever le cartilage usé. Celui-ci est alors remplacé par des implants artificiels sur le fémur et sur le tibia, dont la forme est similaire à celle de l'articulation, afin que les surfaces glissent pour faciliter le

mouvement. Le but de cette chirurgie est de diminuer les douleurs, restaurer la mobilité et faire disparaître une éventuelle boiterie. Le choix de l'une ou de l'autre technique se fera selon la déformation de l'articulation, la localisation des lésions et la qualité des ligaments qui retiennent l'articulation.

La PTG, sera préconisée lorsque l'atteinte est pluricompartimentale, et remplacera les surfaces du tibia, du fémur et, de façon non systématique, de la rotule. La PTG est constituée d'une prothèse fémorale complète métallique, une prothèse tibiale métallique surmontée d'un plateau en polyéthylène, et éventuellement d'une prothèse de la rotule en polyéthylène, si celle-ci présente des signes d'usure (Figure 21).

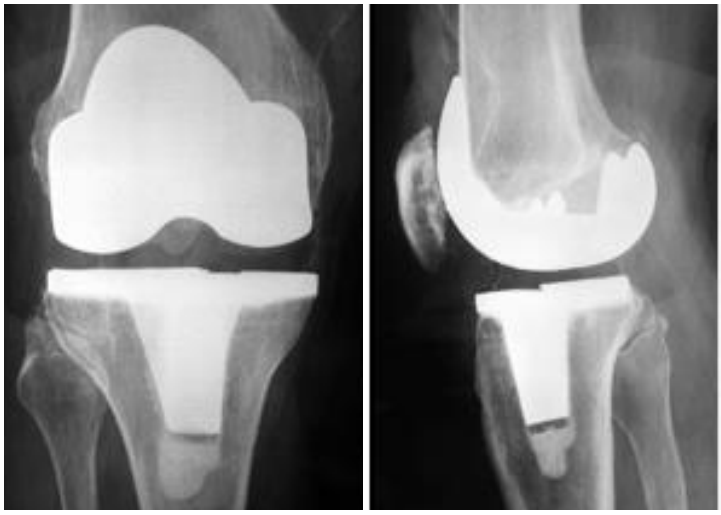


Figure 21 : Radiographies de face et de profil d'un genou après pose de prothèse totale de genou (PTG) (Source : orthopedie-paris-sud.info)

Les résultats des interventions d'arthroplastie sont en général très bons ; des exercices de rééducation sont cependant indispensables pour récupérer une bonne mobilité articulaire. Les activités physiques de type modérées (marche, danse, vélo) sont possibles, mais les pratiques entrainant des chocs répétés et violents sont à proscrire. La durée de vie moyenne d'une PTG varie de 15 à 20 ans en raison de l'usure des implants au cours du temps qui peut entrainer un décèlement de la prothèse, nécessitant un ré-intervention, ou du risque accru d'infection. Un suivi régulier par le chirurgien tous les 2 à 3 ans est donc une étape indispensable.

5.5 Nouvelles approches thérapeutiques

Cette seconde partie démontre bien qu'à l'heure actuelle, aucun des traitements proposés au patient arthrosique ne permet de soigner sa maladie. La chirurgie semble l'alternative qui permet de ralentir le développement de la maladie sur le plus long terme, mais implique une opération qui peut être lourde et ne permet pas de récupérer toute la mobilité articulaire. Elle représente de plus un coût sociétal important ; en effet, elle est envisagée une fois que l'articulation est fortement endommagée, ou quand la gêne fonctionnelle est trop importante, et après que les autres traitements pharmacologiques et non pharmacologiques aient montré leur inefficacité (574 millions d'euros par an pour les traitements médicamenteux versus 820 millions d'euros pour les arthroplasties, d'après l'étude COART), d'où les efforts pour développer des thérapeutiques dans les phases précoces de la maladie.

Plusieurs nouveaux axes thérapeutiques sont actuellement en développement pour tenter de soigner ou prévenir le développement de l'arthrose. Parmi eux, deux grandes catégories de thérapeutiques sont extensivement étudiées :

- **un axe de thérapie cellulaire** : étant donné la faible capacité de réparation du cartilage articulaire, une des approches développée il y a quelques dizaines d'années a été d'apporter différents types cellulaires directement au site articulaire, afin de réparer des défauts focaux du cartilage et ralentir la progression de l'arthrose.

La première technique développée par Brittberg en 1994 (Brittberg et al., 1994) utilise l'implantation de chondrocytes autologues. Celle-ci consiste à prélever un morceau de cartilage au niveau de l'articulation fémoro-patellaire, en extraire les chondrocytes, les mettre en culture, puis les ré-implanter dans la zone endommagée, associés à un biomatériau. Cette méthode a été largement adoptée en clinique, et est pour le moment la seule à avoir démontré un effet bénéfique dans les études cliniques. Cependant, elle a plusieurs inconvénients : les chondrocytes mis en culture ont une forte tendance à la dédifférenciation en fibroblastes, et, compte tenu de la petite taille de la biopsie de cartilage et de la faible capacité de prolifération des chondrocytes, ne permet que de traiter des défauts de faible taille.

Pour tenter de résoudre ces problèmes, l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses (CSM) a été envisagée. Elles peuvent être isolées à partir d'une

multitude de tissus, tels que la moelle osseuse, le tissu adipeux, le placenta, le cordon ombilical, ou encore la membrane et le liquide synovial (Oldershaw, 2012). Contrairement aux chondrocytes articulaires, les CSM prolifèrent facilement, et il a été démontré que ces cellules non différenciées avaient notamment la capacité de se différencier en chondrocytes *in vitro* sous l'action de facteurs appropriés (TGF-β, dexaméthasone, insuline, acide ascorbique). Il est de plus maintenant bien connu que les CSM exercent leurs propriétés régénératives via la sécrétion de facteurs immuno-modulateurs, pro-angiogénique, anti-apoptotique, anti-fibrotique et anti-inflammatoire (Djouad et al., 2009). Des études ont d'ores et déjà montré que l'injection intra-articulaire de CSM permet de prévenir la dégénérescence arthrosique et de réduire l'inflammation dans différents modèles animaux d'arthrose (Murphy et al., 2003; ter Huurne et al., 2012), et des études sont actuellement en cours pour confirmer ces résultats chez l'homme.

- **un axe de prévention de l'arthrose** : par l'utilisation de molécules naturelles, ou « nutricaments », qui combine les mots nutrition et médicament, et qui ont un potentiel anti-inflammatoire voire chondroprotecteur sur les tissus articulaires. Un des arguments en faveur de l'utilisation de ces molécules est le fait que les traitements médicamenteux actuels sont source d'effets secondaires pouvant nécessiter l'arrêt du traitement, tels que les effets indésirables gastro-intestinaux et cardiovasculaires des AINS. Certains composés, tels que la chondroïtine sulfate ou les insaponifiables de soja et d'avocat, qui dérivent de produits naturels, sont actuellement considérés comme des médicaments, représentent moins de dangers à long terme, et permettent de garantir des effets à plus long terme. Plusieurs molécules ont d'ores et déjà démontré un potentiel anti-inflammatoire, anti-oxydant et inhibiteur de la dégradation du cartilage in vitro, comme le resveratrol, la curcumine ou l'épigallocatéchine gallate, mais les études cliniques n'ont pas encore réussi à démontrer un effet bénéfique de ces traitements (Ameye & Chee, 2006; Henrotin et al., 2010).

PARTIE 3 : METHODES D'ÉVALUATION DE L'ARTHROSE UTILISÉES EN PRÉCLINIQUE DANS LE DÉVELOPPEMENT DE NOUVEAUX MEDICAMENTS

1. La recherche préclinique

Le processus de développement d'un nouveau médicament est long et couteux. Il passe par 5 étapes avant sa mise sur le marché, du screening d'un candidat potentiel à sa commercialisation, en passant par des études précliniques et cliniques. On estime que sur 10 000 molécules ciblées, 100 sont testées en préclinique, 10 font l'objet d'un dépôt de brevet pour qu'une seule molécule arrive sur le marché du médicament (figure 22). Actuellement, ce processus de mise au point d'un nouveau médicament représente un investissement d'environ 1 milliard d'euros (source : Les Entreprises du Médicament (LEEM)).

1.1 Les étapes de vie d'un médicament

Le développement d'un nouveau médicament débute par une phase de **recherche exploratoire**. Celle-ci débute par un screening des molécules capables d'agir avec une cible particulière à l'origine d'une pathologie. Cette étape va permettre de déterminer les composés qui sont les plus sélectifs de la cible, les « hits ». Puis une étape d'optimisation de ces molécules va permettre de les rendre administrables *in vivo*. Les composés finaux sont appelés des « leads », et ce sont eux qui seront ensuite testés chez l'animal puis chez l'homme. Les molécules qui auront été identifiées lors de ce processus peuvent être protégées par un brevet, qui permet de protéger l'innovation pour une période de 20 ans. Le brevet peut être prolongé pour au maximum 5 ans de plus par un certificat complémentaire de protection (CCP).

Ces composés passent ensuite par une étape de **tests précliniques**, qui consistent à évaluer l'effet des molécules brevetées dans des systèmes vivants non humains (*in vitro* et/ou *in vivo*), et sont obligatoires avant tout passage chez l'homme. Le but est de garantir la sécurité de ces potentiels futurs médicaments. Ces études font partie des dossiers de demande d'AMM, et comprennent le données de pharmacologie, toxicologie et pharmacocinétique. Les études de pharmacologie

décrivent le mécanisme d'action et l'activité de la molécule ; les études de toxicologie les doses toxiques et les organes cibles ; et les études de pharmacocinétique le devenir de la molécule dans l'organisme (absorption, distribution, métabolisme, élimination). Ces études vont permettre de déterminer la dose à administrer et les effets secondaires probables à suivre lors des études cliniques chez l'homme.

D'un point de vue réglementaire, l'expérimentation animale est encadrée par la directive européenne 2010/63/UE, qui impose une évaluation de chaque projet par un comité d'éthique et une autorisation pour 5 ans maximum du Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche (MESR), ainsi qu'une structure chargée du bien-être animal au sein de chaque établissement de recherche, chargée de faire respecter la règle des 3R (Réduire, Raffiner, Remplacer). Celle-ci a pour but de limiter l'utilisation d'animaux pour la recherche au strict minimum, en :

- Réduisant le nombre d'animaux
- Raffinant les méthodes utilisées
- Remplaçant l'animal par des modèles *in vitro*, si possible

S'ensuivent alors les **études cliniques** chez l'homme, sain d'abord puis malade. Elles sont autorisées par l'ANSM et sont divisées en 3 phases :

- les essais de phase I sont réalisés sur un nombre restreint de volontaires sains. Ils ont pour but d'évaluer la tolérance, l'innocuité et le devenir du médicament dans l'organisme
- les essais de phase II sont réalisés sur une petite population (quelques centaines) de patients atteints par la pathologie et permettent de déterminer la dose optimale
- les essais de phase III sont menés sur une large population de patients (plusieurs milliers) et permettent de comparer l'efficacité du traitement à la molécule de référence ou à un placebo

A l'issue des essais cliniques de phase III, le médicament doit bénéficier d'une **AMM** qui permet sa commercialisation. Elle est délivrée par les autorités compétentes européennes (Commission européenne, après avis de l'European Medicines Agency (EMA)) ou nationales (ANSM). La commission de transparence de l'HAS évalue alors le SMR et le comité économique des produits de santé (CEPS) fixe le prix de médicament. Après la mise sur le marché, les essais cliniques continuent avec des **essais dits de phase IV**, et auront lieu tout au long de sa commercialisation

(pharmacovigilance). Ils permettent notamment de détecter les effets indésirables rares et les interactions médicamenteuses (figure 22) (source : LEEM).

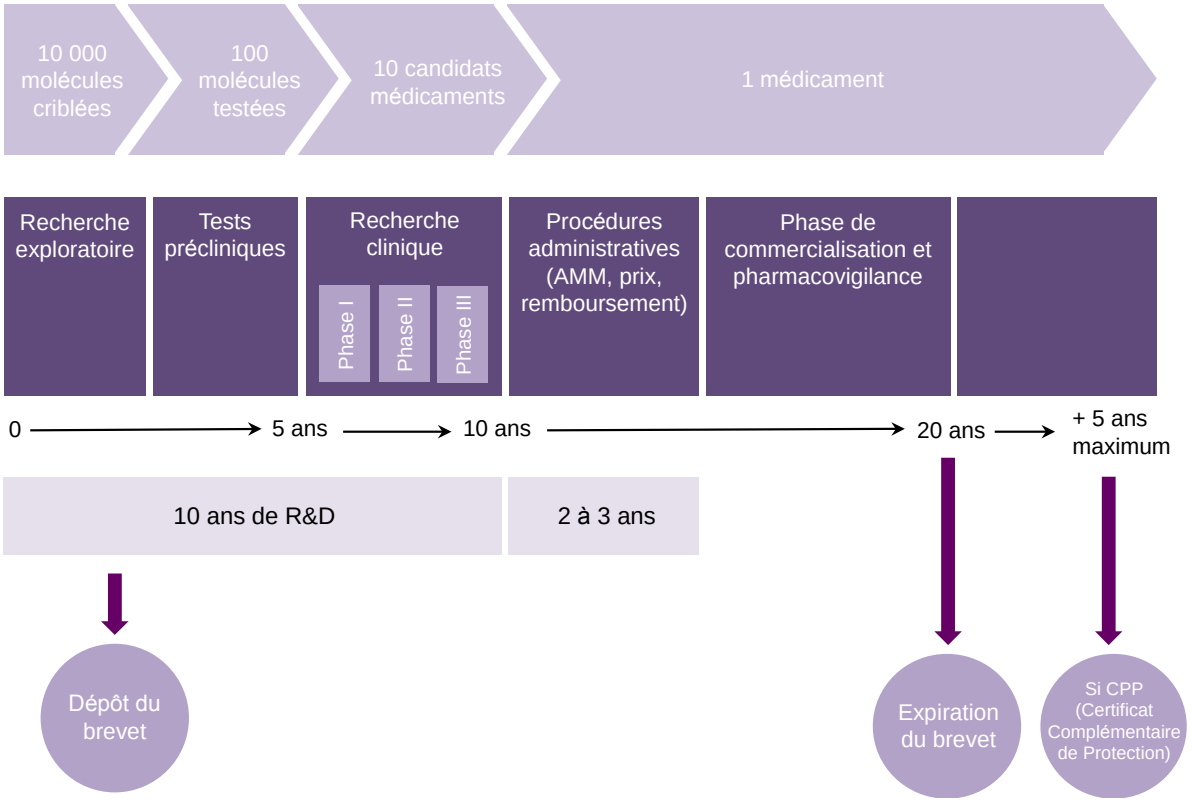


Figure 22 : Cycle de vie d'un médicament : il faut environ une dizaine d'année de recherche préclinique et clinique (étapes de recherche et développement (R&D)) pour l'arrivée sur le marché d'un nouveau médicament (Source : LEEM)

1.2 La recherche préclinique dans l'arthrose

Le manque de traitement réellement efficace de l'arthrose est à l'origine de nombreuses recherches depuis quelques dizaines d'années. Pour l'industrie pharmaceutique, 3 aspects critiques de la pathologie sont à prendre en compte dans la recherche d'un traitement de l'arthrose : ralentir, voire arrêter la progression de la maladie, prendre en charge la douleur et améliorer la fonction des patients. En recherche, le développement de nouvelles thérapeutiques passe tout d'abord par l'utilisation de modèles d'arthrose proches de la pathologie humaine, mais aussi par l'utilisation de méthodes de suivi de la maladie, et de l'effet d'une molécule, fiables et transposables à la clinique humaine.

2. Modèles animaux d'arthrose utilisés en préclinique

2.1 La recherche du modèle idéal d'arthrose

Bien que les connaissances de la physiopathologie de l'arthrose se soient largement étendues dans les dernières dizaines d'années, le déclenchement et la progression de la maladie chez l'homme restent peu connus. En effet, la mise en marche des processus de dégradation des tissus articulaires est lente, et leur progression est variable du fait de la variabilité génétique et des facteurs environnementaux qui influent sur la pathologie. L'étude des stades de pré-arthrose chez l'homme étant presque impossible, l'utilisation de modèles animaux mimant la pathologie reste la méthode de référence, à la fois pour comprendre les mécanismes impliqués dans l'arthrose, mais aussi dans le développement de nouveaux médicaments anti-arthrosiques. En effet, des études précliniques chez l'animal sont obligatoires avant toute étude clinique, afin de déterminer les voies d'administration, doses et éventuelles toxicités de ces molécules. Enfin, ces modèles permettent de plus de développer de nouvelles méthodes de détection et de suivi de la progression de la maladie, afin d'améliorer le diagnostic en clinique humaine.

De nombreuses revues listant les différents modèles animaux d'arthrose ont été publiées ces dix dernières années. Il en existe une multitude, et aucun consensus ne permet de désigner un modèle de référence pour les études précliniques. Le modèle d'arthrose idéal devrait posséder les caractéristiques suivantes (Little & Smith, 2008) :

- le développement de la maladie doit être **reproductible** entre individus et doit se produire sur une **durée permettant de réaliser des études à haut rendement** (habituellement entre 1 et 12 mois), tout en gardant en tête que le progression de la maladie est bien souvent plus rapide chez l'animal que chez l'homme
- la progression de l'arthrose doit pouvoir permettre d'étudier les **différentes phases de la maladie** (précoces et tardives) et les **effets du traitement** (prophylactique ou curatif). En effet, si la dégénérescence articulaire est trop importante et trop rapide, un bénéfice procuré par un traitement peut être manqué sur les phases de progression lente de la maladie chez l'homme

- les **mammifères** sont les espèces de choix pour ces études. L'espèce choisie doit être **facile à manipuler, peu couteuse** et **de taille suffisante** pour l'analyse des paramètres étudiés et l'observation de l'effet du traitement. A l'heure actuelle, de nombreux efforts sont réalisés afin de développer des méthodes d'investigation proches de la clinique humaine, notamment par le développement de techniques d'imagerie chez le petit animal (radiographie, IRM) ou par l'analyse de la gêne fonctionnelle (par analyse de la marche par exemple)
- la physiopathologie animale doit être **représentative** de la physiopathologie humaine, en incluant **tous les tissus de l'articulation** impliqués dans la maladie. C'est une des conditions les plus difficiles à obtenir, car on ne connaît pas encore l'implication des différents tissus articulaires dans l'arthrose, notamment dans les phases précoces de la maladie. De plus, on sait qu'il existe des différences dans la composition du cartilage d'une espèce à l'autre, il faut donc garder cette idée à l'esprit lorsque l'on transpose les résultats de l'animal à l'homme

A l'heure actuelle, aucun des modèles existants ne remplit toutes ces caractéristiques. Il est donc indispensable de bien identifier la question posée lors d'une étude afin de sélectionner le modèle le plus approprié pour cette étude.

2.2 Avantages et inconvénients des modèles animaux actuels

De nombreuses espèces peuvent être utilisées dans les études précliniques de l'arthrose, du petit animal comme la souris et le rat, au gros animal comme le chien et le cheval. Le tableau XII rassemble les différents avantages et inconvénients de chaque espèce comme modèle d'arthrose.

D'autres paramètres entrent en jeu dans le choix du modèle à utiliser, notamment l'âge, la taille, le sexe et le statut hormonal de l'animal. Il est recommandé d'utiliser des animaux ayant atteint leur maturité squelettique, afin de s'affranchir de tout phénomène de régénération spontanée. Les âges minimaux recommandés pour les études chez l'animal sont de 10 semaines pour la souris, 3 mois pour le rat, 6 mois pour le cochon d'inde, 8 à 9 mois pour le lapin, 9 à 18 mois chez le chien et 2 ans pour

la brebis/chèvre et le cheval (Aigner et al., 2010). On sait de plus que les hormones jouent un rôle dans le développement de l'arthrose, avec une incidence de la maladie plus importante chez les mâles que chez les femelles (Ma et al., 2007).

Habituellement et pour des raisons de coût, de facilité de manipulation et de disponibilité, les petits animaux sont utilisés en priorité pour les études préliminaires (souris, rat, cochon d'inde, lapin), puis l'éventuel effet est vérifié chez le gros animal (chien, brebis, chèvre, cheval) dont la physiologie est plus proche de l'homme, mais sont plus difficiles à utiliser pour des raisons éthiques, de cout, leurs conditions d'hébergement et la progression lente de la maladie.

Espèce	Avantages	Inconvénients
Souris	Peu couteux Hébergement et manipulation aisés Génome séquencé et manipulations génétiques possibles Développement rapide de la maladie Quantité de médicament nécessaire faible	Taille : épaisseur faible du cartilage, volume de liquide synovial restreint Différences de composition du cartilage (pas de MMP-1 par exemple) Méthodes d'investigation de l'arthrose peu développées Chirurgie peu aisée
Rat	Idem que la souris Modèles de douleur disponibles	Idem que la souris mais chirurgie plus facile et cartilage plus épais
Cochon d'inde	Hébergement et manipulation aisés Histopathologie proche de l'homme Arthrose spontanée avec l'âge	Génome pas entièrement séquencé Mode de vie sédentaire Non disponible dans tous les pays
Lapin	Hébergement et manipulation aisés Chirurgie aisée	Régénération spontanée du cartilage Histopathologie et biomécanique différentes de l'homme (démarche)
Chien	Taille : collection de liquide synovial et de tissus aisés Arthrose spontanée avec l'âge, génome séquencé (Beagle) Thérapie intra-articulaire appropriée Critères d'évaluation cliniques bien décrits (IRM et arthroscopie possibles)	Prix élevé Hébergement contraignant Attachement émotionnel et controverse éthique
Brebis/Chèvre	Taille : collection de liquide synovial et de tissus aisés Thérapie intra-articulaire appropriée Critères d'évaluation cliniques bien décrits (IRM et arthroscopie possibles)	Prix élevé Hébergement contraignant Génome pas entièrement séquencé Thérapie orale impossible (ruminant)
Cheval	Idem que le chien Epaisseur du cartilage proche de chez l'homme	Prix très élevé et quantité de médicament nécessaire importante Hébergement contraignant et matériel d'anesthésie et chirurgie spécialisé

Tableau XII : Avantages et inconvénients des principales espèces animales utilisées comme modèles d'arthrose dans les études précliniques (Little & Smith, 2008)

2.3 Les différents modèles d'arthrose

Il existe quatre catégories de méthodes « d'induction » de l'arthrose chez l'animal : des méthodes d'induction chirurgicale, par déstabilisation mécanique de l'articulation ; des modèles d'induction par injections intra-articulaires de différents produits chimiques ; des modèles qui développent la maladie spontanément avec l'âge ; et enfin des modèles génétiquement modifiés (figure 23). Les modèles d'induction ont l'avantage d'être relativement reproductibles, alors que les modèles spontanés ont une incidence variable et une progression de la maladie très variable (Little & Smith, 2008).

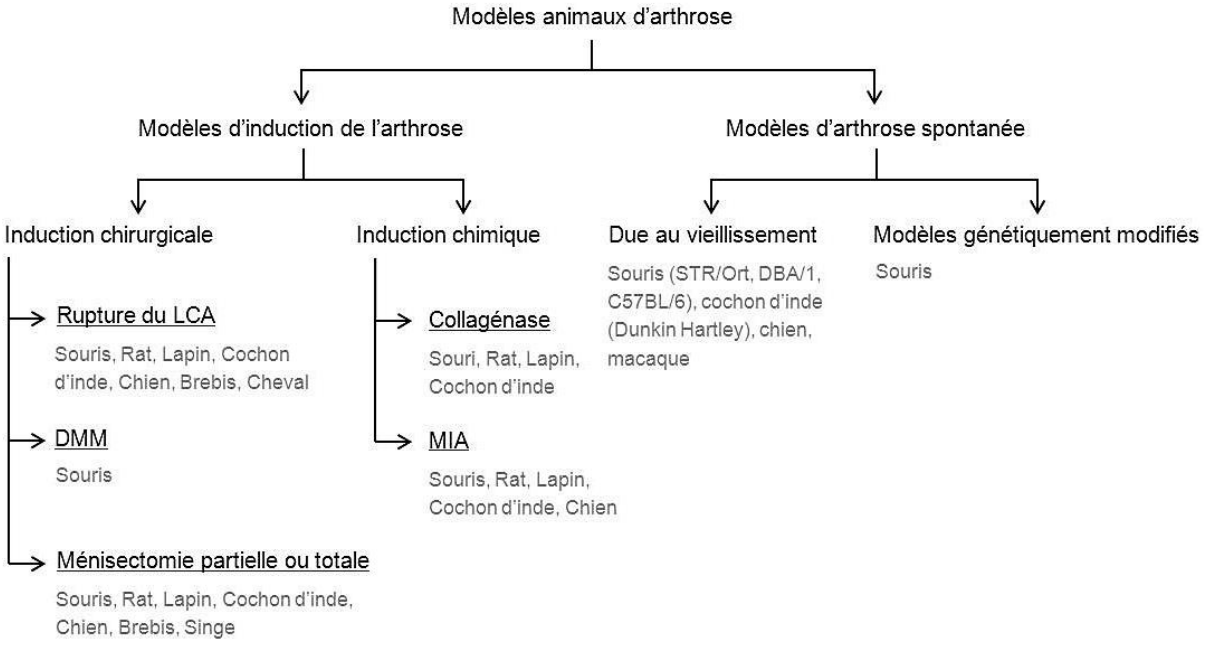


Figure 23 : Modèles animaux d'arthrose utilisés en recherche préclinique (Little & Smith, 2008)

2.3.1 Modèles d'induction chirurgicale

Les méthodes d'induction chirurgicale de l'arthrose sont les plus utilisées dans les études précliniques. Elles reproduisent particulièrement bien la pathologie humaine, au niveau histologique mais aussi d'un point de vue moléculaire. Elles miment le développement d'une arthrose post-traumatique (un des causes les plus fréquentes d'arthrose chez l'homme), et entrainent à la fois une déstabilisation de l'articulation, une modification de la répartition des charges sur les surfaces articulaires, et une inflammation. Les techniques les plus répandues se basent sur la

section d'un ligament (ligament croisé antérieur, ligament ménisco-tibial) ou la résection d'un ménisque (figure 24) :

- **la rupture du ligament croisé antérieur (LCA)** : c'est un des facteurs de risque majeur de développement d'arthrose chez l'homme. Le LCA s'insère entre les condyles fémoraux et au centre du plateau tibial, et empêche la rotation et le déplacement vers l'avant du tibia par rapport au fémur. En le sectionnant, la répartition des contraintes mécaniques est modifiée et on observe une érosion du cartilage. Le développement des lésions arthrosiques est lent et variable en terme de localisation et de sévérité des lésions, mais mime bien le développement naturel de la maladie et est plutôt utilisé pour étudier les phases précoces de la pathologie. Ce modèle est caractérisé par la formation de fibrillations du cartilage et d'ostéophytes, une sclérose et une perte d'os sous-chondral, et une invasion du cartilage calcifié par des vaisseaux (Hayami et al., 2005).

- **la déstabilisation méniscale et la ménisectomie** : les ménisques sont des structures fibro-cartilagineuses en forme de croissant localisées entre les condyles fémoraux et le plateau tibial. Le ménisque interne et le ménisque externe sont fixés au tibia par des ligaments ménisco-tibiaux et facilitent le contact entre les surfaces articulaires dont les formes ne sont pas naturellement complémentaires ; ils ont donc un rôle de cale et d'amortisseur. En sectionnant un ligament, ou une partie voire la totalité d'un ménisque, un stress se créé sur la surface articulaire se traduisant par le développement d'arthrose. Les techniques utilisées incluent la déstabilisation du ménisque médial (DMM) par section du ligament ménisco-tibial interne, la ménisectomie partielle (résection d'une partie d'un ménisque) et la ménisectomie totale. Elles engendrent une dégradation progressive de la surface cartilagineuse, la formation d'ostéophytes, une mort des chondrocytes et un épaississement de l'os sous-chondral.

Le modèle de DMM, surtout utilisé chez la souris et plus facile à réaliser que le modèle de rupture du LCA, entraine des lésions légères à modérées dans la partie médiale de l'articulation, avec une très bonne reproductibilité (Glasson et al., 2007; Loeser et al., 2013) ; alors que le modèle de ménisectomie produit lui-aussi des lésions reproductibles, mais de progression beaucoup plus rapide que les modèles précédents (Bendele, 2001).

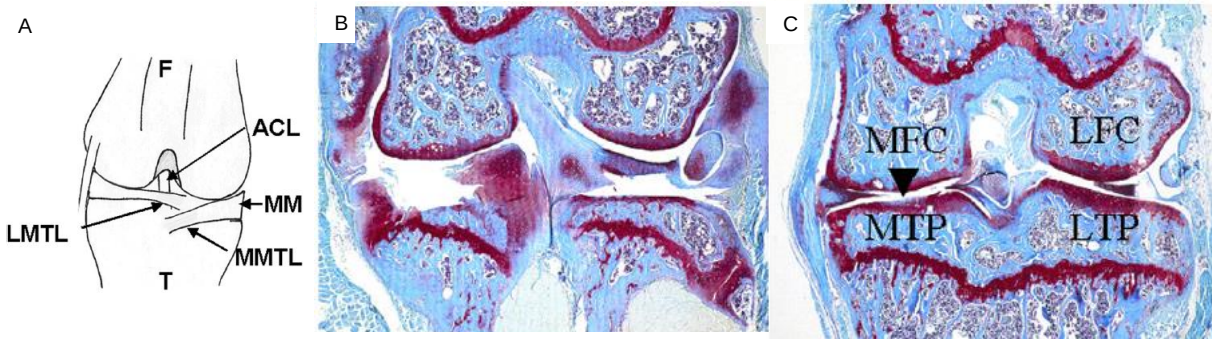


Figure 24 : Représentation schématique des différentes techniques chirurgicales utilisées pour induire l'arthrose chez l'animal (A) : par rupture du ligament croisé antérieur (ACL), par section du ligament ménisco-tibial médial (MMTL) ou latéral (LMTL), ou par résection du ménisque médial (MM). En (B), une section histologique représentative d'une articulation de souris après section du LCA, et en (C) d'une articulation après déstabilisation du ménisque médial, colorées à la Safranine-O, qui colore en rouge le cartilage. On observe une érosion du cartilage dans les deux modèles, une atteinte de l'os sous-chondral en (B) et un mauvais placement du ménisque en (C) responsable d'un contact anormal des surfaces articulaires (Glasson et al., 2007) *Abbréviations : MFC, condyle fémoral médial ; MTP, plateau tibial médial ; LFC, condyle fémoral latéral ; LTP, plateau tibial latéral*

2.3.2 Modèles d'induction chimique

L'injection par voie intra-articulaire de divers agents (enzymes, cytokines, produit chimique) peut induire une dégénérescence du cartilage articulaire. L'utilisation de ces modèles dans le développement de molécules anti-arthrosiques est controversée, car ils induisent une inflammation locale aigüe, qui n'est pas représentative du développement de l'arthrose chez l'homme. Ils sont cependant particulièrement intéressants pour étudier les composantes inflammatoires et douloureuses associées à la pathologie. Deux principaux modèles sont utilisés :

- **l'injection de collagénase** : cette enzyme dégrade les tissus de la capsule articulaire contenant du collagène de type I, tels que les tendons et les ligaments, sans induire de dommages directs aux collagènes cartilagineux, conduisant à une instabilité de l'articulation, elle-même responsable de la dégradation du cartilage, ainsi qu'une inflammation de la membrane synoviale (Lampropoulou-Adamidou et al., 2013).

- **l'injection de mono-iodoacétate de sodium (MIA)** : le MIA est un inhibiteur irréversible de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, il inhibe donc la glycolyse aérobie des cellules, conduisant à la mort des chondrocytes. Il est injecté

par voie intra-articulaire, et engendre des lésions d'apparition rapide et sévère. Il entraine une inflammation de la membrane synoviale, une perte cartilagineuse ainsi que la formation d'ostéophytes. De plus, l'injection de MIA cause un remodelage important de l'os sous-chondral, dû aux contraintes appliquées sur le cartilage dont l'épaisseur diminue, qui serait à l'origine des douleurs associées à l'arthrose (Guzman et al., 2003).

2.3.3 Modèles d'arthrose spontanée

Certaines espèces animales développent de l'arthrose spontanément avec l'âge. Des petits animaux, comme certaines souches de souris (STR/ort, C57BL/6) ou le cochon d'inde Dunkin Hartley, et des gros animaux, comme le chien (Labrador et Beagle) ou le macaque développent une pathologie ressemblant de près à la pathologie humaine. Cependant, l'utilisation de ces modèles a l'inconvénient majeur de nécessiter des études sur de longues durées.

La souris STR/Ort : plusieurs souches de souris ont été étudiées pour leur capacité à développer de l'arthrose spontanément ; en 1956, Sokoloff et Jay ont réalisé une étude sur 18 souches différentes de souris, et ont isolé une souche possédant une mutation spontanée ayant une incidence élevée d'arthrose avec l'âge, la souche STR/Ort (Sokoloff, 1956). Ces souris se caractérisent par une dégénérescence du cartilage articulaire, ressemblant à la pathologie humaine, majoritairement du côté médial, allant d'une simple érosion de la surface articulaire à une mise à nu de l'os sous-chondral. On observe de plus une obésité et une luxation de la rotule, dont on connaît mal l'étiologie, et on estime que la plupart de ces souris développent des lésions à 20 semaines (Mason et al., 2001).

La souris C57BL/6 : en 1993, l'équipe de Stanescu (Stanescu et al., 1993) s'est intéressé à cette souche très communément utilisée en recherche, et a montré une dégradation du cartilage articulaire dès l'âge de 6-8 mois, progressant lentement, jusqu'à affecter 80% des animaux à l'âge de 18 mois. Cette incidence semble être plus importante chez les animaux de sexe mâle. Ce modèle d'arthrose spontanée sera développé dans la dernière partie de ce manuscrit, consacrée à mes travaux de recherche en Master 2.

Le cochon d'inde Dunkin Hartley : cette espèce développe de l'arthrose spontanément dans le genou à partir du troisième mois, et présente une arthrose modérée à sévère à l'âge de 18 mois. On observe une érosion du cartilage et une mort des chondrocytes, ainsi que les signes typiques d'une arthrose, une sclérose de l'os sous-chondral, la présence d'ostéophytes et une calcification des ligaments (Jimenez et al., 1998; Yan et al., 2014).

2.3.4 Modèles génétiquement modifiés

De nombreux modèles de souris génétiquement modifiées existent dont l'incidence d'arthrose est augmentée ou diminuée. Il existe par exemple des souris possédant des mutations des gènes codant pour les collagènes de types II, IX, X et XI, ou pour d'autres protéines de matrice (fibromoduline, biglycane, intégrine). Certaines souris possédant une mutation du gène codant pour le collagène de type II, ou les souris surexprimant le gène codant la MMP13, développent notamment une arthrose proche de la pathologie humaine. Les souris génétiquement modifiées sont de plus particulièrement utiles pour étudier la fonction d'un gène spécifique (Fang & Beier, 2014; Helminen et al., 2002).

3. Le « gold standard » des méthodes d'évaluation de l'arthrose dans les études précliniques : l'histologie

L'étude histologique des tissus articulaires est la technique de référence dans les études précliniques. C'est une technique simple et économique pour évaluer la progression de la maladie arthrosique. Elle consiste à prélever l'articulation, la fixer dans le formol et décalcifier les tissus pour ensuite l'inclure, en paraffine le plus souvent, puis couper des sections fines et observer la structure grâce à des colorations spécifiques ou détecter l'expression de certaines protéines par immunohistochimie (Schmitz et al., 2010).

L'enjeu majeur des études utilisant l'histologie est la définition d'une méthode universelle de scoring des modifications structurelles apparaissant lors de l'arthrose, pour permettre la comparaison des différentes études. Cette méthode de scoring doit être similaire au scoring utilisé chez l'homme, et doit évaluer la structure à la fois du tissu cartilagineux, mais aussi des tissus environnants, c'est-à-dire la membrane

synoviale, les ménisques et l'os. Il n'existe actuellement pas de consensus sur la méthode de notation de la sévérité de l'arthrose, mais plusieurs organisations internationales, comme l'OARSI, ont émis des recommandations pour permettre une homogénéisation des résultats des études précliniques (Glasson et al., 2010).

3.1 Les colorations utilisées en histologie classique

Quatre colorations principales sont classiquement utilisées pour caractériser le tissu cartilagineux (tableau XIII) :

L'Hématoxylline-Eosine-Safran (HES**)** : elle consiste en l'action successive d'un colorant nucléaire basique, l'hématoxyline de Harris et d'un colorant cytoplasmique acide, l'éosine-érythrosine. Le safran permet de colorer le tissu conjonctif.

Le Bleu Alcian : il met en évidence les glycoaminoglycanes (GAG) et les PG. Le bleu alcian est un cation tétravalent qui va révéler les fonctions acides sulfatées et carboxyliques ionisées au pH utilisé grâce à des liaisons électrostatiques. La contre coloration utilisée est le Kernechtrot qui colore les noyaux en rouge.

La Safranine-O : elle permet de mettre en évidence les composants du cartilage articulaire (GAG et PG) présents dans les tissus, qui apparaissent rouge/orange. Le Fast Green sert de contre-colorant et colore en vert les autres composants, notamment l'os minéralisé. L'hématoxyline de Weigert colore les noyaux en pourpre. Elle équivaut à la coloration au bleu de toluidine.

Le Trichrome de Masson : cette technique permet d'observer le tissu fibreux en faisant apparaître le cytoplasme cellulaire en rouge, les noyaux en rouge-noir, et le collagène en vert. La coloration Trichrome Masson associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Weigert, une coloration cytoplasmique par des colorants acides (Ponceau-Fuschine acide) et une coloration du tissu conjonctif au Vert Lumière.

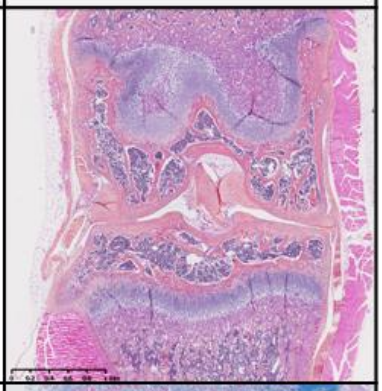
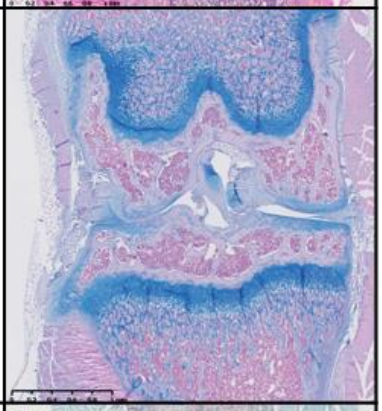
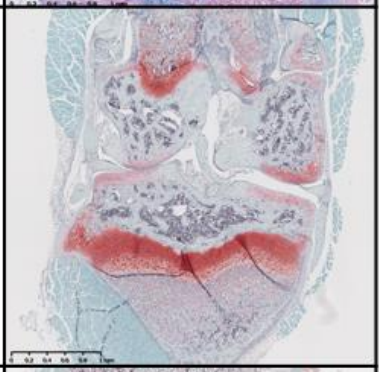
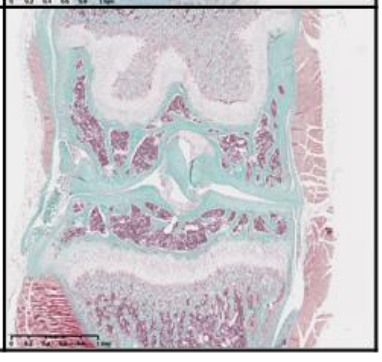
COLORATION	VISUALISATION	TISSU OU MOLECULE CIBLES	EXEMPLE
Hématoxylline-Eosine-Safran (HES)	Bleu, noir Jaune, orangé Rose Rouge vif	Noyaux Collagène Cytoplasmes, fibres élastiques Fibres musculaires et hématies	
Bleu Alcian	Rouge Bleu Teinte du rouge pâle au rose	Noyaux Mucosubstances acides Structures acidophiles tissulaires	
Safranine-O	Pourpre Rouge/orange/rose Vert Bleu Vert Bleu	Noyaux Cartilage, PG, GAG Os minéralisé Autres tissus	
Trichrome de Masson	Bleu, noir à brun Vert clair Rose à rouge Rose Rouge orangé	Noyaux Collagène et mucus Cytoplasme Lames élastiques, muscle Erythrocyte, hématies et kératine	

Tableau XIII : Colorations histologiques classiques utilisées pour l'étude du cartilage

3.2 Les différentes méthodes de scoring histologique de l'arthrose

Plusieurs systèmes de scoring histologique ont été utilisés dans les études sur l'arthrose. La méthode décrite par Mankin *et al.* (Mankin et al., 1971) a longtemps été utilisée comme méthode de référence. Elle a initialement été développée chez l'homme, mais a été adaptée à l'étude de l'arthrose chez l'animal. Puis différentes méthodes ont ensuite été utilisées, dont une décrite par l'OARSI (Pritzker et al., 2005).

3.2.1 Le score de Mankin

La méthode de scoring de Mankin a tout d'abord été développée pour évaluer l'arthrose de l'épaule chez l'homme, puis a été entendue aux autres localisations de la maladie. Elle a ensuite subi des modifications pour être appliquée aux études chez l'animal, et a été extensivement utilisée. Cette méthode utilise un score sur 14 points, en estimant la structure du cartilage, sa cellularité, l'intensité du marquage à la Safranine-O et l'intégrité de la tidemark (tableau XIV).

Structure du cartilage	Normal Surface irrégulière Pannus et surface irrégulière Fissures dans la zone de transition Fissures dans la zone radiale Fissures dans la zone calcifiée Désorganisation complète	0 1 2 3 4 5 6
Cellules	Normales Hypercellularité diffuse Cloning Hypocelularité	0 1 2 3
Coloration à la Safranine-O	Normale Légère atténuation Atténuation modérée Sévère atténuation	0 1 2 3
Intégrité de la tidemark	Intacte Traversée par des vaisseaux sanguins	0 1
SCORE TOTAL : 0 à 14		

Tableau XIV : Méthode de scoring histologique de l'arthrose selon Mankin et al. (Mankin et al., 1971)

Bien qu'étant le système de gradation de l'arthrose le plus utilisé dans les études précliniques, celui-ci possède des inconvénients majeurs. Il est particulièrement reconnu pour engendrer des variations intra et inter-observateurs élevées, et n'est pas jugé adapté pour évaluer les stades précoces de la maladie, car il a été développé lors d'une étude sur des échantillons avec une arthrose avancée (Custers et al., 2007).

3.2.2 Le score OARSI

Pour pallier ces inconvénients, Pritzker *et al.*, associés à un groupe de travail de l'OARSI ont développé une nouvelle méthode de scoring, basée sur celle de Mankin, qui se veut simple à utiliser et reproductible (Pritzker et al., 2005). Cette méthode s'inspire d'une méthode d'estimation de la maladie utilisée en cancérologie, en repose sur trois indicateurs : le grade, le stade et le score :

- le grade : il représente la profondeur des lésions dans le cartilage. C'est un index de la sévérité ou de la progression biologique du processus arthrosique. Il repose sur la notation du grade le plus avancé dans l'articulation et ne prend pas en compte les différents grades d'arthrose qui peuvent être présents dans l'articulation. La sévérité de la pathologie est évaluée en 6 grades ; les grades 1 à 4 incluent des modifications du cartilage articulaire uniquement, alors que les grades 5 et 6 incluent en plus l'os sous-chondral. Une méthode plus avancée existe également, dans laquelle les 6 grades sont divisés en sous-grades. Les différents grades d'arthrose sont définis comme suit (figure 25) :
    - Un grade 0 correspond à un cartilage articulaire normal, non arthrosique. La surface articulaire est lisse et l'organisation en couches du cartilage vue dans le tableau IV est conservée
    - Un grade 1 est caractérisé par une légère abrasion de la surface articulaire, appelée fibrillation superficielle se traduisant par des fissures microscopiques dans la zone superficielle. On observe de plus un œdème de la matrice, voire une hypertrophie du cartilage, liée à une raréfaction et une condensation des fibres de collagène dans les zones superficielle et moyenne. Des clusters et/ou une désorganisation des chondrocytes peuvent être présents, associés à une mort cellulaire, identifiée par l'absence de chondrocyte dans le chondron et une hypertrophie

- Un grade 2 se défini par une discontinuité focale de la zone superficielle. Les forces de cisaillement entrainent la formation de fissures entrainant des pertes de fragments de matrice parallèlement à la surface, qui peuvent se retrouver dans le liquide synovial. Ces fissures peuvent s'étendre à travers la zone superficielle, on parle de fibrillation profonde. Une perte de coloration de la matrice superficielle peut être présente (premier tiers), ainsi que la formation de clusters et une perte d'orientation des chondrons
- Un grade 3 correspond à une progression des lésions dans la zone moyenne pour former des fissures verticales. La structure de la matrice devient hétérogène avec des pertes de coloration et des zones de coloration plus intenses, ainsi qu'une raréfaction et une condensation des fibres de collagène dans la zone moyenne. On observe toujours une mort cellulaire et une désorganisation des chondrons
- Un grade 4 est caractérisé par une érosion du cartilage articulaire. Deux phénomènes se produisent : la délamination de la zone superficielle et la perforation de la zone moyenne. La délamination correspond à la propagation des fissures de la zone superficielle à la zone moyenne conduisant au relargage d'un fragment de matrice. La perforation correspond à la formation de cavités au sein de la matrice, résultant de l'extension de fissures qui se rejoignent, libérant un fragment de matrice. On remarque de plus la formation de kystes dans la zone moyenne, dus à un œdème persistant de la matrice
- Un grade 5 se caractérise par une dénudation, c'est-à-dire une érosion complète du cartilage atteignant le cartilage calcifié et/ou l'os. L'os dans les zones de dénudation apparait plus dense et épais, moins minéralisé et métaboliquement plus actif. On retrouve des microfractures dans la plaque sous-chondrale, avec une tentative de réparation par néo-formation de tissu fibrocartilagineux
- Un grade 6 se distingue par une déformation de la surface articulaire, associant microfractures et formation d'un néo-tissu fibrocartilagineux au niveau des zones érodées et dénudées du cartilage. On observe un remodelage du tissu osseux donnant naissance à des ostéophytes

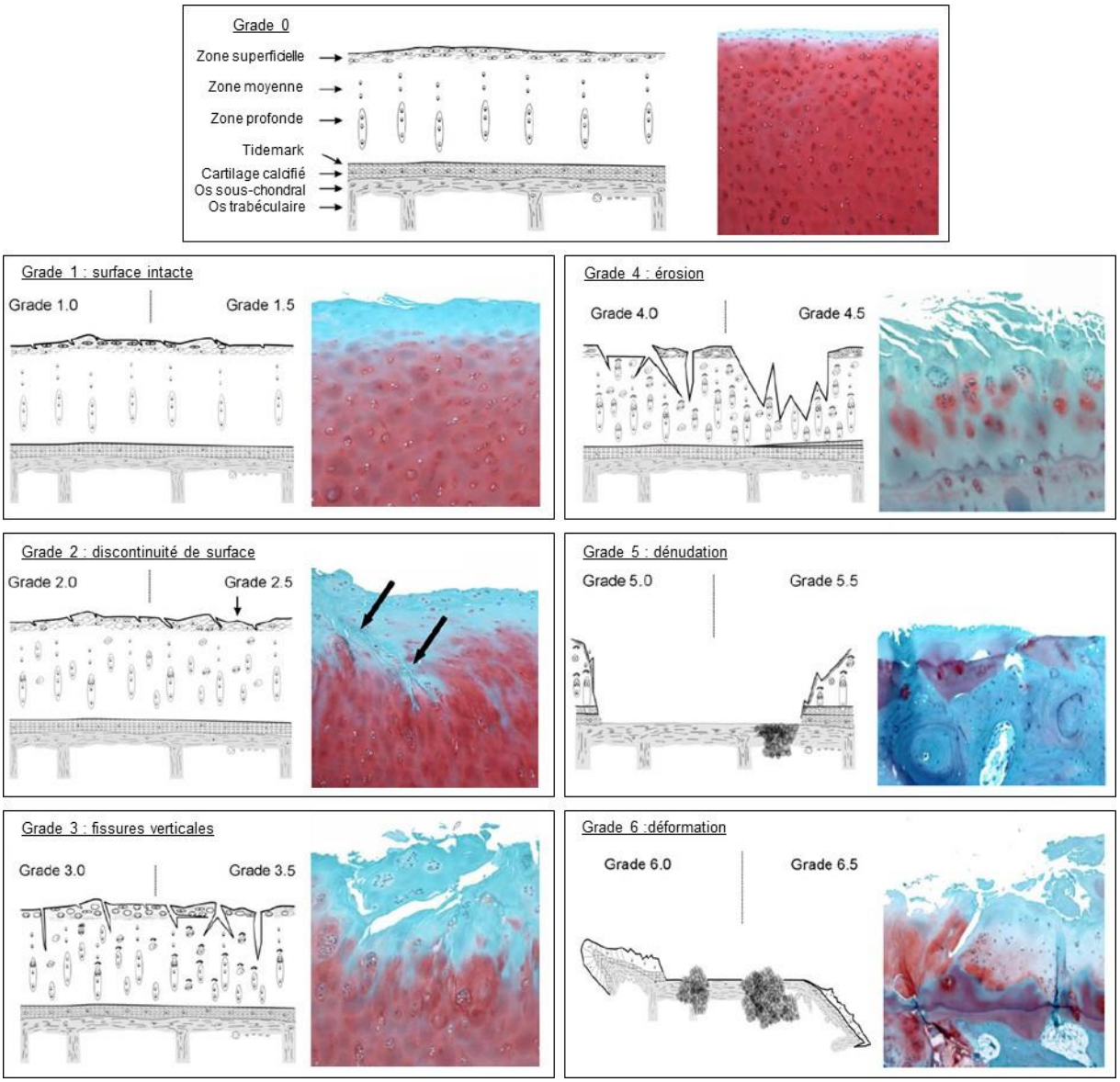


Figure 25 : Méthode de scoring histologique de l'arthrose selon l'OARSI. Représentation schématique et colorations à la Safranine-O de coupes histologiques de cartilage humain des différents grades d'arthrose selon l'OARSI. Les flèches indiquent la pénétration des fibrillations de la zone superficielle à la zone moyenne du cartilage articulaire (Pritzker et al., 2005)

- le stade : il représente l'étendue de l'arthrose dans le plan horizontal. En effet, l'arthrose débute habituellement par des lésions focales dues aux charges mécaniques, et ne concerne pas toute la surface articulaire, qui peut à la fois contenir des zones atteintes et des zones intactes. Lors de la progression de la maladie, les lésions se répandent de proche en proche jusqu'à atteindre toute la surface. Le stade d'arthrose représente donc la proportion de la surface articulaire touchée par la maladie, par rapport à la surface totale (tableau XV).

Stade	% d'arthrose (surface, aire, volume)
0	0%
1	< 10%
2	10 – 25%
3	25 – 50%
4	> 50%

Tableau XV : Stades histologiques d'arthrose selon l'OARSI (Pritzker et al., 2005)

- le score : c'est un indice combiné du grade et du stade (score = grade x stade) et représente la sévérité et l'étendue de la maladie arthrosique. Il est noté de 0 à 24, mais cette échelle n'est pas linéaire pour les scores les plus sévères, car ne comporte par tous les scores entre les 2 valeurs (tableau XVI).

Grade	Stade			
	S1	S2	S3	S4
G1	1	2	3	4
G2	2	4	6	8
G3	3	6	9	12
G4	4	8	12	16
G5	5	10	15	20
G6	6	12	18	24

Tableau XVI : Scores histologiques d'arthrose selon l'OARSI. Le score est définit par : score = grade x stade (Pritzker et al., 2005)

Ce système de scoring de l'arthrose est facile à utiliser, et permet donc d'évaluer la sévérité des lésions à la fois en termes de profondeur et d'étendue, notamment pour les stades précoces. Il engendre des faibles variabilités intra et inter-observateurs, et il a été montré une bonne corrélation avec le score de Mankin. Enfin, il semble très bien adapté aux débutants, et ne nécessite pas d'expérience particulière comme avec la méthode de Mankin (Walton, 1977a).

L'OARSI a aussi publié des recommandations pour évaluer l'arthrose chez l'animal par histologie, en adaptant la méthode utilisée chez l'homme aux différentes espèces considérées (souris, rat, cobaye, lapin, chien, brebis, cheval).

4. L'essor de nouvelles méthodes non invasives d'appréciation de l'arthrose

4.1 Pourquoi développer de nouvelles approches de suivi de l'arthrose ?

Bien que les techniques histologiques soient la méthode de référence dans les études sur l'arthrose, ces sont des techniques longues qui ne permettent pas de réaliser un suivi longitudinal de l'arthrose chez l'animal. De plus, il est impossible de transposer cette approche en clinique humaine, d'où l'intérêt grandissant pour développer de nouvelles techniques non invasives d'évaluation de l'arthrose chez l'animal. Celles-ci ont l'avantage de permettre à la fois de suivre la progression de la maladie chez le même animal, tout en réduisant le nombre d'animaux, donc le coût des études, et sont directement transposables aux études chez l'homme.

Les techniques d'imagerie (radiologie, IRM, etc.) sont particulièrement intéressantes car sont directement utilisées pour le diagnostic et le suivi de l'arthrose en clinique. Les biomarqueurs sont aussi beaucoup étudiés car permettraient de détecter les stades précoces de la maladie. Enfin, des techniques innovantes ont été développées pour suivre la gêne fonctionnelle associée à la maladie, comme l'analyse de la démarche, grâce à différents systèmes développés chez l'animal. Cette prochaine partie s'intéressera principalement aux études chez le petit animal (rongeurs et lapin) car ce sont les modèles les plus répandus dans les études sur l'arthrose.

4.2 Les méthodes d'imagerie *in vivo*

Trois techniques principales d'imagerie ont été adaptées à l'étude de l'arthrose chez l'animal : la radiographie, l'IRM et le microscanner. Actuellement, ces techniques sont relativement facilement utilisables chez l'animal préalablement endormi. La radiographie a l'avantage d'être la technique de référence pour le diagnostic d'arthrose en clinique humaine ; l'IRM et le microscanner sont des techniques plus récentes, et de plus en plus couramment utilisées chez l'homme car permettent de distinguer le cartilage, mais aussi les autres tissus de l'articulation, qui sont eux aussi impliqués dans le développement de la maladie. Les limites de ces techniques sont la nécessité d'appareils de haute résolution du fait de la petite taille des animaux, ainsi que de réaliser des enregistrements avec des temps d'acquisition raisonnables afin d'éviter au maximum la survenue d'effets secondaires dus à l'anesthésie.

4.2.1 La radiographie

4.2.1.1 Peut-on scorer l'arthrose chez le petit animal par radiographie ?

Peu d'études ont utilisé la radiographie pour suivre l'arthrose en préclinique. Différents scores radiologiques ont été développés depuis une quarantaine d'années, notamment chez les souris spontanément arthrosiques de souche STR/Ort et C57BL/6.

Une des premières études a été réalisée par Walton *et al.* chez la souris dans la fin des années 1970 (Walton, 1977b). Celui-ci a réalisé des clichés radiographiques d'articulations de 2 souches de souris mâles et femelles, à différents âges (de 0 à 20 mois) : les souris CBA/Ort, qui ont une faible incidence d'arthrose, et les souris STR/Ort, connues pour développer la maladie. Il remarque que l'on peut distinguer différents paramètres à la radiologie, notamment un épaississement et une sclérose de l'os sous-chondral, une luxation de la rotule, une calcification des ligaments et un élargissement des ménisques (figure 26). Il précise que l'espace articulaire, qui est un des paramètres principaux pour le diagnostic d'arthrose chez l'homme, est difficilement mesurable du fait de la difficulté d'obtenir des clichés reproductibles dans le positionnement de l'articulation. La luxation de la rotule retrouvée à la radiographie est caractéristique de la souche de souris et semble prédisposer au développement d'arthrose dans l'articulation. Pour finir, l'auteur a réalisé des coupes histologiques des mêmes échantillons et montre que la radiographie est peu sensible pour détecter les stades précoces d'arthrose, et qu'une radiographie positive correspond systématiquement à une articulation sévèrement atteinte.



Figure 26 : Clichés radiographiques d'articulations de souris STR/Ort, en vue antéro-postérieur (A et C) et latérale (B et D). Les clichés A et B représentent une articulation saine de souris de 3 mois, alors que les clichés C et D représentent une articulation arthrosique d'une souris de 13 mois. On observe une luxation de la rotule chez la souris arthrosique (D), ainsi qu'un élargissement des ménisques, des calcifications des ligaments et un épaississement et une sclérose de l'os sous-chondral (C). Grossissement x10 (Pataki et al., 1987; Pataki et al., 1990)

4.2.1.2 Méthodes de scoring de l'arthrose par radiographie chez l'animal

Etudes chez la souris : Pataki *et al.* ont ensuite réalisé la seule étude, en 2 parties, sur le modèle de souris C57BL/6 spontanément arthrosique (de 8 à 11 mois) (Pataki et al., 1987), tout d'abord pour comparer les résultats obtenus par radiologie et par histologie, puis pour tenter d'établir une méthode quantitative de scoring radiologique de l'arthrose. Dans la première étude, l'auteur a réalisé 2 évaluations radiologiques en

utilisant tout d'abord les critères utilisés chez l'homme, soit : pincement de l'interligne, aplatissement ou déformation de la surface articulaire et sclérose de l'os sous-chondral ; puis une seconde en ajoutant des modifications de la structure des ménisques (élargissement, déformation, aspect) (tableau XVII).

Score		Signification
Première évaluation (d'après les critères classiques d'arthrose)		
0	Pas d'arthrose	Articulation normale
?	Arthrose discutable	Sclérose osseuse dans les épiphyses fémorales et/ou tibiales dans une seule des 2 projections (latérale et antéro-postérieure)
[+]	Arthrose probable	Sclérose osseuse dans les épiphyses fémorales et/ou tibiales dans les 2 projections
+	Arthrose nette	Aplatissement, perforation ou autre déformation des épiphyses fémorales et/ou tibiales, associés à une sclérose intense de l'os et un pincement de l'interligne
Seconde évaluation (ménisques pris en compte)		
0	Pas d'arthrose	Articulation normale
?	Arthrose discutable	Lésions méniscales discutables avec ou sans sclérose de l'os
[+]	Arthrose probable	Anomalies légères à modérées des ménisques avec ou sans sclérose de l'os
+	Arthrose nette	Sévères lésions méniscales, associées aux critères classiques d'arthrose décrit dans la première évaluation

Tableau XVII : Critères d'évaluation de l'arthrose par radiographie selon Pataki et al. (Pataki et al., 1987)

La première évaluation radiologique des articulations, en prenant en compte les critères de diagnostic utilisés chez l'homme, montre que les stades d'arthrose sévères (score 4, établi histologiquement) ne sont détectables radiologiquement que dans 57% des cas, et que les stades précoces (1 à 3) ne sont pas reconnaissables de façon fiable par radiographie. Cependant, si l'on ajoute l'observation des ménisques (seconde évaluation), la détection est améliorée. En effet, il a été démontré que des anomalies dans la structure des ménisques sont un des signes précoces du développement de la maladie, et que l'incidence de ces anomalies est directement corrélée à la progression de l'arthrose. L'auteur conclut cette étude en disant que, mis à part dans les formes sévères de la maladie, la radiographie ne permet pas de

distinguer les différents stades d'arthrose. Dans la seconde étude de Pataki *et al.* (Pataki et al., 1990), l'auteur ajoute qu'il est possible de quantifier l'arthrose par radiographie, en suivant l'élargissement des ménisques (latéral et médial), ceci permettant de mieux distinguer les différents stades d'arthrose. Il observe une forte corrélation entre faibles scores histologiques et radiologiques, et entre forts scores histologiques et radiologiques, mais ne peut distinguer les stades 0 et 1. Il ajoute que le pincement de l'interligne est un paramètre important à regarder et améliore la détection des différents stades d'arthrose. Les mêmes auteurs ont enfin publié un article dans lequel ils utilisent la radiologie pour observer les effets d'un traitement oral par différentes molécules anti-inflammatoires (indométhacine, diclofénac, prednisone) sur l'arthrose (Pataki et al., 1990). Même si la radiologie semble permettre le suivi de l'arthrose dans ce modèle d'arthrose spontanée, l'étude n'a pas permis de démontrer un effet bénéfique des différents traitements par radiologie.

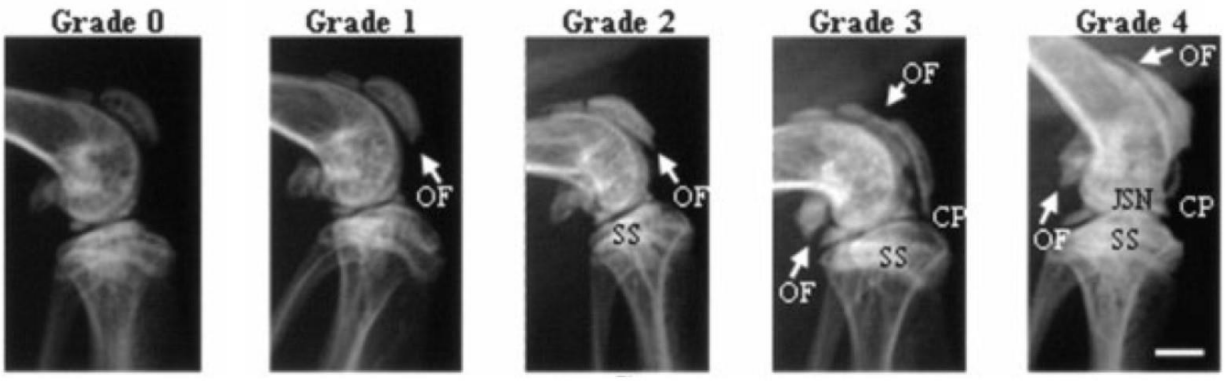
Une nouvelle étude suivant celle de Walton chez la souris STR/Ort a ensuite été publiée (Evans et al., 1994), dans laquelle l'auteur a développé un système de scoring radiologique de l'arthrose, divisé en plusieurs scores selon la localisation des lésions, dans les articulations du genou et de la cheville. Différents paramètres ont été évalués : le rétrécissement de l'interligne (médial et latéral), la présence d'excroissances osseuses, la calcification des tendons et des ménisques, l'épaississement de la rotule, la luxation de la rotule et du calcanéus, ainsi que d'éventuelles anomalies dans l'articulation de la cheville. Chaque paramètre évalué est noté de 0 à 3, sauf les paramètres de luxation de la rotule et du calcanéus, notés 0 ou 1. Pour permettre de bien détailler l'articulation, celle-ci a été divisée en 4 quadrants (tibia et fémur, médial et latéral), évalués de façon individuelle. On remarque que la calcification des ménisques n'a pas été prise en compte par l'auteur dans le score de l'articulation du genou, car il estime que ces calcifications sont naturellement présentes chez la souris, mais pas chez l'homme. Cette étude montre une augmentation des différents scores radiologiques chez les souris entre 1 mois et 11 mois, plus prononcée chez les mâles que chez les femelles, et plus importante dans le compartiment médial que dans le compartiment latéral. Elle montre de plus que l'arthrose se développe dans le genou et dans la cheville, mais qu'il n'existe pas de corrélation entre les 2 localisations.

Enfin, l'étude de Sarukawa *et al.* (Sarukawa et al., 2010) compare la radiographie à l'histologie. Celui-ci a réalisé une étude radiographique longitudinale des articulations de souris STR/Ort et CBA (2 à 10 mois), et a évalué la sévérité des lésions histologiques des mêmes souris au cours du développement de la maladie. Pour l'étude radiologique, 4 paramètres ont été sélectionnés : la sclérose de l'os sous-chondrale (SS), la présence d'ostéophytes (OF), le rétrécissement de l'espace articulaire (JSN), ainsi que la présence de calcifications du tendon patellaire (CP) (figure 27A). Les différents grades sont classés selon la présence de l'un ou plusieurs de ces paramètres, et sont représentés en figure 27B. Parallèlement, les articulations ont été analysées par histologie, et assignées un grade d'arthrose selon la méthode décrite par Walton, qui repose sur la profondeur des lésions (Sarukawa et al., 2010; Schünke et al., 1988; Walton, 1977a) (figure 27C et D). Le grade final de chaque articulation a été défini par le grade le plus haut de toutes les sections, et un animal est dit arthrosique si le score histologique d'au moins une articulation est supérieur ou égal à 2. D'après ce critère, les souris STR/Ort ont été divisées en 2 groupes : les STR arthrosiques (uni ou bilatérales), et les STR non arthrosiques. L'auteur montre que le score radiologique des souris CBA n'augmente pas au cours de l'étude, alors que le score des souris STR/Ort augmente de façon significative à partir de 6 mois. En comparant les souris STR arthrosiques/non arthrosiques, il observe de la même façon des scores radiologiques plus élevés chez les souris arthrosiques.

A. Scoring radiologique :

Paramètres évalués	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Sclérose de l'os sous-chondral (SS)	Pas d'anomalie apparente	Présence d'un des paramètres	Présence de deux des paramètres	Présence de trois des paramètres	Présence des quatre paramètres
Formation d'ostéophytes (OF)					
Pincement de l'interligne (JSN)					
Calcification du tendon patellaire (CP)					

B. Images représentatives des différents grades radiologiques :



C. Images représentatives des différents grades histologiques :



D. Scoring histologique :

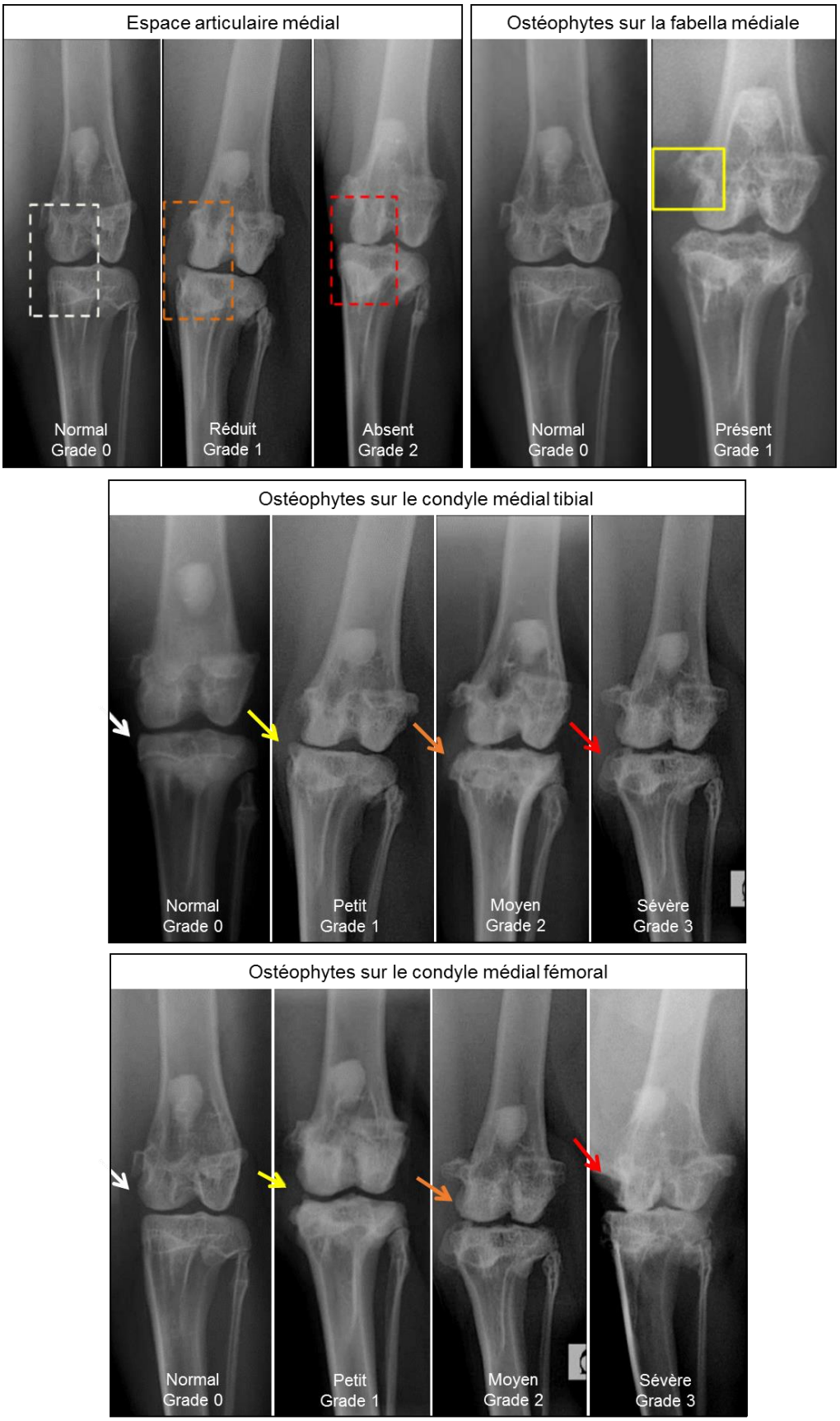
Grade 0	Pas d'anomalie apparente
Grade 1	Fibrillations superficielles du cartilage articulaire
Grade 2	Lésions limitées au cartilage non calcifié
Grade 3	Lésions étendues au cartilage calcifié
Grade 4	Mise à nu de l'os sous-chondral

Figure 27 : Comparaison des différents grades radiologiques et histologiques chez la souris STR/Ort selon Sarukawa et al. Les paramètres et les grades radiologiques évalués en (A) sont représentés en (B) ; de même, les images histologiques d'articulations de souris (C) sont représentatives des différents grades d'arthrose, définis par Walton et Schünke et al. (D) (d'après Sarukawa et al., 2010)

Etudes chez le lapin : Une étude détaillée a récemment été publiée chez le lapin par Boulocher *et al.* dans laquelle l'arthrose a été induite par rupture du LCA (Boulocher et al., 2010). Dans cette étude, le score radiologique utilisé est basé sur les critères utilisés chez l'homme, soit la largeur de l'espace articulaire et la présence d'ostéophytes. Ce système est décrit dans le tableau XVIII, et illustré par la figure 28. L'observation macroscopique des articulations des lapins opérés montre des chondropathies allant de l'œdème à une érosion complète du cartilage et des ulcérations osseuses, de sévères lésions méniscales, ainsi qu'une fibrose des tissus avec formation d'ostéophytes. Ces lésions sont positivement corrélées aux lésions observées par radiographie, et l'auteur montre que les scores radiologiques des animaux opérés sont supérieurs aux scores des animaux contrôles.

Paramètre radiologique d'arthrose dans le compartiment médial		**Grade 0**	**Grade 1**	**Grade 2**	**Grade 3**
Largeur de l'espace articulaire		Normal	Réduit	Absent	NA
Ostéophytes	Condyle médial tibial	Absent	Petit	Moyen	Sévère
	Condyle fémoral tibial	Absent	Petit	Moyen	Sévère
	Fabella médiale	Absent	Présent	NA	NA
Score total d'ostéophytes					0-7
Score radiographique d'arthrose total					0-9

Tableau XVIII : Système de scoring radiologique d'arthrose utilisé chez le lapin, selon Boulocher et al. (Boulocher et al., 2010). La fabella est un os surnuméraire sésamoïde situé à l'arrière des condyles fémoraux



<u>Figure 28</u> : Atlas radiologique représentatif des différents paramètres et grades radiologiques d'arthrose décrits chez le lapin par Boulocher et al. (Boulocher et al., 2010)

4.2.1.3 Exemples d'études ayant utilisé la radiographie

De nombreuses études ont utilisé la radiographie pour observer la présence d'arthrose, mais peu pour la quantifier, et ainsi évaluer l'effet d'une intervention (d'un traitement ou pour la recherche de l'implication d'une protéine dans la maladie). En effet, il a par exemple été démontré qu'une inactivation de l'expression de deux protéines de la famille des SLRPs, le biglycane et la fibromoduline, chez la souris (par la création de souris mutantes pour l'un ou les deux de ces gènes) entraine le développement prématuré d'arthrose, détecté par une augmentation des scores histologique et radiologique (Ameye et al., 2002). Une autre équipe a montré une augmentation du score radiologique d'arthrose dans un modèle d'arthrose sévère (section des ligaments croisés antérieur et postérieur, du ligament patellaire, des ligaments collatéraux, associés à une résection des ménisques) 8 semaines post-chirurgie, mais n'a pas réussi à montrer de différences du score radiographique chez des souris ayant subi la même opération mais dont l'expression du gène de la transglutaminase-2 (qui a un rôle dans l'hypertrophie des chondrocytes) a été inactivée, bien qu'ils aient observé moins de lésions cartilagineuses que chez des souris contrôles par histologie (Orlandi et al., 2008).

Parallèlement, quelques études ont réussi à montrer l'efficacité de molécules dans l'arthrose par l'utilisation d'un système de scoring de l'arthrose par radiologie. Ainsi, un inhibiteur de métalloprotéinases (Ro 32-3555) administré par voie orale chez la souris STR/Ort a entrainé une diminution significative du score radiologique par rapport aux souris non traitées (Brewster et al., 1998). De la même façon, une équipe américaine s'est intéressée aux propriétés antalgiques de l'aspartame (Manion et al., 2011), et montre qu'une diminution de la douleur entraine une amélioration de la mobilité et donc un ralentissement de la progression de l'arthrose chez la souris STR/Ort, observé à la radiographie. Enfin, une étude a été réalisée chez le rat dont le LCA a été rompu et traité par de l'acide hyaluronique et/ou de la lubricine par voie intra-articulaire (Teeple et al., 2010). Celle-ci montre que la lubricine seule ou associée à l'acide hyaluronique permet une diminution du score histologique et radiologique (score de Kellgren Lawrence modifié), alors que l'acide hyaluronique seul n'a pas montré d'effet bénéfique après 4 semaines de traitement.

Malgré les avantages de la radiographie, on remarque que la précision de cette technique permet difficilement de distinguer les stades précoces d'arthrose ; les études chez le petit animal requièrent en effet des appareils de haute définition. De plus, elle nécessite des études de longue durée pour observer un éventuel ralentissement de la maladie par radiologie. Il semble, de plus, difficile d'évaluer la largeur de l'espace articulaire, chez la souris par exemple, car nécessite de réaliser un cliché « en charge » (comme réalisé chez l'homme), ce qui est impossible avec un animal endormi. Finalement, il n'y pas de consensus sur la méthode de scoring de l'arthrose par radiographie chez le petit animal. Les paramètres les plus étudiés sont les mêmes que chez l'homme, soit la présence d'ostéophytes ou de calcifications, la sclérose de l'os sous-chondral, et la hauteur de l'interligne articulaire. Cependant, ceux-ci ne récapitulent pas forcément la maladie chez l'animal, notamment chez la souris vieillissante, où l'on observe un élargissement de la taille des ménisques qui est positivement corrélé à la sévérité de l'arthrose (Pataki et al., 1990).

4.2.2 L'Imagerie à résonance magnétique (IRM)

L'imagerie à résonance magnétique (IRM), à la différence de la radiographie, permet d'observer l'articulation dans sa totalité, c'est-à-dire le cartilage articulaire et l'os, mais aussi les ménisques, la membrane et le liquide synovial, les tendons et les ligaments. C'est une technique d'imagerie très puissante qui permet d'observer les différents organes de façon bi ou tridimensionnelle et non invasive. Elle se base sur la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons constitutifs de l'eau contenue dans l'organisme (et qui constitue 70 à 80% du volume du cartilage), et la réponse de ces noyaux lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique. Une fois un noyau excité, il retourne à son état de base par un phénomène de relaxation, caractérisé par deux temps : le temps de relaxation longitudinal T1, et le temps de relaxation transversal T2, qui augmentent avec l'hydratation des tissus, et qui peuvent être diminués expérimentalement afin d'augmenter l'intensité des signaux grâce à l'ajout de produits de contraste. L'intensité du signal va donc dépendre de la concentration en eau, mais aussi de ces temps de relaxation. On obtient alors une image de la répartition de l'eau dans le corps, et on peut observer des différences de densité et de relaxation de l'eau, qui signent une altération d'un tissu. Les tissus contenant peu d'eau (l'os par exemple) n'émettent, eux, pas de signal et apparaissent noirs sur l'IRM.

Watson *et al.* décrivent dans les années 1990 la possibilité d'observer l'arthrose par IRM chez le petit animal (cobaye) (Watson et al., 1997). Ils distinguent différents signes caractéristiques de la pathologie arthrosique : la formation d'ostéophytes, une modification du signal dans l'os trabéculaire (hypersignal), une désorganisation structurelle des ménisques, un épaississement avec une sclérose intense et un remodelage de la plaque osseuse sous-chondrale, ainsi qu'une réduction de la taille et de l'intensité du cartilage articulaire, chez le cobaye Dunkin-Hartley âgé de 9 mois. C'est une des premières études utilisant l'IRM chez le petit animal, et de nombreuses autres études ont ensuite été publiées, afin d'augmenter la capacité résolutive de cette technique, réduire le temps d'acquisition et les effets secondaires dus à l'anesthésie. Elle a surtout été étudiée chez le cobaye et le lapin, et quelques études ont été réalisées chez le petit rongeur (rat et souris) (Piscaer et al., 2008).

L'IRM peut être utilisée à la fois pour réaliser des mesures quantitatives de l'épaisseur ou du volume du cartilage articulaire, étudier les différents temps de relaxation obtenus grâce à cette technique, mais aussi pour évaluer l'aspect des différents tissus de l'articulation (surface articulaire, os, ligaments, tendons, ménisques, membrane et liquide synovial,…) (Burstein, 2006; Wang, 2008).

4.2.2.1 L'IRM pour mesurer l'épaisseur et le volume du cartilage articulaire

Il est bien établi que la dégradation et la perte de cartilage articulaire est un évènement central dans le développement de l'arthrose. Les avancées technologiques ces vingt dernières années en matière d'IRM permettent actuellement d'évaluer de manière quantitative l'épaisseur et le volume du cartilage articulaire chez différentes espèces animales (lapin, cochon d'inde, rat). Les résultats de ces études sont contradictoires, car certains auteurs montrent une diminution de l'épaisseur du cartilage articulaire, et d'autres un épaississement de la surface articulaire. En effet, l'épaisseur du cartilage articulaire a été mesurée chez le cochon d'inde ménisectomisé, à la fois par IRM (figure 29) et par histologie (Bolbos et al., 2007; Bolbos et al., 2007), et il a été démontré une diminution de l'épaisseur du cartilage à partir de 90 jours après opération, observée par IRM chez les animaux arthrosiques, corrélée de façon positive à la mesure par histomorphométrie.

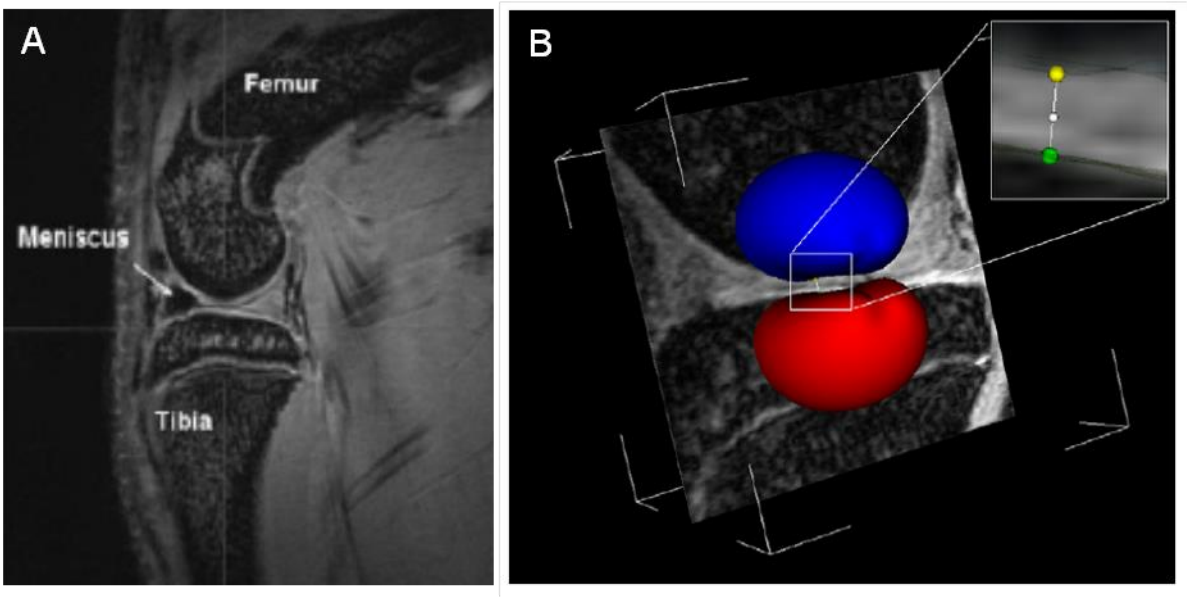


Figure 29 : IRM d'une articulation postérieure de cochon d'inde en 2D (A) et en 3D (B). Afin de mesurer l'épaisseur du cartilage, le tibia et le fémur sont délimités par des sphères dont la surface correspond à la surface articulaire ; la distance entre ces 2 surfaces (boule jaune et boule verte) correspond à l'épaisseur du cartilage (Bolbos et al., 2007; Bolbos et al., 2007)

Une autre équipe a mesuré le volume du cartilage chez le cochon d'inde Dunkin-Hartley vieillissant (Tessier et al., 2003), et a montré une perte de 36% du volume du cartilage tibial médial entre des animaux de 9 mois et de 12 mois grâce à l'IRM. Boulocher *et al.* (Boulocher et al., 2007) ont, eux, réalisé des mesures de l'épaisseur du cartilage à différents points de l'espace articulaire entre le tibia et le fémur, dans un modèle de rupture du LCA chez le lapin. Ils démontrent que cette épaisseur diminue au niveau des zones non recouvertes par les ménisques, c'est-à-dire les zones de contact entre le fémur et le tibia, alors qu'elle augmente dans les zones non porteuses, à partir de 3 mois après la chirurgie. Ceci est probablement dû à un phénomène précoce de compensation avant la perte de cartilage et le remodelage sous-chondral. En effet, une autre étude chez le lapin ayant subi une méniscectomie partielle (Calvo et al., 2001), a montré une augmentation de l'épaisseur du cartilage au niveau des zones où les frottements entre le tibia et le fémur sont les plus importants, traduisant un œdème du cartilage dans les phases précoces de la maladie, à partir de 4 semaines après la chirurgie et jusqu'à 8 semaines. De la même façon, Goebel *et al.* ont réalisé la première étude IRM chez le petit rongeur (Goebel et al., 2010) et ont montré à la fois un amincissement du cartilage articulaire fémoral et un épaississement du cartilage tibial dans un modèle de rupture du LCA chez le rat.

Il existe différentes explications à la divergence de ces résultats. La première est que les différents auteurs ont utilisé des modèles différents, ainsi que des appareils d'IRM avec des puissances différentes (4,7 ou 7 Tesla), et des techniques distinctes pour réaliser les mesures (à la main, ou grâce à un logiciel de mesure automatique). De plus, certains auteurs (Bolbos, et al., 2007; Bolbos et al., 2007; Tessier et al., 2003) ont réalisé une mesure globale de l'épaisseur du cartilage, sans distinguer les différents compartiments de l'articulation, qui ne sont pas atteints de la même façon lors du développement de la maladie. Enfin, la corrélation entre les mesures par IRM et par histologie est relativement mauvaise, avec une surestimation de l'épaisseur du cartilage par IRM. En effet, la localisation des lésions est très variable à la surface de l'articulation, et l'histologie ne permet de réaliser des mesures que de façon unidimensionnelle, et non en 3 dimensions comme l'IRM. L'analyse histologique a de plus le désavantage de nécessiter un traitement des échantillons qui peut altérer la structure du cartilage (Cole, 1984), notamment la déshydratation des tissus qui entraine leur rétractation, et donc une sous-estimation de l'épaisseur réelle du cartilage. Aussi, les mesures par IRM prennent en compte la hauteur totale de cartilage et ne permettent pas de distinguer le cartilage non calcifié de la couche calcifiée, et le signal des tissus environnants peut parfois brouiller les mesures, notamment à cause d'un épanchement de liquide synovial.

4.2.2.2 L'IRM pour estimer les propriétés biophysiques du cartilage articulaire

La mesure des temps de relaxation T1 et T2 peut servir d'outil de détection des modifications précoces de la structure du cartilage. En effet, ceux-ci dépendent de la composition de la MEC ; le T2 étant surtout influencé par la concentration et l'organisation des fibrilles de collagène, alors que le T1 dépendrait majoritairement de la concentration de la matrice en GAG. Peu d'études portant sur la mesure de ces temps de relaxation ont été réalisées dans l'arthrose chez l'animal. Spandonis *et al.* ont montré une augmentation du T2 dans un modèle de méniscectomie partielle chez le rat, caractéristique de la présence de fibrillations à la surface articulaire, sans modification du T1 (Spandonis et al., 2004). Le T1 étant considéré comme relativement peu informatif, des séquences dérivées du T1 ont été développées, comme notamment la mesure du T1 rho (T1ρ) qui dépend de la densité de proton du tissu. Cette mesure est plus sensible aux interactions entre les molécules d'eau et leur

environnement macromoléculaire proche, c'est-à-dire avec les PG de la MEC. Une étude publiée chez le cochon d'inde (Fenty et al., 2011) montre une modification du temps T1ρ avec le développement d'arthrose, évalué histologiquement par la mesure de l'épaisseur de cartilage. En effet, lors du suivi de l'arthrose avec l'âge, on observe une augmentation du T1ρ alors qu'on note une perte de coloration à la Safranine-O (donc une perte de PG) et une diminution de l'épaisseur du cartilage (figure 30).

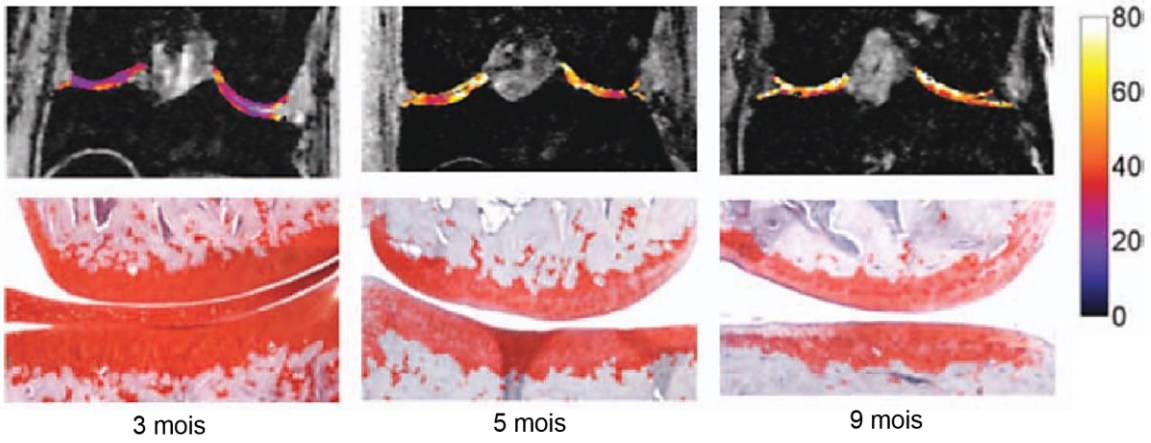


Figure 30 : Images IRM de cartographie du temps de relaxation T1ρ et coloration à la Safranine-O représentatives d'articulations de cochon d'inde Dunkin-Hartley de 3, 5 et 9 mois. L'échelle de couleur à droite représente les valeurs de T1ρ en millisecondes. On note une augmentation du T1ρ, ainsi qu'une perte de coloration de la Safranine-O au cours du vieillissement des animaux (Fenty et al., 2011)

Les performances de l'IRM peuvent être améliorées grâce à l'injection intra-veineuse de produits de contraste, dont le plus communément utilisé est le gadolinium (Gd). Le gadolinium étant toxique, il est utilisé complexé au DTPA (diethylene-triamine-pent-acetate) ($Gd(DTPA)^{2-}$), et de par ses propriétés intrinsèques, il entraîne une diminution du temps de relaxation T1. Cette technique, appelée « delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage » (dGEMRIC), utilise la forte électronégativité du cartilage provenant de la présence de chaines de GAG chargées négativement dans la MEC. Les GAG et le $Gd(DTPA)^{2-}$ étant tous les deux chargés négativement, le complexe de gadolinium pénètrera le cartilage articulaire de façon inversement proportionnelle à la concentration en GAG. Or l'arthrose est associée à une perte de GAG, on observe donc une augmentation de la pénétration du gadolinium dans les zones de dégradation du cartilage, ce qui se manifeste par une diminution du $T1_{Gd}$. La figure 31 montre une

série d'images d'articulations de lapin obtenues par IRM après injection de gadolinium ; on note que le signal du cartilage apparait progressivement après l'injection du produit de contraste (Laurent et al., 2003). L'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle nécessite l'injection d'un agent de contraste dont la pénétration est lente (plusieurs heures).

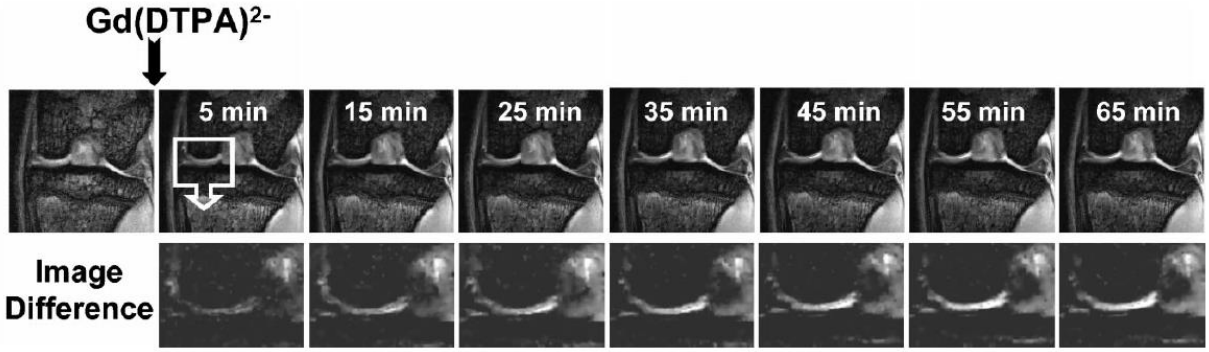


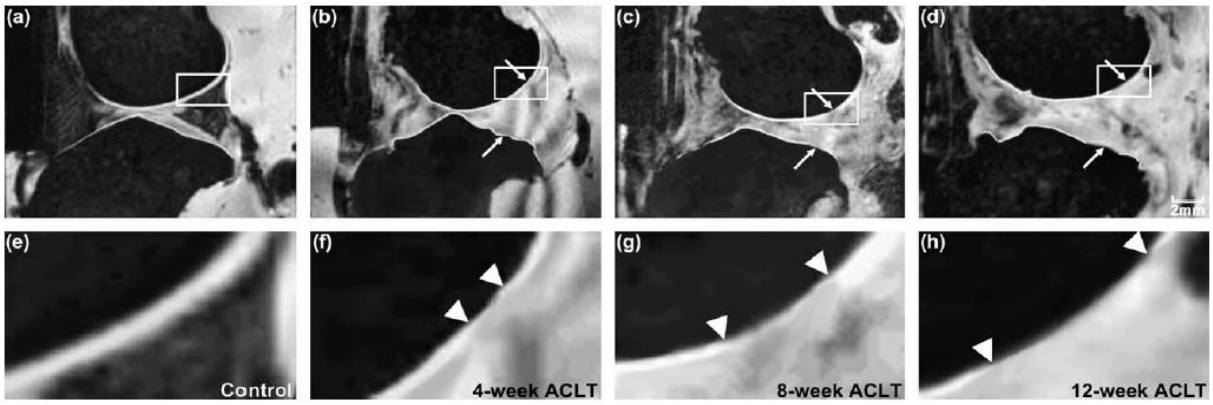
Figure 31 : Images IRM représentatives de la technique de dGEMRIC sur des articulations de lapin. 5 minutes après injection du produit de contraste ($Gd(DTPA)^{2-}$), le signal du cartilage articulaire est faible et augmente progressivement jusqu'à 45 minutes où il atteint un signal maximal (Laurent et al., 2003)

Dans cette même étude, on note une diminution du $T1_{Gd}$ après injection intra-articulaire de papaïne, qui est une enzyme protéolytique dégradant les PG du cartilage. De façon intéressante, l'auteur a aussi montré une diminution du transfert de magnétisation (MT), qui est une technique d'IRM basée sur les interactions et les échanges entre les protons mobiles issus de l'eau libre et ceux liés aux macromolécules, et qui a été démontré comme un bon indice de l'intégrité du réseau de collagène du cartilage. L'injection de papaïne a pour conséquence une diminution du MT, bien qu'elle ne dégrade pas le collagène, ce que l'auteur explique par la diminution de la pression osmotique, due à la perte d'eau liée à la déplétion en PG, qui altère les échanges de magnétisation entre l'eau libre et l'eau liée au collagène. En effet, bien que les différents paramètres obtenus grâce à l'IRM puissent être attribuables spécifiquement à l'un ou l'autre des constituants du cartilage, les phénomènes de dégradation du cartilage (c'est-à-dire des PG et du collagène) ont souvent lieu conjointement, et il est difficile d'évaluer la contribution de chacun sur ces mesures (Burstein, 2006; Wang, 2008).

4.2.2.3 Les autres utilisations de l'IRM

En plus de sa capacité à distinguer le cartilage articulaire, l'IRM permet d'observer l'aspect de toutes les structures environnantes : l'os sous-chondral, la moelle osseuse, la présence d'ostéophytes, les ménisques, la membrane et le liquide synovial, et les ligaments. En effet, en plus de mesurer l'épaisseur et le volume du cartilage, l'IRM permet de distinguer l'intégrité de la surface articulaire de façon qualitative. Il a d'ailleurs été montré une augmentation significative du grade IRM d'arthrose dans un modèle de rupture du LCA chez le lapin, selon l'aspect et la taille des lésions du cartilage, dans les 4 compartiments articulaires (tibia et fémur, médial et latéral) (Figure 32) (Batiste et al., 2004).

A : Coupes IRM d'articulation de lapin en vue sagittale :



B : Scoring IRM :

Grade IRM d'arthrose	Morphologie du cartilage
1	Apparence normale
2	Fibrillations minimes
3	Fibrillations franches, irrégularités de surface ou fissures
4	0 mm < diamètre de la zone d'érosion la plus étendue ≤ 2 mm
5	2 mm < diamètre de zone d'érosion la plus étendue ≤ 5 mm
6	5 mm < diamètre de la zone d'érosion la plus étendue

Figure 32 : IRM d'articulation postérieure de lapin (A) et tableau de scoring IRM d'arthrose (B) chez des lapins ayant subi une rupture du LCA 4, 8 et 12 semaines après induction. L'étendue des lésions fémorales est représentée par les flèches. L'intégrité du cartilage articulaire est évaluée par IRM pour les 4 différents compartiments de l'articulation (tibia et fémur, médial et latéral) (Batiste et al., 2004)

D'autres auteurs ont observé de façon grossière l'articulation dans sa totalité, en évaluant l'aspect des différents tissus impliqués dans la pathologie. La figure 33 montre par exemple des images typiques de lésions que l'on peut observer par IRM, comme la présence d'ostéophytes ou d'érosion du cartilage articulaire.

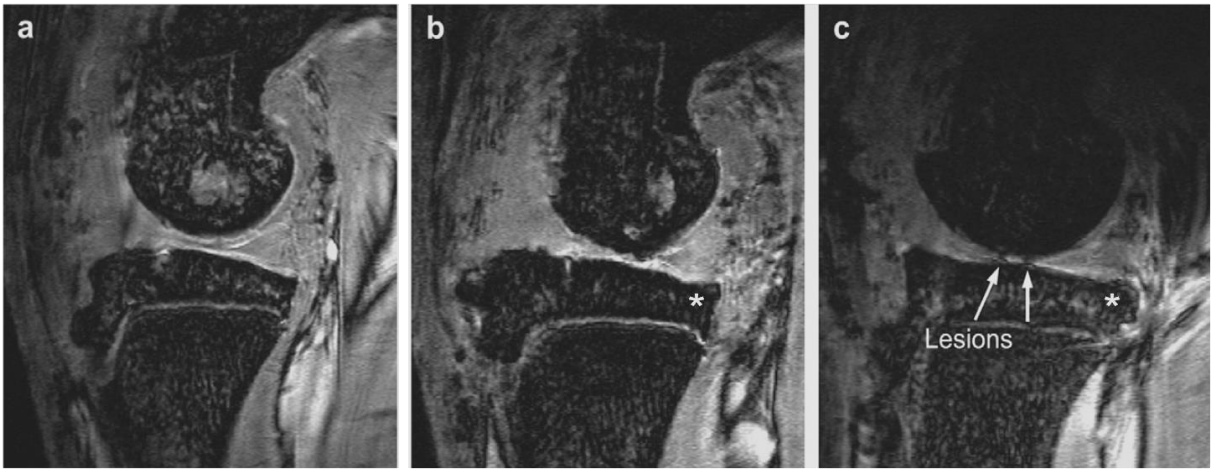


Figure 33 : Images représentatives d'une articulation de cochon d'inde arthrosique par IRM : (A) 45 jours, (C) 90 jours et (D) 135 jours après la ménisectomie. A 45 jours, l'articulation n'apparait pas différente d'une articulation saine, alors que des ostéophytes (*) et une érosion du cartilage tibial apparaissent dès 90 jours (Bolbos et al., 2007)

Wachsmuth *et al.* ont détaillé la présence d'un épanchement synovial, d'ostéophytes et de lésions du cartilage, ainsi que l'aspect des ménisques et des ligaments croisés dans deux modèles d'arthrose chez le lapin (Wachsmuth et al., 2003). Il montrent en effet que la ménisectomie totale ainsi que la rupture du LCA entrainent à la fois une augmentation du signal dans l'articulation et un épanchement de liquide deux semaines après l'intervention, mais aussi une augmentation du signal du cartilage qui apparait moins homogène, ainsi que des anomalies méniscales et la présence d'ostéophytes. De la même façon, une autre étude réalisée cette fois chez le cochon d'inde caractérise différentes modifications de la structure de l'os, du cartilage et des ménisques au cours du développement de l'arthrose (Tessier et al., 2003). Elle montre que l'intensité du signal IRM de l'os diminue avec la sévérité de l'arthrose, avec apparition de kystes osseux, que le signal du cartilage ainsi que des ménisques devient hétérogène, et que la plaque de croissance disparait à l'IRM (tableau XIX).

Age (mois)		3	6	9	12
Os	Intensité du signal du tibia	Fort	Moyen	Faible	Faible
	Kystes	Absents	Plusieurs petits kystes dans la région centrale	Larges kystes dans la zone centrale	Larges kystes dans la zone centrale
Cartilage	Intensité du signal comparée à celle du muscle (médial)	Fort	Non uniforme	Non uniforme	Non uniforme
	Morphologie (médial)	Gonflement localisé	Gonflé	Gonflé avec fragmentations et trous	Gonflé avec fragmentations et trous
	Plaque de croissance	Large et brillante	Apparente	Vestiges	Absente
Ménisques	Antérieur	Sombre	Sombre	Sombre	Sombre
	Postérieur	Brillant	Brillant avec des tâches sombres	Brillant avec des tâches sombres	Brillant avec des tâches sombres

Tableau XIX : Tableau descriptif des modifications de l'aspect des différents tissus de l'articulation dans un modèle d'arthrose spontanée chez le cochon d'inde (Tessier et al., 2003)

4.2.2.4 L'IRM pour évaluer l'efficacité d'un traitement dans l'arthrose

L'IRM offre donc de larges possibilités pour observer l'arthrose de manière non invasive, mais c'est une technique qui est actuellement en plein développement, et très peu d'études ont encore été réalisées pour évaluer le bénéfice d'une molécule dans l'arthrose. Une étude portant sur l'évaluation de l'effet de molécules antirésorptives (bisphosphonates : alendronate et risedronate) et antiinflammatoire (méloxicam) montre par exemple la présence d'un œdème de la moelle osseuse à l'IRM après induction d'arthrose chez le rat, diminué chez les animaux traités au méloxicam, mais inchangé après traitement par les bisphosphonates (Jones et al., 2010).

Plusieurs études ont tenté de démontrer un effet positif de la doxycycline, un antibiotique tétracyclique, dans l'arthrose grâce à l'IRM, dont deux études chez l'animal (Bowyer et al., 2009; Pinney et al., 2011). L'une a été réalisée chez le cochon d'inde vieillissant, lequel a reçu différentes doses (0,6 et 3 mg/kg/jour) de doxycycline grâce à une pompe osmotique, et le volume du cartilage du plateau tibial médial (qui

est le plus souvent touché) a été déterminé par IRM (Bowyer et al., 2009). Cette étude montre une perte de 20,5% du volume du cartilage chez les animaux non traités, et une perte partiellement réversée avec les 2 doses différentes de doxycycline, 8,6% avec la dose faible et 10% pour la dose forte. Les auteurs notent que la perte de cartilage est plus faible avec la dose plus forte, mais elle est plus homogène entre les différents animaux, alors que les résultats avec la dose plus faible sont plus hétérogènes. Ils complètent cette étude en évaluant l'activité de différentes MMPs (1, 8, 9 et 13), qui semblent être inhibées par la doxycycline et qui aurait démontré un effet bénéfique sur le taux de réduction de l'espace articulaire observé à la radiographie dans une étude clinique randomisée, en double aveugle, contre placebo (Brandt et al., 2005). Une seconde étude publiée en 2012 réalisée chez le lapin dont l'arthrose a été induite par rupture du LCA teste l'effet de la doxycycline administrée *per os* grâce à l'IRM (Pinney et al., 2011). Elle montre une augmentation des paramètres IRM T1ρ et T2 trois semaines après induction de l'arthrose, que le traitement par la doxycycline ne permet pas de réverser. L'auteur observe cependant un retour de la valeur des T1ρ et T2 à la normale après ces 3 semaines. Il explique que l'inflammation induite par la chirurgie serait responsable de l'augmentation des 2 paramètres, et que la dégradation des protéines de la matrice (PG et collagène) entrainerait une perte d'eau et donc une diminution des signaux IRM.

L'interprétation et la réalisation d'études précliniques de l'arthrose par IRM sont donc longues et difficiles. En plus de nécessiter un matériel de haute qualité, donc couteux, l'investissement en temps est relativement important, avec en moyenne une heure pour scanner un animal. Ce temps d'acquisition long entraine de plus une anesthésie longue, et donc une probabilité d'effets secondaires importante. La difficulté de ces études est donc d'optimiser la résolution des appareils d'IRM, tout en diminuant les temps d'enregistrement des différents paramètres. Malgré ces inconvénients, on retient tout de même que l'IRM est une des seules techniques actuelles qui permet d'observer le cartilage *in vivo*, et qu'avec les avancées récentes, elle sera probablement de plus en plus utilisée dans les études précliniques car elle offre de larges possibilités pour l'étude du tissu cartilagineux.

4.2.3 La microtomographie à rayon X (micro-CT) *in vivo*

De plus en plus d'études focalisent leur attention sur l'implication de l'os sous-chondral dans l'arthrose. La perte de cartilage pendant le développement de la maladie serait associée à une augmentation de la densité minérale osseuse (cf partie 1). Le micro-CT (µCT) est un appareil à rayon X de haute résolution (de l'ordre du micromètre) qui permet d'observer, en 3D, les structures osseuses impliquées dans l'arthrose. Il a néanmoins le désavantage majeur de ne pas permettre de visualiser les tissus mous, tels que le cartilage articulaire (Piscaer et al., 2008). En figure 34 sont représentées des images typiques d'articulations obtenues grâce à cette technique, en 2D (34A et B), ainsi qu'en reconstruction 3D (34C) (Mohan et al., 2011). Deux techniques seront ici développées, le µCT classique, ainsi que le µCT couplé à l'utilisation de produits de contraste, qui permet de distinguer le cartilage articulaire.

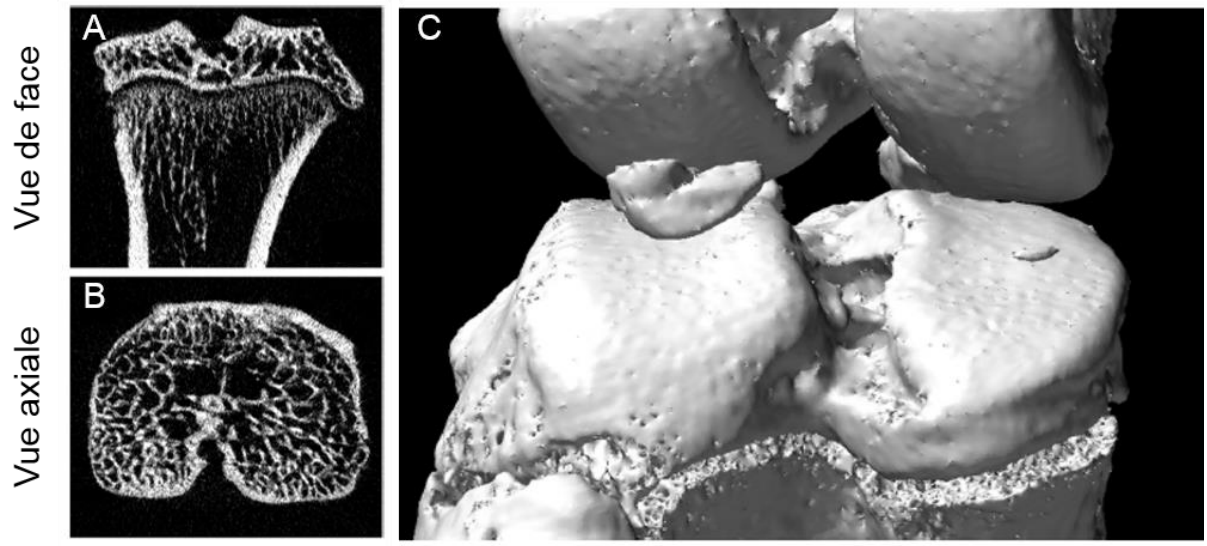


Figure 34 : Images obtenues par micro-CT d'articulations de rat en 2D (A, vue de face, et B, vue axiale) et en 3D (C) (d'après Mohan et al., 2011)

4.2.3.1 Le micro-CT classique

Grâce au µCT, on peut donc observer les structures osseuses normales et pathologiques, telles que la morphologie et l'épaisseur de l'os sous-chondral, la structure des trabécules osseux et la formation d'ostéophytes. Par exemple, dans un modèle d'induction de l'arthrose par injection de MIA chez le rat (Mohan et al., 2011), on peut facilement observer : une sclérose de l'os sous-chondral (figure 35-1-a, b, c),

la présence de lésions ou de kystes osseux (figure 35-2-A et C), d'ostéophytes (figure 35-3-C), ainsi qu'une érosion de l'os sous-chondral (figure 35-4-B). En plus de ces observations qualitatives, le µCT permet également d'évaluer de façon quantitative différents paramètres liés aux structures osseuses, tels que des volumes, surfaces ou épaisseurs d'os. Les paramètres mesurés classiquement sont rassemblés dans le tableau XX.

Paramètre	Signification
BV/TV	Volume osseux par rapport au volume des trabécules
BS/BV	Surface osseuse par rapport au volume des trabécules
Tb.Th	Epaisseur des trabécules osseuses
Tb.Sp	Espacement des trabécules osseuses
Tb.N	Nombre de trabécules osseuses
Pl.Th	Epaisseur de la plaque sous-chondrale
Pl.Po	Porosité de la plaque sous-chondrale
BMD	Densité minérale osseuse

Tableau XX : Paramètres osseux classiquement évalués dans les études sur l'arthrose par micro-CT

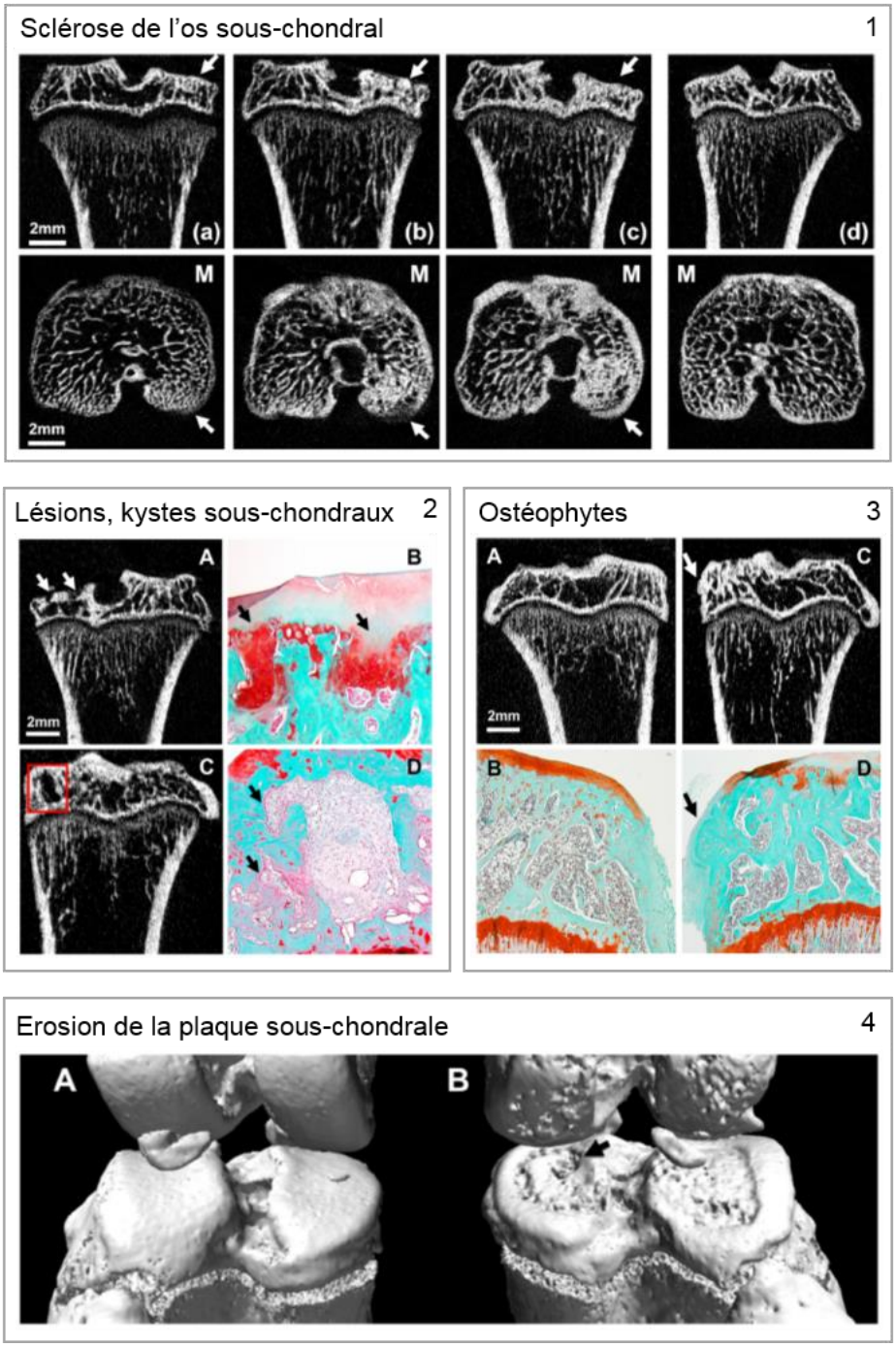


Figure 35 : Exemples de structures osseuses impliquées dans l'arthrose observables grâce au micro-CT dans un modèle d'arthrose chez le rat par injection de MIA. ***1)*** *vues de face et axiales 2 (a), 6 (b), 10 (c) semaines après injection, ainsi que chez un rat contrôle (d) ; la flèche indique une altération de l'architecture osseuse avec condensation de l'os sous-chondral.* ***2)*** *vues de face (A, C) et colorations Safranin-O (B, D) d'un tibia 10 semaines après injection de MIA ; on observe des lésions focales (flèches en A et B) ainsi que de des kystes dans l'os sous-chondral (rectangle rouge en C).* ***3)*** *vues de face (A, C) et colorations Safranine-O (B, D) d'un tibia de rat contrôle (A, B) et 10 semaines après injection de MIA (C, D) ; les flèches indiquent la présence d'ostéophytes.* ***4)*** *reconstruction 3D d'une articulation saine (A) et arthrosique (10 semaines après injection, B) où l'on observe une érosion de la surface osseuse (flèche noire) (d'après Mohan et al., 2011)*

Plusieurs études ont été réalisées dans les 10 dernières années pour décrire les anomalies osseuses associées à l'arthrose grâce au µCT dans différents modèles d'induction de la maladie. Suite à l'injection de collagénase chez la souris (Botter et al., 2011), on observe une perte osseuse précoce, caractérisée par une diminution du volume osseux (BV/TV), de l'épaisseur des trabécules (Tb.Th) et de l'os sous-chondral (Pl.Th), ainsi qu'une augmentation de l'espacement des trabécules (Tb.Sp). Puis, s'ensuit une seconde phase pendant laquelle on constate une augmentation de la formation osseuse, qui signe un remodelage actif de l'os sous-chondral durant la phase chronique de la maladie. A ces phénomènes s'associent des perforations de l'os sous-chondral, visibles grâce au µCT, responsables de communications entre le cartilage et l'os sous-chondral. Une autre équipe a montré le même développement biphasique des anomalies osseuses, notamment chez le rat ayant subi une rupture du LCA associée à une section du ligament méniscal médial (McErlain et al., 2007), où l'auteur note une diminution précoce de la densité minérale osseuse (BMD), suivie d'une augmentation de la BMD, avec néoformation d'os hypominéralisé et de qualité inférieure. Il observe de plus la formation de kystes sous-chondraux, de la même façon qu'Iijima *et al.* dans un modèle de DMM chez le rat (Iijima et al., 2014).

Deux études ont aussi été réalisées chez des animaux spontanément arthrosiques : une chez le cobaye Dunkin-Hartley (Wang et al., 2013), qui, contrairement aux études citées précédemment, décrit une augmentation de la densité osseuse et de l'épaisseur de l'os sous-chondral dans les phases précoces de la maladie (avant l'âge de 3 mois, et avant l'apparition des lésions cartilagineuses) ; et une chez la souris STR/Ort (Stok et al., 2009), montrant une densification de l'os (augmentation de BV/TV, de l'épaisseur des trabécules et de l'os sous-chondral) jusqu'à l'âge de 7 mois, où il y aurait un arrêt de croissance osseuse dû à l'occupation de l'espace par du néo-tissu. Il semble donc y avoir une interaction complexe entre tissu osseux et cartilage articulaire, et la séquence des évènements lors du développement de l'arthrose est pour le moment mal connue.

4.2.3.2 Le micro-CT couplé à un agent de contraste

La technique de µCT classique ne permet pas d'observer le cartilage articulaire, cependant il est possible d'injecter un produit de contraste pour distinguer le cartilage à la surface de l'os. Plusieurs techniques sont actuellement en développement, dont

l'EPIC-µCT (Equilibrium Partitioning of an Ionic Contrast agent) qui est basée sur l'interaction d'un produit de contraste avec les GAG du cartilage, sur le même principe que la technique dGEMRIC. De la même façon que le gadolinium en IRM, l'Hexabrix® (un produit de contraste iodé, l'ioxaglate de méglumine, utilisé chez l'homme pour les arthrographies) étant chargé négativement, sa distribution dans le cartilage sera inversement proportionnelle à celle des GAG. Palmer *et al.* sont les premiers à avoir montré la faisabilité de l'EPIC-µCT *ex vivo* sur un fémur de lapin (Palmer et al., 2006), puis différentes équipes ont évalué la capacité de cette technique à apprécier le cartilage articulaire chez des espèces plus petites. Des études ont été réalisées chez le rat (Xie, Lin, Levenston, & Guldberg, 2008), ainsi que chez la souris (Kotwal et al., 2012), et montrent qu'il est possible de distinguer le cartilage par EPIC-µCT, ainsi que réaliser des mesures de l'épaisseur, la surface et le volume du cartilage (figure 36). Parallèlement à ces études descriptives, cette technique a été utilisée dans des modèles expérimentaux d'arthrose :

- *ex vivo*, dans deux modèles d'arthrose (MIA et ménisectomie) (Thote et al., 2013) : l'injection de MIA résulte en une diminution de l'épaisseur du cartilage et une perte de GAG 3 semaines après induction, alors que les dommages induits par la ménisectomie sont plus localisés et ne sont visibles que dans la partie médiale de l'articulation
- *in vivo* (on parle de µCT-arthrographie) : 2 études ont été réalisées chez le rat, et montrent la possibilité d'observer le cartilage suite à l'injection d'Hexabrix® (Piscaer et al., 2008; Siebelt et al., 2011). Cependant, les limites actuelles de cette technique, telles que la diffusion du produit de contraste hors de l'articulation, et la longue pénétration du produit dans le tissu cartilagineux (Piscaer et al., 2008), expliquent la rareté des études *in vivo* utilisant le µCT couplé à un agent de contraste

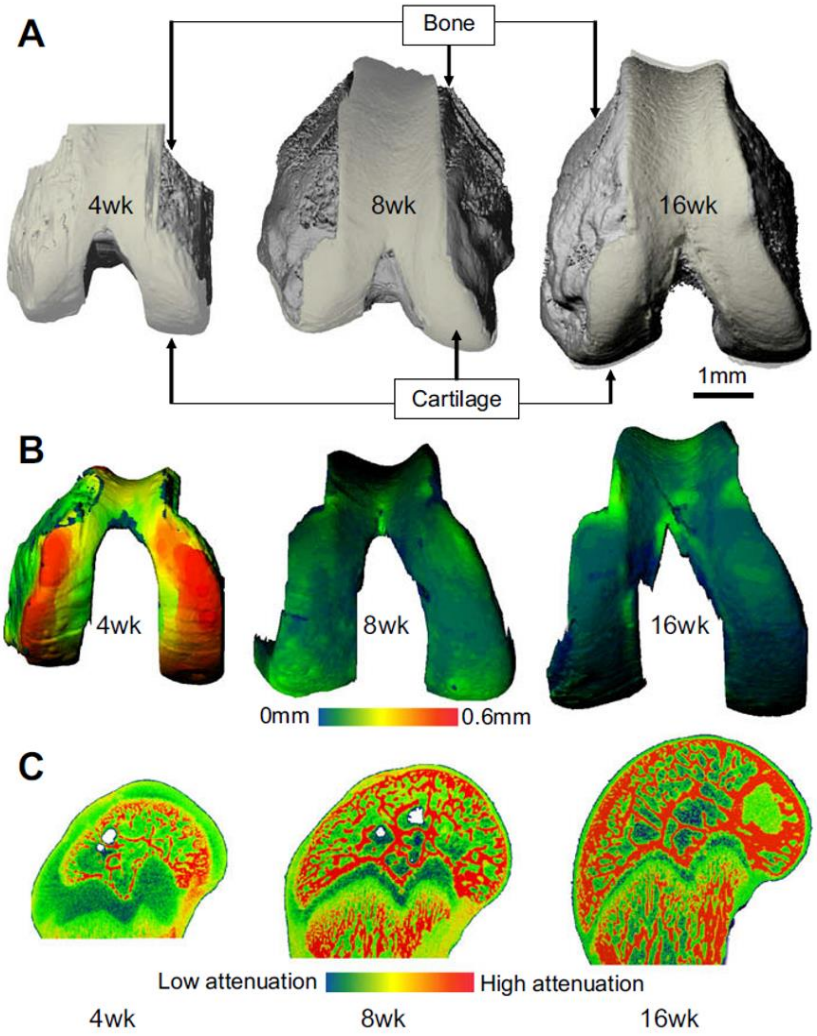


Figure 36 : Evaluation de la morphologie d'un cartilage articulaire chez le rat à différents âges (4, 8 et 16 semaines) par la technique d'EPIC-µCT. (A) Images représentatives de fémurs de rats, où l'on distingue l'os en gris recouvert par le cartilage en blanc. (B) Cartographie de l'épaisseur du cartilage fémoral en fonction de l'âge. (C) Sections sagittales représentatives de fémur, où une faible atténuation du signal signe une forte concentration en GAG, alors qu'une forte atténuation du signal signa une faible concentration en GAG. On remarque que l'épaisseur et le volume du cartilage articulaire diminuent entre 4 et 16 semaines, alors que la surface augmente (Xie et al., 2008)

4.2.3.3 Exemples d'études ayant utilisé le micro-CT dans l'arthrose

L'utilisation du µCT dans les études précliniques sur l'arthrose reste pour le moment limitée à quelques études, car l'implication du tissu osseux dans la maladie est mal connue, et car cette technique n'a été que récemment adaptée pour les études chez le petit animal. L'utilisation des bisphosphonates (alendronate, risédronate), qui sont des inhibiteurs de la résorption osseuse indiqués notamment dans le traitement

de l'ostéoporose, aurait notamment un effet bénéfique sur la perte osseuse associée à l'arthrose. En effet, 2 études chez le rat dont l'arthrose a été induite chimiquement (MIA) (Mohan et al., 2013) ou chirurgicalement (Jones et al., 2010), montrent qu'un traitement par bisphosphonates dans les phases précoces de la maladie, prévient la perte osseuse et la formation d'ostéophytes.

Une des raisons qui explique le faible nombre d'études utilisant le µCT *in vivo*, est la quantité de radiations ionisantes reçues par l'animal dans le cas de scans répétés, comme lors d'une étude longitudinale. Ces radiations peuvent avoir un effet à la fois sur le tissu observé, et sur l'animal en général. Une dose simple d'environ 0,5 Grey n'a pas démontré d'effet délétère sur le tissu osseux, mais des études supplémentaires doivent être réalisées pour évaluer l'effet de doses répétées (Bouxsein et al., 2010). Un autre inconvénient du fait de réaliser des enregistrements chez un animal anesthésié, provient de sa respiration, qui peut entrainer des artefacts sur l'image obtenue. Cette technique nécessite donc encore des mises au point afin de pouvoir l'appliquer au petit animal dans les études précliniques sur l'arthrose.

4.3 Les nouvelles méthodes d'analyse fonctionnelle de l'arthrose : l'analyse de la marche

Parallèlement à ces différentes techniques d'imagerie, de nouvelles méthodes d'évaluation et de suivi de la maladie de façon fonctionnelle ont été développées. Parmi elles, les techniques d'évaluation de la marche sont largement étudiées de nos jours. En effet, il est bien établi que les patients souffrant d'arthrose du genou ont une démarche anormale (Messier, 1994), que des chercheurs ont essayé de modéliser dans des modèles animaux de la maladie. Cette nouvelle technique est particulièrement bien étudiée dans le domaine vétérinaire, notamment chez le chien, avec le développement des plaques de forces pour évaluer les appuis des pattes, et l'analyse des mouvements en 3D grâce à la « capture de mouvements » (motion capture) (Gillette & Angle, 2008). Ces systèmes sont cependant difficilement transposables chez le petit animal comme la souris ; des méthodes alternatives ont donc été développées pour s'adapter à la petite taille des animaux utilisés dans les études précliniques. Le principal appareil utilisé pour étudier la démarche chez l'animal est le système CatWalk®. Il a l'avantage majeur de ne nécessiter aucune contrainte, et de n'engendrer ni douleur ni stress.

4.3.1 Principe du système CatWalk®

Le système CatWalk® est un appareil qui permet d'enregistrer l'empreinte de pattes des petits animaux (souris et rat principalement) grâce à un système de LED couplé à une caméra à haute définition. Il consiste en un couloir posé sur une plaque en verre illuminée par une lampe, associé à une caméra placée sous le couloir (figure 37). L'animal marche librement d'une extrémité à l'autre du couloir, et à chaque contact des pattes avec la plaque de verre, la lumière est réfléchie à travers le verre et enregistrée par la caméra.

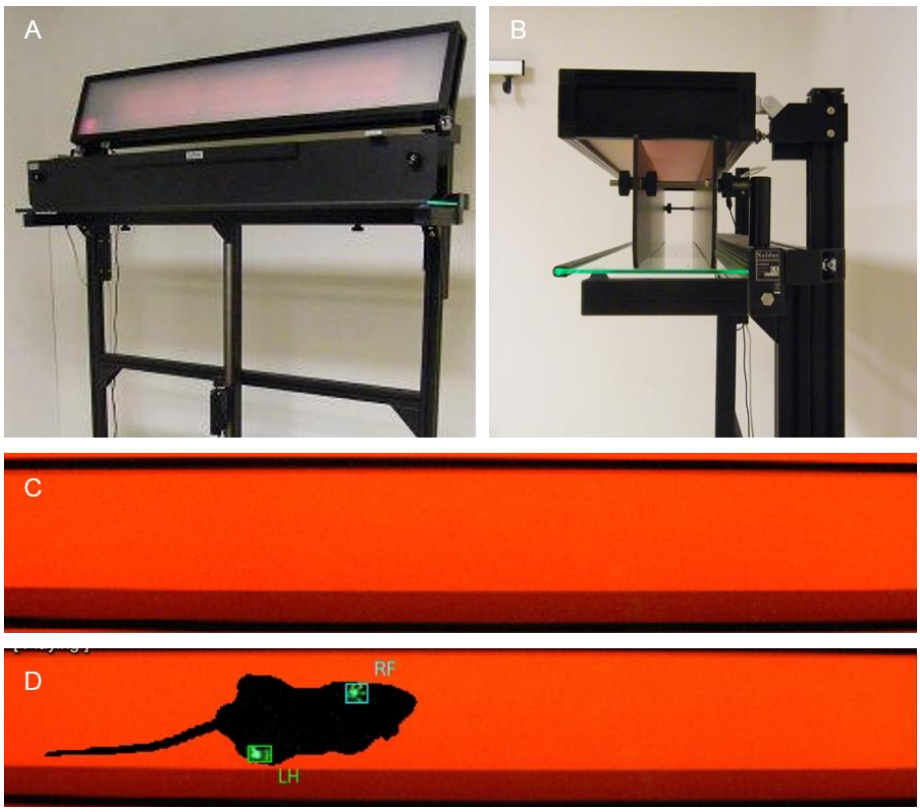


Figure 37 : Le système CatWalk® : vues de face (A) et latérale (B) de l'appareil, et exemples d'enregistrement réalisés par la caméra : couloir vide (C) et lors du passage d'un animal (D)

Avant tout début d'analyse, une période d'entrainement est nécessaire afin d'habituer les animaux à l'appareil, d'habituellement une à deux semaines de façon quotidienne, en laissant l'animal parcourir le couloir librement. Les enregistrements sont ensuite réalisés dans le noir, à intervalles définis par l'expérimentateur. Le système d'analyse associé permet ensuite d'extraire une multitude de paramètres, dont des paramètres de vitesse, d'intensité d'appui ou de temps de contact. On obtient des types d'enregistrements représentés en figure 38.

Initialement, le système CatWalk® a été développé pour être utilisé dans le domaine de la neurologie, notamment pour évaluer l'effet de lésions des nerfs sciatiques ou de la moelle épinière, dans les AVC ou la maladie de Parkinson. Il a récemment été utilisé pour observer et quantifier les anomalies de la marche dans des modèles animaux d'arthrite, caractérisée par une inflammation de l'articulation et se traduisant par une boiterie de l'animal, dès les phases précoces de la maladie (Hoffmann et al., 2010). Plusieurs études ont ensuite adapté l'utilisation du CatWalk® dans des modèles d'arthrose. Celles-ci s'intéressent principalement à l'évaluation de la composante douloureuse de la maladie.

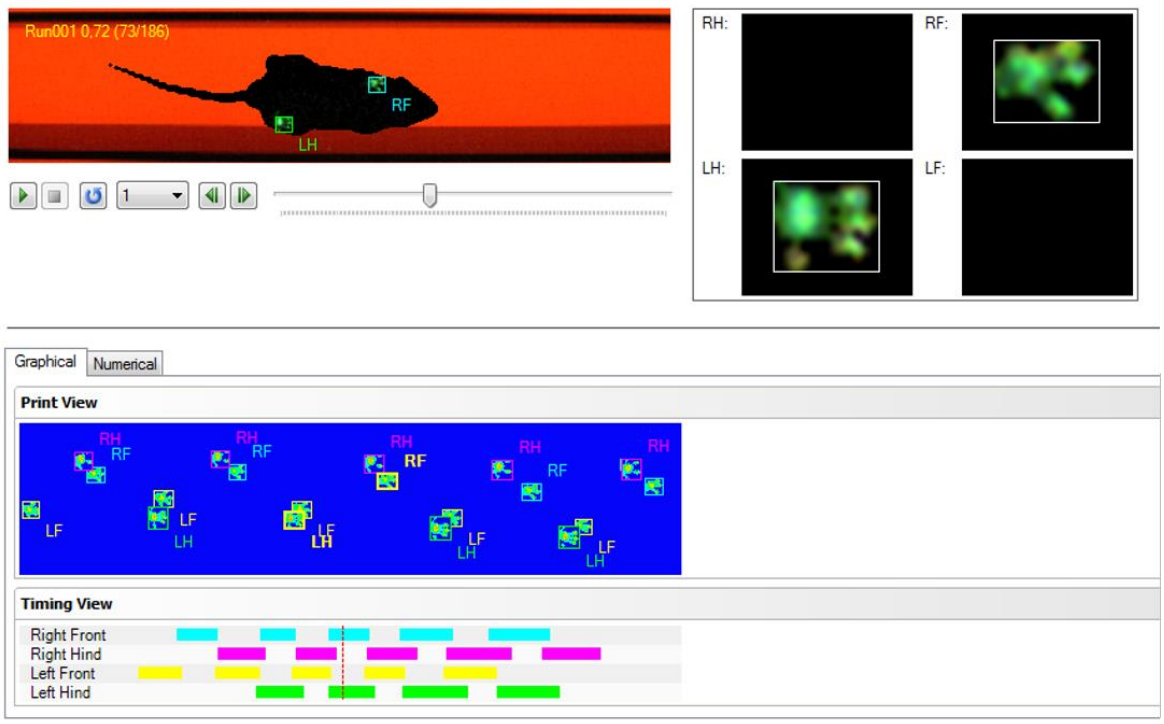


Figure 38 : Exemple d'enregistrement réalisé grâce au système CatWalk® : la souris traverse le couloir de gauche à droite, et le logiciel d'analyse (CatWalk XT® 10.5) permet d'extraire des images de chaque séquence de marche des animaux

Les résultats de ces études varient selon le modèle d'induction de l'arthrose utilisé, c'est-à-dire que les paramètres de marche qui sont modifiés ne sont pas les mêmes dans un modèle aigu, par injection de MIA par exemple, et dans un modèle chronique par déstabilisation chirurgicale de l'articulation. La majorité des études actuellement publiées utilisent le modèle par injection de MIA ou de collagénase, et seules quelques études ont utilisé d'autres modèles (DMM, rupture du LCA, ménisectomie).

4.3.2 Les modèles d'arthrose aigus par injection de MIA ou de collagénase

La majorité de ces études évalue la douleur associée au développement d'arthrose, et s'intéresse donc à l'effet analgésique de différentes molécules. Les premières études de la démarche dans ce modèle indiquent une diminution des appuis verticaux de la patte qui a été injectée avec du MIA, mais ne montrent pas d'altération des autres paramètres du cycle de marche (Clarke et al., 1997). Les études suivantes utilisant le CatWalk® confirment ces résultats, et démontrent une diminution de l'intensité de l'empreinte de la patte atteinte après injection de MIA, maximale 3 jours après injection et significativement réduite jusqu'à 31 jours après (Ferreira-Gomes et al., 2008). Ces données démontrent que dans ce modèle, les animaux arthrosiques minimisent les contacts avec le sol, traduisant la douleur associée au développement de la maladie. Une autre équipe montre cette fois des anomalies du cycle de marche caractéristiques d'une réduction de l'amplitude des mouvements dans le même modèle (Ferland et al., 2010). Elle observe de la même façon un développement biphasique de la maladie, avec une inflammation transitoire de la membrane synoviale, associée à une mort massive des chondrocytes, responsables de douleurs aigues dans les 7 premiers jours, puis une disparition de l'inflammation associée à une dégradation lente du cartilage après deux semaines (Bove et al., 2003).

Ce modèle semble donc particulièrement bien adapté pour des études de courte durée portant sur la douleur et/ou l'inflammation associées à l'arthrose. Différentes équipes ont étudié l'effet de plusieurs analgésiques sur les paramètres de marche évalués par le CatWalk® dans le modèle de MIA, et ont conclu que seuls les opioïdes (morphine, tramadol) et les antalgiques locaux (lidocaïne) ont un effet bénéfique sur ces paramètres après 3 semaines (Ferreira-Gomes et al., 2012; Ishikawa et al., 2014). Les analgésiques non opioïdes (AINS notamment) n'ont pas démontré d'effet significatif dans ce modèle, conformément au fait qu'en dehors de la phase aigüe qui est très inflammatoire, la douleur est résistante aux anti-inflammatoires dans les phases chroniques.

Une autre étude réalisée par la même équipe (Adães et al., 2014) a étudié les modifications de la démarche dans le modèle par injection intra-articulaire de collagénase. Une inflammation aigue est déclenchée dans la première semaine, mais, contrairement au modèle MIA, le développement de l'arthrose est plus lent, avec des premiers signes de dégradation du cartilage au bout de 2 semaines, et une arthrose

modérée 4 semaines après induction. Ces phénomènes se traduisent par des anomalies d'appuis, qui semblent moins importantes que dans le modèle de MIA, ceci étant probablement dû aux différences dans la progression de l'arthrose dans les 2 modèles.

4.3.3 Les modèles d'arthrose par déstabilisation chirurgicale

A la suite des études sur le modèle MIA, plusieurs études ont testé l'hypothèse qu'une arthrose dégénérative, non déclenchée par un processus inflammatoire (comme pour le modèle de MIA), entraine aussi des altérations de la démarche visibles avec le CatWalk®. Les premières études réalisées dans un modèle de DMM (Malfait et al., 2009) et un modèle de rupture du LCA associé à une méniscectomie partielle (Ferland et al., 2010), ne montrent pas de différence sur les paramètres de marche observés respectivement 6 semaines et 1 mois après induction de l'arthrose chez la souris. Cependant, les 2 études concluent que le développement de l'arthrose dans ces modèles est long, et que 4 à 6 semaines d'observation ne suffisent pas pour détecter des anomalies de la marche. Une étude sur 4 mois a ensuite été réalisée et montre des modifications des paramètres de marche dans le modèle DMM à partir de 3 mois après induction (Muramatsu et al., 2014). Cette même étude a de plus évalué l'effet préventif de l'injection intra-articulaire d'acide hyaluronique sur le développement de l'arthrose, et conclut à un effet bénéfique sur la douleur et la mobilité évalués grâce au CatWalk®, mais ne montre pas de diminution du score histologique d'arthrose. L'auteur explique cette discordance par le fait que l'AH prévient la fibrose des ménisques et de la membrane synoviale qui est responsable de contractures, d'où l'amélioration de la fonction et non de la structure. L'effet de la rupture du LCA sur les paramètres de marche a aussi été évalué sur le long cours (Fu et al., 2012), et un « index de paresse d'un membre » (limb idleness index), qui traduit l'effort d'évitement de l'animal à poser une patte, a été développé. Celui-ci se base sur 3 paramètres : le temps entre 2 appuis de la même patte (qui augmente pour éviter de poser la patte), l'intensité de l'appui de la patte opérée (qui diminue) et l'intensité de la patte contra-latérale (qui augmente par phénomène compensatoire), et augmente avec la progression de l'arthrose jusque 6 mois après induction.

4.4 Le dosage de biomarqueurs

Les techniques d'imagerie et d'analyse de la marche, bien que permettant de détecter une arthrose installée, ne permettent pas de détecter les lésions précoces dues à la maladie. En effet, l'arthrose peut être divisée en 3 phases : une longue phase asymptomatique pendant laquelle ont lieu les phénomènes initiateurs de la dégradation du cartilage et de l'os, une phase « pré-radiographique » où l'on observe les premiers signes de destruction du cartilage articulaire, et une phase « radiographique », récalcitrante aux traitements, caractérisée par la dégénérescence des tissus articulaires associée à des douleurs et une perte de fonction (Kraus et al., 2011). L'idée a donc été de trouver des biomarqueurs sanguins, urinaires ou synoviaux, relargués dans les phases aigues de l'arthrose. Il n'existe, pour le moment, aucun biomarqueur spécifique de l'arthrose, même si de nombreuses corrélations ont été montrées dans la littérature.

Un des obstacles principaux à la détection de ces marqueurs est le type d'échantillon à analyser. En effet, le prélèvement de liquide synovial nécessite une ponction articulaire, qui est parfois difficile à réaliser (notamment s'il n'y a pas d'épanchement) et n'est pas réalisé en routine. Par ailleurs, les concentrations retrouvées dans les urines sont très faibles donc nécessitent des techniques très sensibles (Lotz et al., 2013).

D'autre part, les marqueurs retrouvés dans le sang et l'urine ne sont pas le reflet d'une seule articulation, mais de l'organisme dans sa totalité, et pas seulement des phénomènes articulaires. La contribution du disque intervertébral (qui est aussi un tissu cartilagineux) est, par exemple, non négligeable car il subit une dégénérescence spontanée avec l'âge. De plus, les taux de ces marqueurs peuvent être influencés par des facteurs confondants, comme l'âge, le sexe, l'IMC, le rythme circadien, l'effort physique et par d'autres pathologies squelettiques (comme l'ostéoporose) ou systémiques, et d'éventuelles médications. Le dosage d'une combinaison de marqueurs, représentatifs de différents aspects de la maladie (cartilage, os, membrane synoviale), semble donc indispensable pour la détection des stades précoces de la maladie (Kraus et al., 2011).

Les différents biomarqueurs candidats de l'arthrose peuvent être divisés en 3 classes selon leur origine : les biomarqueurs du métabolisme du cartilage, du métabolisme osseux et du métabolisme de la membrane synoviale (tableau XXI).

4.4.1 Les biomarqueurs du métabolisme du cartilage

Les marqueurs du métabolisme du collagène :

Lors du développement de l'arthrose, les fibrilles de collagène de type II sont dégradées par les MMPs, ce qui conduit à la destruction de la MEC et à la perte des propriétés physiques du cartilage. Etant donné l'abondance du collagène II dans le cartilage, la présence de ses métabolites dans le liquide synovial, le sérum et l'urine, semblent être un bon marqueur prédictif de la progression de la maladie. Différents marqueurs du métabolisme du collagène II ont été identifiés lors du développement de l'arthrose : d'une part, des marqueurs de la synthèse de collagène, et d'autre part des marqueurs de la dégradation du collagène, représentés en figure 39.

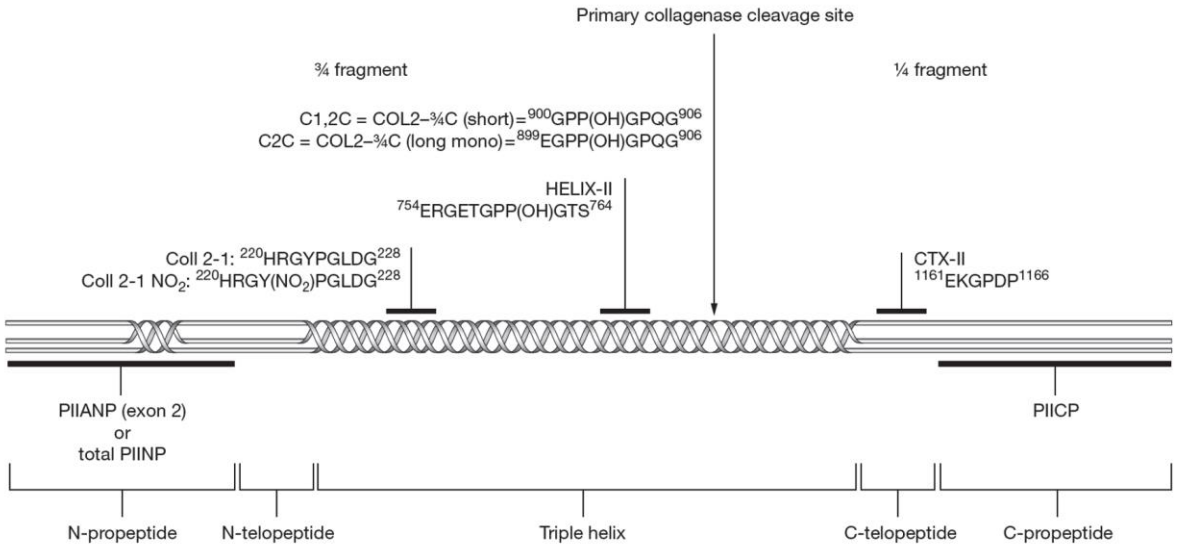


Figure 39 : Localisation schématique des différents épitopes du pro-collagène de type II, servant de biomarqueurs de la synthèse et de la dégradation du collagène II lors du développement de l'arthrose. Les MMPs clivent la triple hélice en 2 fragments de ¼ et ¾ de la taille complète de la fibrille. Plusieurs sites spécifiques représentés sur le schéma permettent la détection des produits de synthèse ou de dégradation du collagène II dans les fluides biologiques (Rousseau & Delmas, 2007)

Lors de la synthèse des fibrilles de collagène, les pro-peptides en C- et en N-terminal (C-propeptide du collagène de type II (PIICP) et N-propeptides du collagène de type IIA et II (PIIANP et PIINP)) sont relargués dans les fluides biologiques, ces marqueurs permettent dont de suivre la néo-synthèse de collagène II au cours de

l'arthrose. Des études ont montré une augmentation du C-propeptide dans le sérum et le liquide synovial chez les patients arthrosiques, traduisant une tentative de réparation du tissu, cependant, la corrélation avec les N-propeptides sériques n'est pas nette (Elsaid & Chichester, 2005; Tabassi & Garnero, 2007).

Lors de la dégradation de la triple hélice de collagène, les MMPs libèrent 2 fragments d'une taille d'environ ¼ et ¾ de la taille de la fibre complète. Différents épitopes générés par ce clivage peuvent être reconnus dans le fragment N-terminal : un épitope commun aux collagènes I et II (C1,2C), ainsi qu'un autre spécifique du collagène II (C2C), un peptide de 9 acides aminés des hélices α du collagène II (Coll 2-1) et sa forme nitrosylée (Coll 2-1 NO_2), et une séquence dans la partie hélice du fragment appelée HELIX-II. Dans le fragment C-terminal, une séquence de petite taille appelée le C-télopeptide du collagène II (CTX-II) a été identifiée dans l'urine et plusieurs études ont montré une corrélation avec l'arthrose. En effet, de par sa petite taille, il est filtré par le rein et concentré dans l'urine. Ces différents marqueurs sont retrouvés de manière plus importante dans différents fluides biologiques, et de nombreuses études tentent de démontrer une corrélation avec le développement de la maladie (Elsaid & Chichester, 2005; Rousseau & Delmas, 2007).

<u>Les marqueurs du métabolisme de l'agrécane :</u>

De même que le collagène II, l'agrécane est rapidement dégradé lors de l'arthrose, par les ADAMTS principalement, mais aussi par les MMPs. Un épitope en 846 sur une des chaines de chondroïtine sulfate, ainsi que le kératane sulfate sont retrouvés dans les liquides biologiques (sérum, liquide synovial). Trois néo-épitopes en N-terminal ont également été détectés chez les patients arthrosiques : les séquences ARGS, FFGV et TEGE. Cependant, peu d'études ont été réalisées, et la présence d'enzymes dégradant l'agrécane dans le sérum et l'urine limite l'utilisation de ces marqueurs (Tabassi & Garnero, 2007).

<u>Les autres protéines non collagéniques</u> :

Des protéines non collagéniques autres que l'agrécane sont retrouvées en quantité supérieure dans le sérum, l'urine ou le liquide synovial de patients

arthrosiques, telles que COMP, la pentosidine (un marqueur du stress oxydatif), les différentes protéases de la MEC (MMPs, ADAMTS et TIMPs), et la glycoprotéine 39 (YKL-40) (glycoprotéine secrétée par le chondrocyte, et par les synoviocytes) (Lotz et al., 2013; Rousseau & Delmas, 2007).

Marqueur	Source
Métabolisme du collagène	
Marqueurs de la synthèse de collagène	
C-propeptide du collagène de type II (PIICP)	Sérum, liquide synovial
N-propeptides du collagène de type IIA (PIIANP) et du collagène II total (PIINP)	Sérum
Marqueurs de la dégradation du collagène	
Néo-épitope issu du clivage des collagènes I et II (C1,2C)	Sérum, urine, liquide synovial
Produit de clivage du collagène II (C2C)	Sérum, urine, liquide synovial
Epitope des hélices α du collagène II (Coll 2-1) et sa forme nitrosylée (Coll 2-1 NO_2)	Sérum, urine
Néo-épitope des hélices α du collagène II (HELIX-II)	Sérum, urine
C-télopeptide du collagène II (CTX-II, TIINE)	Urine, liquide synovial
Métabolisme de l'agrécane	
Epitope 846 de la chondroïtine sulfate	Sérum, liquide synovial
Néo-épitopes N-terminaux de l'agrécane (ARGS, FFGV, TEGE)	Sérum, liquide synovial
Kératane sulfate	Sérum
Autres protéines non collagéniques	
COMP	Sérum, liquide synovial
Protéases (MMPs 1, 3, 9, 13, ADAMTS et TIMPs)	Sérum, liquide synovial
Advanced glycation endproducts (pentosidine)	Sérum, urine
Glycoprotéine 39 (YKL-40)	Sérum

Tableau XXI : Biomarqueurs caractéristiques du métabolisme du cartilage articulaire

4.4.2 Les biomarqueurs du métabolisme osseux

L'os sous-chondral étant aussi atteint lors du développement de l'arthrose, certaines études ont cherché à démontrer la présence des métabolites du collagène I, le collagène principal du tissu osseux, dans les liquides biologiques (télo- et

propeptides du collagène I (CTX-1, NTX-1, PINP)). Certains auteurs montrent une augmentation de ces marqueurs chez les patients arthrosiques, cependant, leur utilisation est limitée car reflète le renouvellement du tissu squelettique du corps entier (Elsaid & Chichester, 2005).

4.4.3 Les biomarqueurs du métabolisme de la membrane synoviale

Plusieurs marqueurs spécifiques de la dégradation de la membrane synoviale ont été retrouvés en quantité plus importante lors de l'arthrose. L'excrétion urinaire de la glucosyl-galactosyl-pyridinoline, une protéine spécifique de la membrane synoviale, est par exemple augmentée, ainsi que la concentration de YKL-40 dans le sérum et le liquide synovial. De la même façon, des concentrations d'acide hyaluronique importantes ont été observées dans le sérum de patients arthrosiques (Rousseau & Delmas, 2007).

PARTIE 4 : EXEMPLE D'UNE ETUDE PRECLINIQUE UTILISANT DEUX METHODES NON INVASIVES POUR EVALUER L'ARTHROSE *IN VIVO* CHEZ L'ANIMAL

Cette dernière partie sera consacrée à un exemple d'une étude qui a été réalisée au cours de mon master 2, au sein du Laboratoire d'Ingénierie Ostéoarticulaire et Dentaire (LIOAD) (INSERM UMRS_791) de Nantes, en collaboration avec un industriel (Royal Canin), dont le but était de développer un nouveau traitement préventif de l'arthrose chez le chien. Pour cela, il nous a été demandé de réaliser une étude préclinique chez le petit animal afin d'évaluer l'effet d'un mélange de molécules naturelles sur la progression de l'arthrose par une approche non invasive. En raison de considérations éthiques strictes de la part de l'industriel, dont les exigences furent de ne pas utiliser d'animaux opérés ou génétiquement modifiés, ou des méthodes invasives, nous avons choisi un modèle d'arthrose spontanée, la souris C57BL/6 vieillissante (Stanescu et al., 1993), ainsi que 2 méthodes d'évaluation de la progression de la maladie : une analyse structurelle par radiologie, et une analyse fonctionnelle de la marche grâce au système CatWalk®.

1. Matériel et Méthodes

Animaux : Trois groupes de souris C57BL/6 mâles (Charles River Laboratories, France) ont été utilisés dans cette étude, dont la répartition est la suivante :

Groupe	Traitement	Age (début de l'étude)	Nombre d'animaux
Contrôle	Régime normal	6 mois	15
Arthosique non traité	Régime normal	18 mois	15
Arthrosique traité	Régime enrichi	18 mois	15

Un groupe de 15 souris de 6 mois a été comparé à un groupe de 15 souris de 18 mois, dans le but de valider les méthodes utilisées pour évaluer l'arthrose dans ce modèle. Ce dernier groupe de souris a été comparé à un autre groupe de 15 souris de 18 mois, qui a reçu un régime enrichi en un mélange composé d'un extrait de thé vert (Naturex, Avignon, France) (300 mg/kg), de collagène hydrolysé (Fortigel®, Gelita, Allemagne)

(1000 mg/kg) et d'une combinaison de chondroïtine sulfate associée à 5% de glucosamine sulfate (200 mg/kg). Le groupe non traité a été nourri avec le même régime de base non enrichi par les extraits (régime RM1, SDS, DIETEX, France). Cette étude a été réalisée avec l'accord du Comité d'Ethique en Expérimentation Animale Pays de la Loire (CEEA-PdL) et du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR).

Radiographie : Des radiographies des pattes postérieures (vues de face et vues latérales) ont été réalisées grâce à un appareil de radiographie MX-20 DC-12 (Faxitron Bioptics LLC, Arizona, USA) avec les paramètres suivants : 26 kV, 7 secondes d'exposition et grossissement x3. Les souris ont été anesthésiées par injection intra-péritonéale d'un mélange de 75 mg/kg de Kétamine (Ketamine 1000®, Virbac, France) et 5 mg/kg de Xylazine (Rompun®, Bayer, France). Des images ont été prises au début de l'étude, puis 4 mois après, afin d'évaluer les dommages structurels dans l'articulation. Un score leur a ensuite été attribué à l'aveugle par 2 lecteurs, grâce à un système de scoring de l'arthrose chez la souris que nous avons développé au laboratoire (Tableau XXII), et basé sur des études précédentes (Evans et al., 1994; Pataki et al., 1987; Pataki et al., 1990; Sarukawa et al., 2010). En effet, nous avons ajouté aux critères classiquement étudiés (ostéophytes, sclérose de l'os sous-chondral, hauteur de l'espace articulaire et calcifications), la mesure de la surface des ménisques, car il a été montré une corrélation positive entre la taille des ménisques et la sévérité de l'arthrose (établie par analyse histologique) (Pataki et al., 1990).

Surface des ménisques médial et latéral (M)	Moins de 2,8 mm²	0
	Entre 2,8 et 4,6 mm²	1
	Plus de 4,6 mm²	2
Nombre d'ostéophytes (OF)	Aucun	0
	Un	1
	Plusieurs	2
Sclérose de l'os sous-chondral (SS)	Aucune	0
	Faible à modérée	1
	Modérée à élevée	2
Hauteur de l'espace articulaire (JS)	Normale	0
	Réduite	1
Calcifications (C)	Aucune	0
	Une	1
	Plusieurs	2
	Total	9

Tableau XXII : Critères radiologiques évalués pour scorer l'arthrose chez la souris. Le score total d'arthrose est considéré comme : 0-1 = normal, 2-3 = léger, 4-5 = moyen, 6-7 = sévère, 8-9 = extrême.

Analyse de la marche : l'analyse de la marche des souris a été réalisée grâce au système CatWalk® (Noldus Information Technology, Pays-Bas), de même que les radiographies au début de l'étude et 4 mois après. Les animaux ont pu marcher librement d'une extrémité à l'autre du couloir, et une période d'entrainement quotidienne de 7 jours a précédé les enregistrements, afin d'obtenir des enregistrements fiables.

Etude histologique : Trois souris de 6 mois et 3 souris de 18 mois ont été euthanasiées par inhalation de CO_2, afin de récupérer les articulations postérieures pour analyses histologiques. Ces souris nous ont permis de valider l'apparition d'arthrose dans ce modèle. Les échantillons ont été fixés dans du paraformaldéhyde 4% 48h, décalcifiés à l'EDTA (Ethylène Diamine Tetraacetic Acid) 0,5M 2 à 4 semaines à 4°C, puis inclus en paraffine et coupés en fines sections, pour être finalement colorés par une coloration Safranin-O, qui identifie les GAG et PG caractéristiques du cartilage articulaire.

2. Résultats

2.1 Validation de la souris C57BL/6 âgée de 18 mois comme modèle d'arthrose

Ce modèle n'ayant été que rarement utilisé auparavant, nous avons tout d'abord voulu vérifier que les souris de 18 mois développent bien de l'arthrose, en les comparants à des souris de 6 mois, qui n'ont pas encore développé la maladie. Pour cela, nous avons réalisé des coupes histologiques, que nous avons comparé à des radiographies prises des mêmes articulations (figure 40). Des sections colorées à la Safranin-O sont représentées en figure 40A, B, D et E. Les figures 40A et B sont représentatives d'une articulation de souris de 6 mois ; le cartilage articulaire est coloré en rouge, donc riche en PG, et les ménisques sont de taille normale. En revanche, les coupes d'articulations de souris de 18 mois (figure 40D et E) montrent un élargissement des ménisques (flèche rouge en figure 40D), ainsi qu'une perte de coloration, qui reflète une perte de MEC, voire une érosion complète du cartilage articulaire (flèche noire en figure 40E). Les radiographies des mêmes articulations (figure 40C et F) montrent un élargissement important et une déformation des ménisques chez les souris de 18 mois (flèche rouge), ainsi qu'une sclérose de l'os sous-chondral (flèche blanche), la formation d'ostéophytes et des calcifications des ligaments (visibles en figure 41A).

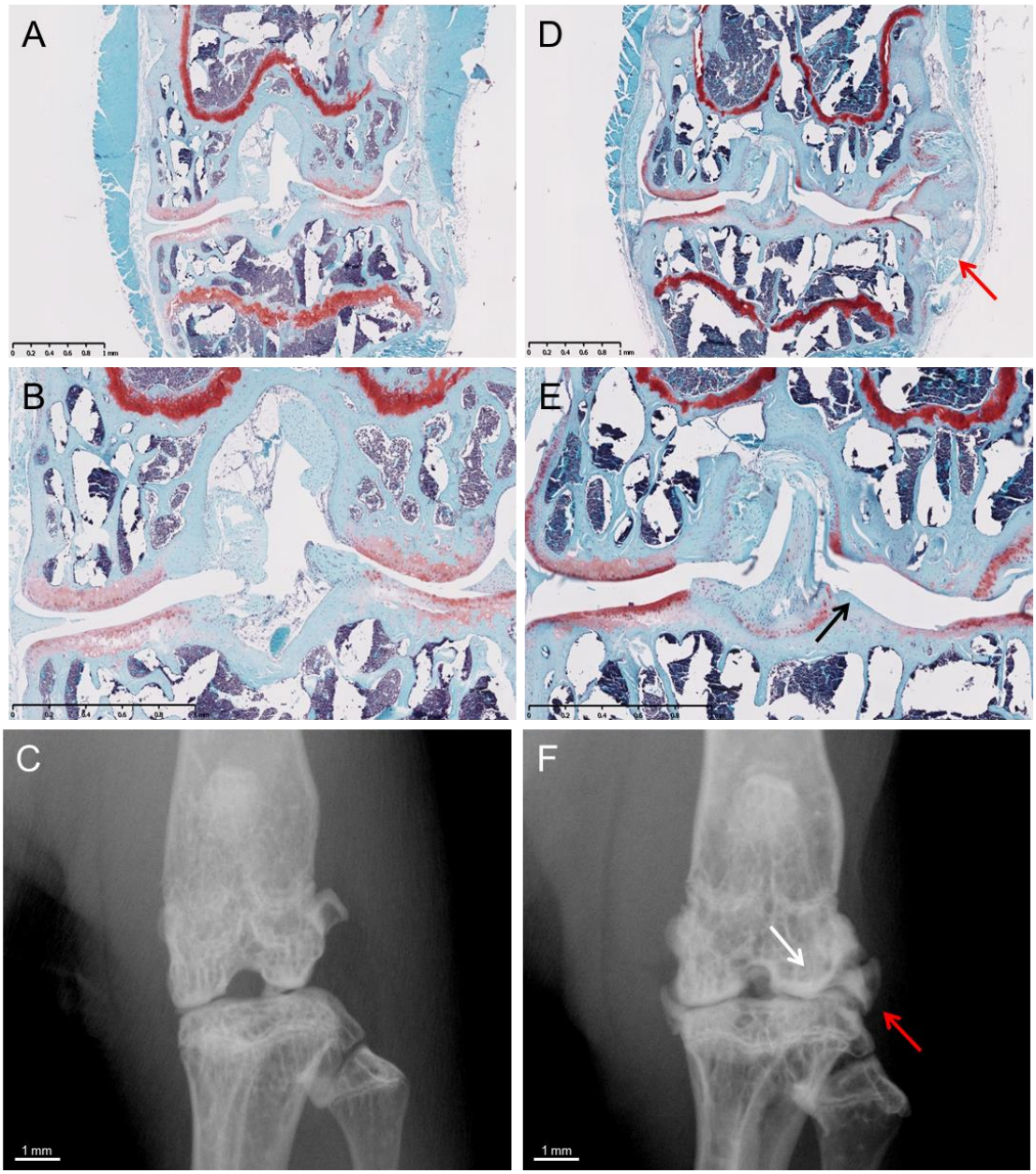


Figure 40 : Sections histologiques frontales d'articulations de souris C57BL/6 colorées à la Safranin-O, et radiographies correspondantes. A-B-C = souris de 6 mois ; D-E-F = souris de 18 mois. Les flèches rouges indiquent un élargissement des ménisques, la flèche noire l'érosion du cartilage articulaire, et la flèche blanche la sclérose de l'os sous-chondral

2.2 Validation des méthodes non invasives utilisées pour évaluer la progression de l'arthrose

L'utilisation de la radiographie et du CatWalk® n'ayant jamais été validée chez la souris C57BL/6 vieillissante, nous avons d'abord réalisé une étude longitudinale du score radiologique d'arthrose et des paramètres de marche évalués par le CatWalk® chez des souris à différents âges (6, 10, 18 et 22 mois).

Etude radiologique : Des images radiologiques représentatives des articulations postérieures des souris pour chaque score radiologique sont rassemblées en figure 41A. Le scoring de chacune des articulations nous a permis d'observer une diminution globale des scores 0-1 entre 6 et 22 mois, et une augmentation des scores 2-3 avec l'âge. Les scores 4-5 et 6-7 augmentent à 18 mois et à 22 mois, alors que les scores 8-9 ne sont détectés que chez les souris de 22 mois (figure 41B). Nous avons de plus caractérisé l'évolution de chaque critère radiologique dans les différents groupes de souris, et on observe une augmentation de chacun des paramètres avec l'âge (figure 41C).

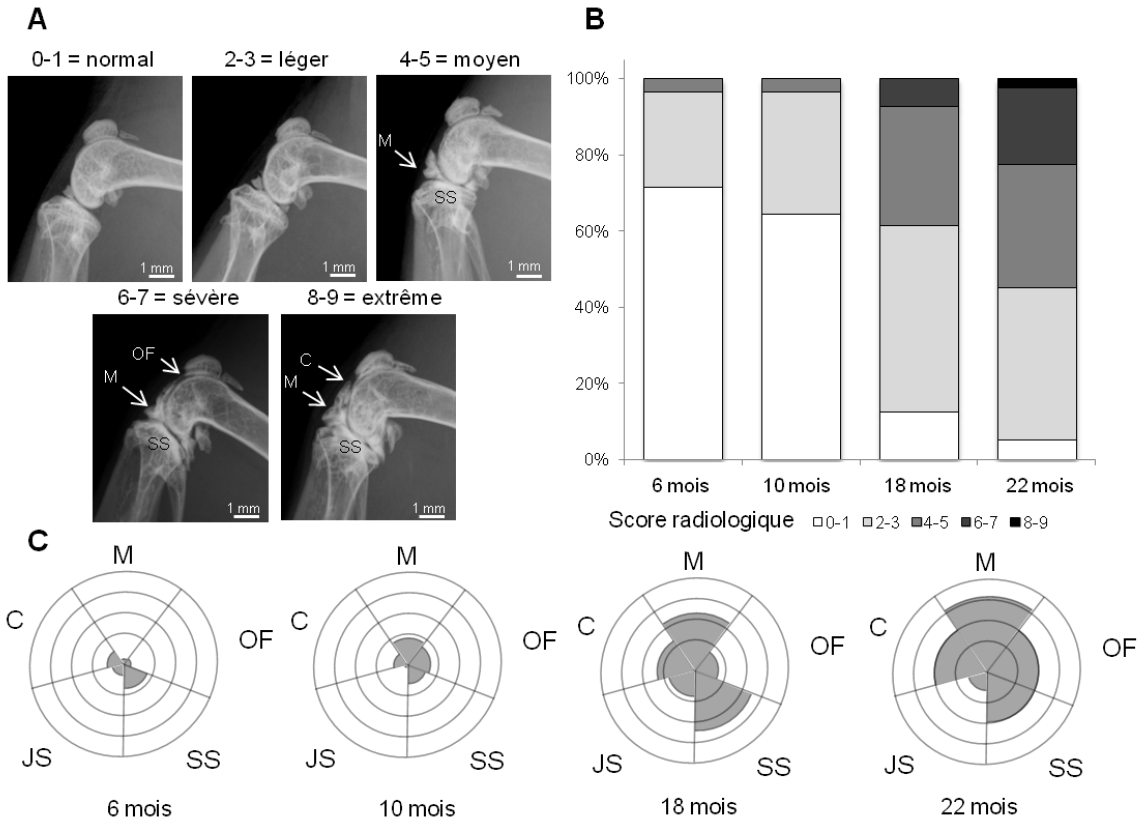
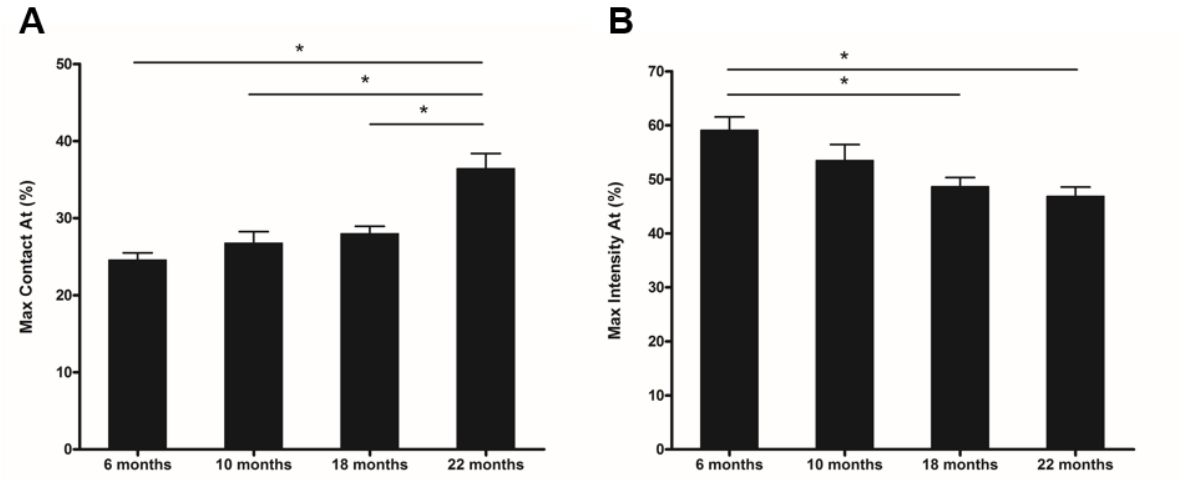


Figure 41 : Analyse radiologique de la progression de l'arthrose chez la souris C57BL/6 mâle vieillissante. (A) Radiographie représentatives de chaque score radiologique. (B) Scores radiologiques déterminés pour chaque groupe de souris (6, 10, 18 et 22 mois). (C) Evolution de chaque critère radiologique avec l'âge : ménisques (M), ostéophytes (OF), sclérose de l'os sous-chondral (SS), hauteur de l'espace articulaire (JS) et calcifications (C)

Etude de la démarche : L'analyse de la démarche avec le système CatWalk® a été réalisée chez les souris de 6 mois et les souris de 18 mois au début de l'étude afin d'identifier les paramètres affectés dans ce modèle d'arthrose. Le logiciel est capable

de générer une cinquantaine de paramètres, dont 2 ont été significativement modifiés dans notre modèle d'arthrose : Max Contact At (%), qui augmente avec l'âge et qui représente le temps, dans la phase de contact avec la plaque, au bout duquel la phase de freinage se transforme en phase de propulsion (figure 42A) ; et Max Intensity At (%), qui diminue avec l'âge et représente le temps, depuis le début de l'enregistrement, au bout duquel l'intensité maximum est mesurée (figure 42B). L'évolution de ces paramètres démontre que les pattes des souris âgées/arthrosiques restent plus longtemps en contact avec la plaque et avec plus d'intensité.



*<u>Figure 42</u> : Paramètres de la démarche de souris C57BL/6 de 6 et 18 mois évalués grâce au système CatWalk®. Deux paramètres sont statistiquement modifiés dans ce modèle : Max Contact At (%) (A) et Max Intensity At (%) (B). * = p<0.05 (ANOVA suivi d'un test post-hoc Student-Newman-Keuls)*

2.3 Evaluation de l'effet anti-arthrosique du mélange *in vivo*

<u>Etude radiologique</u> : La figure 43A montre que les scores radiographiques d'arthrose ne sont pas statistiquement différents au début de l'étude (souris de 18 mois) entre les 2 groupes de souris. Cependant, après 4 mois de traitement, le score radiographie des articulations des souris non traitées augmente significativement, indiquant une dégradation de l'articulation, alors que le score chez les souris traitées n'augmente pas, suggérant un ralentissement de la progression de l'arthrose dû au traitement. En effet, on observe une diminution significative du score radiographie entre les souris de 22 mois traitées par rapport aux souris non traitées.

Etude de la marche : Le système CatWalk® n'a pas révélé de différence significative entre les 2 groupes de souris au début de l'étude (souris de 18 mois) pour les 2 paramètres évalués (figure 43B et C). Néanmoins, bien que le paramètre Max Contact augmente chez les souris traitées et non traitées, cette augmentation est moins importante chez les souris traitées, et sa valeur est statistiquement différente de celle des souris non traitées (figure 43B). En revanche, le traitement n'a pas montré d'effet significatif sur le paramètre Max Intensity (figure 43C). Ces résultats nous montrent que cette technique peut révéler des différences de certains paramètres de la marche entre des souris de 6 mois, qui n'ont pas encore développé d'arthrose, et de 18 mois avec une arthrose modérée, mais qu'il est plus difficile de révéler des modifications subtiles de la marche, comme c'est le cas dans cette étude. Un traitement plus long aurait peut-être permis de détecter des différences significatives sur un plus grand nombre de paramètres.

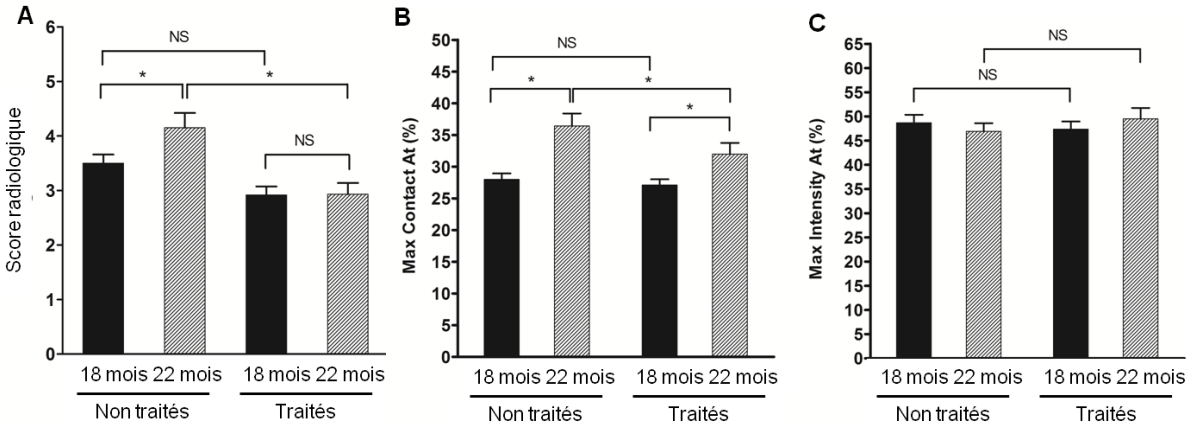


*Figure 43 : Effet du traitement sur le score radiologique d'arthrose des souris C57BL/6 vieillissantes (A), et sur les paramètres évalués par le CatWalk® : le Max Contact At (B) et la Max Intensity (C). Les histogrammes noirs représentent les souris au début de l'étude, et les hachurés à la fin de l'étude. * = p<0.05 (ANOVA suivi d'un test post-hoc Student-Newman-Keuls)*

3. Conclusion

Ce travail démontre qu'il est possible de réaliser un suivi longitudinal du développement de l'arthrose chez la souris grâce à des méthodes non invasives, telles que la radiologie et l'analyse de la marche, d'une manière proche de la clinique humaine. Ces techniques sont de plus tout à fait utilisables dans des études précliniques pour évaluer l'effet d'une molécule sur la progression de la maladie.

CONCLUSION

Les mécanismes impliqués dans le développement de l'arthrose, bien qu'extensivement étudiés, ne sont aujourd'hui pas totalement élucidés. Maintenant qu'il est admis que la maladie touche les différents tissus de l'articulation et pas seulement le cartilage articulaire, différents axes thérapeutiques se sont développés face à l'absence de traitements permettant de stopper la progression de la maladie. Parmi elles, l'utilisation de molécules naturelles comme traitement préventif semble prometteuse, de par leur efficacité sur le long terme et leur innocuité (Ameye & Chee, 2006). En effet, la chondroïtine et la glucosamine, bien qu'ayant fourni des résultats conflictuels dans les études cliniques, ont montré un effet bénéfique dans le ralentissement de la progression de la maladie *in vitro* et *in vivo* (Henrotin et al., 2014), et font partie des recommandations actuelles de l'EULAR et l'OARSI pour la prise en charge de l'arthrose. Les acides gras insaturés, le collagène hydrolysé et différents polyphénols (curcumin, resveratrol, épigallocatéchine gallate) ont aussi démontré des effets bénéfiques dans l'arthrose, mais aucune donnée clinique n'est actuellement disponible permettant de recommander l'utilisation de ces composés (Henrotin et al., 2010). Un autre argument pour le développement de ces thérapeutiques est le coût des traitements actuels, notamment de la chirurgie de remplacement. La mise en place de recommandations alimentaires, pour les polyphénols par exemple qui sont présents en grande quantité dans différents aliments, pourrait représenter une alternative préventive au développement de l'arthrose.

Parallèlement, les méthodes de suivi de la progression de la maladie chez le petit animal dans les études précliniques sont également en plein essor. Bien qu'informative, la radiographie classique reste peu utilisée de nos jours, et des méthodes d'imagerie plus puissantes sont activement étudiées, telles que l'IRM et le microscanner. Ces méthodes, qui ont initialement été testées *ex vivo* sur organes entiers, ont ensuite été mises au point pour étudier l'arthrose *in vivo* chez animal conscient. L'utilisation d'agents de contraste permet de plus d'en améliorer les performances, mais le coût du matériel et l'investissement en temps restent les inconvénients majeurs de ces techniques. L'analyse de la marche semble une approche prometteuse, car permet un suivi longitudinal de la progression de la maladie, sans aucune contrainte pour l'animal. Enfin, le dosage de biomarqueurs

permettrait de détecter l'arthrose dans ses phases précoces. L'ensemble de ces méthodes suscite un grand intérêt en recherche préclinique, car sont directement utilisables, voire utilisées dans les études cliniques chez l'homme. L'association des différentes techniques dans les mêmes études pourrait permettre de suivre finement la progression de la maladie, et apprécier l'effet d'un nouveau traitement candidat.

ANNEXES

ANNEXE 1 : INDICE WOMAC (Bellamy et al., 1988)

NOM : _____ DATE : _____

	Aucune = 0	Minime = 1	Modérée = 2	Sévère = 3	Extrême = 4
Domaine douleur : quelle est l'importance de la douleur ?					
1 – Lorsque vous marchez sur une surface plane ?					
2 – Lorsque vous montez ou descendez les escaliers ?					
3 – La nuit, lorsque vous êtes au lit ?					
4 – Lorsque vous vous levez d'une chaise ou vous vous asseyez ?					
5 – Lorsque vous vous tenez debout ?					
Domaine raideur : quelle est l'importance de la raideur de votre articulation ?					
1 – Lorsque vous vous levez le matin ?					
2 – Lorsque vous bougez après vous être assis, couché ou reposé durant la journée ?					
Domaine fonction : quelle est l'importance de la difficulté que vous éprouvez à :					
1 – Descendre les escaliers ?					
2 – Monter les escaliers ?					
3 – Vous relever de la position assise ?					
4 – Vous tenir debout ?					
5 – Vous pencher en avant ?					
6 – Marcher sur un terrain plat ?					
7 – Entrer et sortir d'une voiture ?					
8 – Faire vos courses ?					
9 – Enfiler vos collants ou chaussettes ?					
10 – Sortir du lit ?					
11 – Enlever vos collants ou chaussettes ?					
12 – Vous étendre sur le lit ?					
13 – Entrer ou sortir d'une baignoire ?					
14 – Vous asseoir ?					
15 – Vous asseoir ou vous relever des toilettes ?					
16 – Faire le ménage « à fond » ?					
17 – Faire le ménage quotidien ?					

SCORE TOTAL = _____

ANNEXE 2 : INDICE ALGO-FONCTIONNEL DE LEQUESNE (Lequesne, 1991)

NOM : _____ DATE : _____

Douleur ou gêne	La nuit	Non	0
		En mouvement ou dans certaines positions	1
		Immobile	2
	Lors du dérouillage matinal	Moins d'une minute	0
		1 à 15 minutes	1
		Plus de 15 minutes	2
	Station debout	Non	0
		Oui	1
	A la marche	Non	0
		Seulement après une certaine distance	1
		Très rapidement, de façon croissante	2
	Pour se relever d'un siège sans aide	Non	0
		Oui	1
Périmètre de marche maximale	Non limité		0
	Limité, mais supérieur à 1 km		1
	Environ 1 km (soit 15 minutes)		2
	500 à 900 m		3
	300 à 500 m		4
	100 à 300 m		5
	Moins de 100 m		6
	Avec une canne ou une béquille		1
	Avec 2 cannes ou béquilles		2
Activités quotidiennes	Monter un étage	0 = pas de difficultés 0,5 à 1,5 = avec difficultés 2 = impossible	0 à 2
	Descendre un étage		0 à 2
	S'accroupir		0 à 2
	Marcher en terrain irrégulier		0 à 2

TOTAL = _____

ANNEXE 3 : QUESTIONNAIRE DE GENOU KOOS (Roos et al., 1998)

DATE : _____ DATE DE NAISSANCE : _____
NOM : _____

INSTRUCTIONS :

Ce questionnaire vous demande votre opinion sur votre genou. Il nous permettra de mieux connaître ce que vous ressentez et ce que vous êtes capable de faire dans votre activité de tous les jours.
Répondez à chaque question. Veuillez cocher une seule case par question. En cas de doute, cochez la case qui vous semble la plus adaptée à votre cas.

Symptômes :

Ces questions concernent vos symptômes au cours des **huit derniers jours.**

S1. Est-ce que votre genou gonfle ?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Tout le temps
☐	☐	☐	☐	☐

S2. Ressentez-vous des ou entendez-vous des craquements ou n'importe quel autre type de bruit en bougeant le genou ?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Toujours
☐	☐	☐	☐	☐

S3. Est-ce que votre genou accroche ou se bloque en bougeant ?

Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Toujours
☐	☐	☐	☐	☐

S4. Pouvez-vous étendre votre genou complètement ?

Toujours	Souvent	Parfois	Rarement	Jamais
☐	☐	☐	☐	☐

S5. Pouvez-vous plier votre genou complètement ?

Toujours	Souvent	Parfois	Rarement	Jamais
☐	☐	☐	☐	☐

Raideur :

Ces questions concernent la raideur de votre genou au cours des **huit derniers jours**. La raideur est la sensation d'avoir du mal à bouger le genou.

S6. Le matin au réveil, la raideur de votre genou est :

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

S7. Après être resté(e) assis(e), couché(e), ou au repos pendant la journée, la raideur de votre genou est :

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

Douleur :

P1. Avez-vous souvent mal au genou ?

Jamais	Une fois par mois	Une fois par semaine	Tous les jours	Tout le temps
☐	☐	☐	☐	☐

Au cours des **huit derniers jours,** quelle a été l'importance de votre douleur du genou en faisant les activités suivantes ?

P2. En tournant, pivotant sur votre jambe

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P3. En étendant complètement le genou

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P4. En pliant complètement le genou

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P5. En marchant sur un terrain plat

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P6. En montant ou en descendant les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P7. Au lit la nuit

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P8. En restant assis(e) ou couché(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

P9. En restant debout

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

Fonction, vie quotidienne :

Les questions suivantes concernent ce que vous êtes capable de faire. Au cours des **huit derniers jours**, quelle a été votre difficulté pour chacune des activités suivantes ?

A1. Descendre les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

2. Monter les escaliers

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A3. Vous relever d'une position assise

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A4. Rester debout

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A5. Vous pencher en avant pour ramasser un objet

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A6. Marcher sur un terrain plat

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A7. Monter ou descendre de voiture

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A8. Faire vos courses

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A9. Mettre vos chaussettes ou vos collants

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A10. Sortir du lit

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A11. Enlever vos chaussettes ou vos collants

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A12. Vous retourner ou garder le genou dans la même position en étant couché(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A13. Entrer ou sortir d'une baignoire

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A14. Rester assis(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A15. Vous asseoir ou vous relever des toilettes

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A16. Faire de gros travaux ménagers (déplacer des objets lourds, récurer les sols,…)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

A17. Faire des petits travaux ménagers (faire la cuisine, faire la poussière,…)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

Activités, sport et loisirs :

Les questions suivantes concernent ce que vous êtes capable de faire au cours d'autres activités. Au cours des **huit derniers jours**, quelle a été votre difficulté pour les activités suivantes ?

SP1. Rester accroupi(e)

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

SP2. Courir

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

SP3. Sauter

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

SP4. Tourner, pivoter sur votre jambe

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

SP5. Rester à genoux

Absente	Légère	Modérée	Forte	Extrême
☐	☐	☐	☐	☐

Qualité de vie :

Q1. Pensez-vous souvent à votre problème de genou ?

Jamais	Une fois par mois	Une fois par semaine	Tous les jours	Tout le temps
☐	☐	☐	☐	☐

Q2. Avez-vous modifié votre façon de vivre pour éviter les activités qui pourraient aggraver votre problème de genou ?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Totalement
☐	☐	☐	☐	☐

Q3. Est-ce qu'un manque de confiance dans votre genou vous gêne ?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Totalement
☐	☐	☐	☐	☐

Q4. Finalement, êtes-vous gêné(e) par votre genou ?

Pas du tout	Un peu	Modérément	Beaucoup	Totalement
☐	☐	☐	☐	☐

MERCI BEAUCOUP D'AVOIR REPONDU A CE QUESTIONNAIRE

ANNEXE 4 : 10 RECOMMANDATIONS DE L'EULAR POUR LA PRISE EN CHARGE DE LA GONARTHROSE (Jordan et al., 2003)

1 – La prise en charge de l'arthrose doit inclure des traitements pharmacologiques et non pharmacologiques

2 – Le traitement de la gonarthrose doit être adapté en fonction :

(a) des facteurs de risque locaux (obésité, activité physique, contraintes mécaniques)

(b) des facteurs de risque généraux (âge, comorbidités, polymédication)

(c) de l'intensité des douleurs et du handicap

(d) de la présence de signes inflammatoires (tels que des épanchements)

(e) de la localisation et la sévérité des atteintes structurales

3 – Le traitement non pharmacologique de la gonarthrose doit comprendre une éducation régulière, la pratique d'une activité sportive, l'utilisation d'aides techniques (cannes, semelles, atèles) et un contrôle du poids

4 – Le paracétamol est l'antalgique de premier choix, et, s'il est efficace, doit être préféré pour une utilisation au long terme

5 – L'utilisation de topiques (AINS, capsaïcine) est efficace et non toxique

6 – Les AINS doivent être réservés aux patients non répondeurs au paracétamol. Chez les patients avec un risque d'atteinte gastro-intestinale (lié à l'utilisation d'AINS sur de longues durées), les AINS non sélectifs associés à des protecteurs gastriques, ou les AINS sélectifs de COX-2 doivent être préférés

7 – Les analgésiques opioïdes, associés ou non avec le paracétamol, sont des alternatives intéressantes pour les patients chez lesquels les AINS sont contre-indiqués, inefficaces et/ou mal tolérés

8 – Les AASALs par voie orale (glucosamine, chondroïtine sulfate, insaponifiables d'avocat et de soja, diacéréine, acide hyaluronique) ont un effet bénéfique symptomatique et auraient un effet structurel

9 – Les injections intra-articulaires de corticoïdes à longue durée d'action sont indiquées en cas de poussées douloureuses, notamment en cas d'épanchement

10 – L'arthroplastie (pose de prothèse de genou) doit être considérée chez les patients ayant des signes radiologiques d'arthrose, des douleurs réfractaires aux traitements et un handicap

ANNEXE 5 : 25 RECOMMANDATIONS DE L'OARSI SUR LA PRISE EN CHARGE DE LA GONARTHROSE ET LA COXARTHROSE (Zhang et al. 2007; Zhang et al. 2008)

Recommandation générale :

1 – Associer des moyens non pharmacologiques et pharmacologiques

Traitements non pharmacologiques :

2 – Informer et éduquer le patient sur l'importance des traitements non pharmacologiques (changement de style de vie, exercices, perte de poids, décharge articulaire)

3 – Contacter régulièrement les patients par téléphone améliore leur état

4 – La kinésithérapie peut être utile pour réduire la douleur et améliorer la fonction

5 – Réaliser des exercices réguliers, un renforcement musculaire et entretenir la mobilité articulaire. Des exercices en piscine peuvent être utiles pour la coxarthrose.

6 – Perdre du poids pour les patients en surpoids

7 – Utiliser des aides à la marche (cannes, déambulateurs) pour réduire la douleur

8 – Utiliser une genouillère chez les patients gonarthrosiques ayant une instabilité pour réduire la douleur, améliorer la stabilité et diminuer le risque de chute

9 – Prodiguer des conseils de chaussage. Pour l'arthrose du genou, des semelles peuvent réduire la douleur et améliorer la marche

10 – Appliquer de la chaleur ou du froid (thermothérapie) sur l'articulation

11 – La neurostimulation électrique transcutanée (TENS) peut aider à contrôler la douleur à court terme chez certains patients

12 – L'acupuncture peut avoir un bénéfice symptomatique dans l'arthrose du genou

Traitements pharmacologiques :

13 – Le paracétamol (maximum 4 g/jour) est le traitement antalgique *per os* de première intention pour les douleurs légères à modérées

14 – Les AINS doivent être prescrits à la dose minimale efficace, et leur utilisation au long cours doit être évitée. Chez les patients avec un risque de lésions gastro-intestinales, un agent sélectif de COX-2 ou non sélectif associé à un protecteur gastrique (inhibiteur de la pompe à protons IPP, ou misoprostol) peut être envisagé. Les AINS doivent être utilisés avec précaution chez les patients à risque cardiovasculaire

15 – Dans l'arthrose du genou, les AINS et la capsaïcine topiques peuvent être une alternative efficace aux AINS et antalgiques oraux

16 – Les injections intra-articulaires de corticoïdes (infiltrations) peuvent être utilisées pour des douleurs répondant mal aux autres traitements et en cas d'épanchement ou d'inflammation locale du genou

17 – Les injections d'acide hyaluronique peuvent être utiles ; elles ont un effet retardé mais prolongé par rapport aux corticoïdes

18 – La glucosamine et/ou la chondroïtine sulfate peuvent procurer un bénéfice symptomatique dans la gonarthrose. Sans réponse après 6 mois de traitement, celui-ci doit être arrêté.

19 – Dans l'arthrose du genou, les sulfates de glucosamine et de chondroïtine peuvent avoir des effets structuraux, la diacéréine aurait des effets dans la coxarthrose

20 – L'utilisation d'opioïdes faibles peut être envisagée pour les douleurs réfractaires au traitement ou en cas de contre-indication. Les opiacés forts ne doivent qu'être utilisés exceptionnellement pour les douleurs sévères. Les traitements non pharmacologiques doivent être poursuivis et la chirurgie envisagée

Traitements chirurgicaux :

21 – Le remplacement prothétique doit être proposé aux patients n'ayant pas obtenu d'amélioration par l'association de traitements non pharmacologiques et pharmacologiques, et handicapés dans leur vie quotidienne malgré les traitements conservateurs

22 – Une prothèse unicompartimentale de genou est efficace chez les patients atteints d'arthrose du genou limitée à un seul compartiment

23 – L'ostéotomie et autres chirurgies conservatrices doivent être envisagées chez le sujet coxarthrosique jeune, surtout en cas de dysplasie. Chez le jeune actif gonarthrosique avec atteinte unicompartementale, l'ostéotomie tibiale haute retarde la pose d'une prothèse articulaire d'une dizaine d'années

24 – Le lavage articulaire et le débridement arthroscopique sont controversés dans l'arthrose du genou, certaines études suggérant un effet placebo important

25 – L'arthrodèse peut être une procédure de sauvetage en cas d'échec de la prothèse de genou

ANNEXE 6 : LISTE DES SPECIALITES PRESCRITES DANS LA PRISE EN CHARGE DE L'ARTHROSE (DOROSZ, 2014)

Famille	DCI	Spécialités	Posologie (adulte)
ANALGESIQUES PERIPHERIQUES			
Paracétamol	Paracétamol Remb 65%	Doliprane® Dolko® Efferalgan® Claradol® Expandox® Dafalgan® Geluprane® Paralyoc®	500 mg à 1 g x 1 à 4 fois/jour (espacées de 6h)
ANTI-INFLAMMATOIRES NON STEROÏDIENS			
Arylcarboxyliques	Diclofénac Liste II – Remb 65%	Voltarène® Voltarène LP® Flector®	75 à 150 mg/jour 75 à 150 mg/jour 150 mg/jour
	Diclofénac + Misoprostol Liste I – Remb 15%	Artotec®	75 à 150 mg/jour
	Acéclofénac Liste II – Remb 65%	Cartrex®	200 mg/jour
	Flurbiprofène Liste II – Remb 65%	Cébutid® Cébutid LP® Antadys®	100 à 300 mg/jour 200 mg/jour 200 à 300 mg/jour
	Ibuprofène Liste II – Remb 65%	Advil® Antarène® Brufen® Nureflex® Spifen®	1200 à 1600 mg/jour (jusqu'à 2400 mg/jour)
	Nabumétone Liste I – Remb 65%	Nabucox®	1 à 2 g/jour
	Kétoprofène Liste II – Remb 65%	Bi-profénid® Profénid® Profénid LP® Ketum® Ketum LP®	100 à 200 mg/jour 100 à 200 mg/jour 200 mg/jour 100 à 200 mg/jour 100 à 200 mg/jour
	Alminoprofène Liste II – Remb 65%	Minalfène®	600 à 900 mg/jour
	Naproxène Liste II – Remb 65%	Apranax® Naprosyne®	500 à 1100 mg/jour
	Etodolac Liste II – Remb 65%	Lodine®	200 à 600 mg/jour
	Acide tiaprofénique Liste II – Remb 65%	Flanid® Surgam®	300 à 600 mg/jour

Anthraniliques ou fénamates	Acide niflumique Liste II – Remb 65%	Nifluril®	750 à 1500 mg/jour
Coxibs	Célécoxib Liste I – Remb 65%	Célébrex®	200 à 400 mg/jour
	Etoricoxib Liste I – Remb 65%	Arcoxia®	30 à 60 mg/jour
Oxicams	Meloxicam Liste I – Remb 65%	Mobic®	7,5 à 15 mg/jour
	Piroxicam Liste I – Remb 65%	Feldène® Brexin® Cycladol®	10 à 40 mg/jour
	Ténoxicam Liste I – Remb 65%	Tilcotil®	10 à 20 mg/jour
Indoliques	Indométacine Liste I – Remb 65%	Indocid® Chrono-indocid®	50 à 200 mg/jour 75 à 150 mg/jour
	Sulindac Liste I – Remb 65%	Arthrocine®	200 à 400 mg/jour
ANALGESIQUES OPIOÏDES FAIBLES			
Codéine	Codéine Liste I – Remb 65%	Dicodin LP®	60 à 120 mg/jour
	Codéine + Paracétamol Liste I – Remb 65%	Efferalgan-codéine® Paracétamol-codéine® Dafalgan-codéine®	1 à 2 comprimés 1 à 3 fois/jour
Tramadol	Tramadol Liste I – Remb 65%	Contramal® Topalgic®	50 à 400 mg/jour
	Tramadol + Paracétamol Liste I – Remb 65%	Ixprim® Zaldiar®	1 à 2 comprimés jusque 4 fois/jour
ANTIARTHROSIQUES D'ACTION LENTE (AASALS)			
Chondroïtine sulfate ou acide chondroïtine sulfurique	Chondroïtine sulfate ou acide chondroïtine sulfurique	Chondrosulf® Remb 15% Structum®	1200 mg/jour 1000 mg/jour
Diacérhéine	Diacérhéine Liste I – Remb 15%	Art® Zondar®	100 mg/jour
Glucosamine	Glucosamine Liste II – Remb 15%	Dolenio® Flexea® Osaflexan® Structoflex® Voltaflex®	1178 mg/jour 1250 mg/jour 1178 mg/jour 1250 mg/jour 1250 mg/jour

Insaponifiables d'huile d'avocat et de soja	Insaponifiables d'huile d'avocat et de soja – Remb 15%	Piasclédine®	300 mg/jour
ANTI-INFLAMMATOIRES LOCAUX : CORTICOÏDES EN INFILTRATION			
Suspensions microcristallines Liste I – Remb 65%	Bétaméthasone	Célestène chronodose® Diprostène®	0,5 ml à 2 ml espacés de 7 à 21 jours (1,5 à 6 mg) 0,25 ml à 2 ml espacés de 21 à 30 jours (1,75 à 14 mg)
	Triamcinolone	Hexatrione LD®	0,25 ml à 2 ml espacés de 30 jours minimum (5 à 80 mg)
Suspensions acqueuses Liste I – Remb 65%	Cortivazol	Altim®	0,5 ml à 1,5 ml espacés de 7 à 21 jours (1,25 à 3,75 mg)
	Méthylprednisolone	Dépo-Médrol®	0,1 ml à 2 ml espacés de 7 à 21 jours (4 à 80 mg)
	Prednisolone	Hydrocortancyl 2,5%®	0,5 ml à 2 ml espacés de 7 à 21 jours (12,5 à 50 mg)
	Triamcinolone	Kénacort-Retard®	0,25 ml à 2 ml espacés de 21 à 30 jours (10 à 80 mg)
Solutés hydrosolubles Liste I – Remb 65%	Bétaméthasone	Célestène® Betnesol®	0,5 ml à 2 ml espacés de 3 à 21 jours (2 à 8 mg) 0,5 ml à 2 ml espacés de 3 à 21 jours (2 à 8 mg)
FLUIDES VISCO-ELASTIQUES – VISCO-INDUCTION			
Hyaluronate de sodium	Hyaluronate de sodium Dispositifs médicaux Prise en charge LPPR-remboursement forfaitaire pour 3 injections	Adant® Arthrum H® Euflexxa® Hyalgan® Orthovisc® Sinovial® Ostenil® et Ostenil mini® Structovial® Suplasyn® Synvisc® et Synvisc one® Durolane®	1 injection/semaine x 3 semaines maximum (sauf Durolane® et Synvisc one®: 1 injection unique)

BIBLIOGRAPHIE

Abramson, S. B. (2008). Nitric oxide in inflammation and pain associated with osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *10 Suppl 2*, S2.

Adães, S., Mendonça, M., Santos, T. N., Castro-Lopes, J. M., Ferreira-Gomes, J., & Neto, F. L. (2014). Intra-articular injection of collagenase in the knee of rats as an alternative model to study nociception associated with osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *16*(1), R10.

Aigner, T., Cook, J. L., Gerwin, N., Glasson, S. S., Laverty, S., Little, C. B., … Kraus, V. B. (2010). Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. *Osteoarthritis and Cartilage*, *18 Suppl 3*, S2–6.

Aigner, T., & Stöve, J. (2003). Collagens--major component of the physiological cartilage matrix, major target of cartilage degeneration, major tool in cartilage repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *55*(12), 1569–1593.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). *Cell Junction and the Extracellular Matrix*. *Molecular Biology of the Cell* (6th ed.). Elsevier Current Trends.

Ameye, L. G., Aria, D., Jepsen, K., Oldberg, A. K. E., Xu, T., & Young, M. F. (2002). Abnormal collagen fibrils in tendons of biglycan/fibromodulin-deficient mice lead to gait impairment, ectopic ossification, and osteoarthritis. *The FASEB Journal*, *16*(7), 673–680.

Ameye, L. G., & Chee, W. S. S. (2006). Osteoarthritis and nutrition. From nutraceuticals to functional foods: a systematic review of the scientific evidence. *Arthritis Research & Therapy*, *8*(4), R127.

Archer, C. W., & Francis-West, P. (2003). The chondrocyte. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *35*(4), 401–404.

Aspberg, A. (2012). The different roles of aggrecan interaction domains. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *60*(12), 987–996.

Au, R. Y., Al-Talib, T. K., Au, A. Y., Phan, P. V, & Frondoza, C. G. (2007). Avocado soybean unsaponifiables (ASU) suppress TNF-alpha, IL-1beta, COX-2, iNOS gene expression, and prostaglandin E2 and nitric oxide production in articular chondrocytes and monocyte/macrophages. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(11), 1249–1255.

Ayhan, E., Kesmezacar, H., & Akgun, I. (2014). Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. *World Journal of Orthopedics*, *5*(3), 351–361.

Bartke, A., Chandrashekar, V., Dominici, F., Turyn, D., Kinney, B., Steger, R., & Kopchick, J. J. (2003). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and aging: controversies and new insights. *Biogerontology*, *4*(1), 1–8.

Batiste, D. L., Kirkley, A., Laverty, S., Thain, L. M. F., Spouge, A. R., & Holdsworth, D. W. (2004). Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT. *Osteoarthritis and Cartilage*, *12*(12), 986–996.

Bellamy, N., Buchanan, W. W., Goldsmith, C. H., Campbell, J., & Stitt, L. W. (1988). Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *The Journal of Rheumatology*, *15*(12), 1833–1840.

Bendele, A. M. (2001). Animal models of osteoarthritis. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, *1*(4), 363–376.

Bertrand, J., Cromme, C., Umlauf, D., Frank, S., & Pap, T. (2010). Molecular mechanisms of cartilage remodelling in osteoarthritis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *42*(10), 1594–1601.

Blaschke, U. K., Eikenberry, E. F., Hulmes, D. J., Galla, H. J., & Bruckner, P. (2000). Collagen XI nucleates self-assembly and limits lateral growth of cartilage fibrils. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(14), 10370–10378.

Bolbos, R., Benoit-Cattin, H., Langlois, J.-B., Chomel, A., Chereul, E., Odet, C., … Beuf, O. (2007). Knee cartilage thickness measurements using MRI: a 4(1/2)-month longitudinal study in the meniscectomized guinea pig model of OA. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(6), 656–665.

Bolbos, R., Benoit-Cattin, H., Langlois, J.-B., Chomel, A., Chereul, E., Odet, C., … Beuf, O. (2007). Measurement of knee cartilage thickness using MRI: a reproducibility study in a meniscectomized guinea pig model of osteoarthritis. *NMR in Biomedicine*, *21*(4), 366–375.

Botter, S. M., van Osch, G. J. V. M., Clockaerts, S., Waarsing, J. H., Weinans, H., & van Leeuwen, J. P. T. M. (2011). Osteoarthritis induction leads to early and temporal subchondral plate porosity in the tibial plateau of mice: an in vivo microfocal computed tomography study. *Arthritis & Rheumatism*, *63*(9), 2690–2699.

Boulocher, C. B., Viguier, E. R., Da Rocha Cararo, R., Fau, D. J., Arnault, F., Collard, F., … Roger, T. W. (2010). Radiographic assessment of the femorotibial joint of the CCLT rabbit experimental model of osteoarthritis. *BMC Medical Imaging*, *10*(1), 3.

Boulocher, C., Chereul, E., Langlois, J.-B., Armenean, M., Duclos, M. E., Viguier, E., … Vignon, E. (2007). Non-invasive in vivo quantification of the medial tibial cartilage thickness progression in an osteoarthritis rabbit model with quantitative 3D high resolution micro-MRI. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(12), 1378–1387.

Bouxsein, M. L., Boyd, S. K., Christiansen, B. A., Guldberg, R. E., Jepsen, K. J., & Müller, R. (2010). Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *Journal of Bone and Mineral Research*, *25*(7), 1468–1486.

Bove, S. E., Calcaterra, S. L., Brooker, R. M., Huber, C. M., Guzman, R. E., Juneau, P. L., … Kilgore, K. S. (2003). Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *11*(11), 821–830.

Bowyer, J., Heapy, C. G., Flannelly, J. K., Waterton, J. C., & Maciewicz, R. A. (2009). Evaluation of a magnetic resonance biomarker of osteoarthritis disease progression: doxycycline slows tibial cartilage loss in the Dunkin Hartley guinea pig. *International Journal of Experimental Pathology*, *90*(2), 174–181.

Brandt, K. D., Mazzuca, S. A., Katz, B. P., Lane, K. A., Buckwalter, K. A., Yocum, D. E., … Heck, L. W. (2005). Effects of doxycycline on progression of osteoarthritis: results of a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Arthritis & Rheumatism*, *52*(7), 2015–2025.

Brewster, M., Lewis, E. J., Wilson, K. L., Greenham, A. K., & Bottomley, K. M. (1998). Ro 32-3555, an orally active collagenase selective inhibitor, prevents structural damage in the STR/ORT mouse model of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, *41*(9), 1639–1644.

Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson, A., Ohlsson, C., Isaksson, O., & Peterson, L. (1994). Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *The New England Journal of Medicine*, *331*(14), 889–895.

Broderick, L. S., Turner, D. A., Renfrew, D. L., Schnitzer, T. J., Huff, J. P., & Harris, C. (1994). Severity of articular cartilage abnormality in patients with osteoarthritis: evaluation with fast spin-echo MR vs arthroscopy. *AJR. American Journal of Roentgenology*, *162*(1), 99–103.

Buckwalter, J. A., & Martin, J. A. (2006). Osteoarthritis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*(2), 150–167.

Burr, D. B., & Gallant, M. A. (2012). Bone remodelling in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *8*(11), 665–673.

Burstein, D. (2006). MRI for development of disease-modifying osteoarthritis drugs. *NMR in Biomedicine*, *19*(6), 669–680.

Burton-Wurster, N., Lust, G., & Macleod, J. N. (1997). Cartilage fibronectin isoforms: in search of functions for a special population of matrix glycoproteins. *Matrix Biology : Journal of the International Society for Matrix Biology*, *15*(7), 441–454.

Bush, J. R., & Beier, F. (2013). TGF-β and osteoarthritis--the good and the bad. *Nature Medicine*, *19*(6), 667–669.

Calvo, E., Palacios, I., Delgado, E., Ruiz-Cabello, J., Hernández, P., Sánchez-Pernaute, O., … Herrero-Beaumont, G. (2001). High-resolution MRI detects cartilage swelling at the early stages of experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *9*(5), 463–472.

Cawston, T. E., & Young, D. A. (2009). Proteinases involved in matrix turnover during cartilage and bone breakdown. *Cell and Tissue Research*, *339*(1), 221–235.

Chen, C., Tambe, D. T., Deng, L., & Yang, L. (2013). Biomechanical properties and mechanobiology of the articular chondrocyte. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, *305*(12), C1202–8.

Choocheep, K., Hatano, S., Takagi, H., Watanabe, H., Kimata, K., Kongtawelert, P., & Watanabe, H. (2010). Versican facilitates chondrocyte differentiation and regulates joint morphogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(27), 21114–21125.

Clarke, K. A., Heitmeyer, S. A., Smith, A. G., & Taiwo, Y. O. (1997). Gait analysis in a rat model of osteoarthrosis. *Physiology & Behavior*, *62*(5), 951–954.

Clegg, D. O., Reda, D. J., Harris, C. L., Klein, M. A., O'Dell, J. R., Hooper, M. M., … Williams, H. J. (2006). Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *The New England Journal of Medicine*, *354*(8), 795–808.

Clouet, J., Vinatier, C., Merceron, C., Pot-vaucel, M., Maugars, Y., Weiss, P., … Guicheux, J. (2009). From osteoarthritis treatments to future regenerative therapies for cartilage. *Drug Discovery Today*, *14*(19-20), 913–925.

Cole, M. B. (1984). Alteration of cartilage matrix morphology with histological processing. *Journal of Microscopy*, *133*(Pt 2), 129–140.

Custers, R. J. H., Creemers, L. B., Verbout, A. J., van Rijen, M. H. P., Dhert, W. J. A., & Saris, D. B. F. (2007). Reliability, reproducibility and variability of the traditional Histologic/Histochemical Grading System vs the new OARSI Osteoarthritis Cartilage Histopathology Assessment System. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(11), 1241–1248.

Das, S., Banquy, X., Zappone, B., Greene, G. W., Jay, G. D., & Israelachvili, J. N. (2013). Synergistic interactions between grafted hyaluronic acid and lubricin provide enhanced wear protection and lubrication. *Biomacromolecules*, *14*(5), 1669–1677.

Diab, M., Wu, J. J., & Eyre, D. R. (1996). Collagen type IX from human cartilage: a structural profile of intermolecular cross-linking sites. *The Biochemical Journal*, *314 (Pt 1*, 327–332.

Djouad, F., Bouffi, C., Ghannam, S., Noël, D., & Jorgensen, C. (2009). Mesenchymal stem cells: innovative therapeutic tools for rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, *5*(7), 392–399.

Dudhia, J. (2005). Aggrecan, aging and assembly in articular cartilage. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, *62*(19-20), 2241–2256.

Dwivedi, P. P., Lam, N., & Powell, B. C. (2013). Boning up on glypicans--opportunities for new insights into bone biology. *Cell Biochemistry and Function*, *31*(2), 91–114.

Ellman, M. B., Yan, D., Ahmadinia, K., Chen, D., An, H. S., & Im, H. J. (2012). Fibroblast growth factor control of cartilage homeostasis. *Journal of Cellular Biochemistry*, *114*(4), 735–742.

Elsaid, K. A., & Chichester, C. O. (2005). Review: Collagen markers in early arthritic diseases. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, *365*(1-2), 68–77.

Evans, R. G., Collins, C., Miller, P., Ponsford, F. M., & Elson, C. J. (1994). Radiological scoring of osteoarthritis progression in STR/ORT mice. *Osteoarthritis and Cartilage*, *2*(2), 103–109.

Fang, H., & Beier, F. (2014). Mouse models of osteoarthritis: modelling risk factors and assessing outcomes. *Nature Reviews Rheumatology*, *10*(7), 413–421.

Felson, D. T., Zhang, Y., Anthony, J. M., Naimark, A., & Anderson, J. J. (1992). Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. *Annals of Internal Medicine*, *116*(7), 535–539.

Fenty, M. C., Dodge, G. R., Kassey, V. B., Witschey, W. R. T., Borthakur, A., & Reddy, R. (2011). Quantitative cartilage degeneration associated with spontaneous osteoarthritis in a guinea pig model. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *35*(4), 891–898.

Ferland, C. E., Laverty, S., Beaudry, F., & Vachon, P. (2010). Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *97*(3), 603–610.

Fernandes, L., Hagen, K. B., Bijlsma, J. W. J., Andreassen, O., Christensen, P., Conaghan, P. G., … Vlieland, T. P. M. V. (2013). EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *72*(7), 1125–1135.

Ferreira-Gomes, J., Adães, S., & Castro-Lopes, J. M. (2008). Assessment of movement-evoked pain in osteoarthritis by the knee-bend and CatWalk tests: a clinically relevant study. *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society*, *9*(10), 945–954.

Ferreira-Gomes, J., Adães, S., Mendonça, M., & Castro-Lopes, J. M. (2012). Analgesic effects of lidocaine, morphine and diclofenac on movement-induced nociception, as assessed by the Knee-Bend and CatWalk tests in a rat model of osteoarthritis. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *101*(4), 617–624.

Fu, S. C., Cheuk, Y. C., Hung, L. K., & Chan, K. M. (2012). Limb Idleness Index (LII): a novel measurement of pain in a rat model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *20*(11), 1409–1416.

Gao, Y., Liu, S., Huang, J., Guo, W., Chen, J., Zhang, L., … Guo. (2014). The ECM-Cell Interaction of Cartilage Extracellular Matrix on Chondrocytes. *BioMed Research International*, *2014*.

Gelse, K., Pöschl, E., & Aigner, T. (2003). Collagens--structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *55*(12), 1531–1546.

Gillette, R. L., & Angle, T. C. (2008). Recent developments in canine locomotor analysis: a review. *Veterinary Journal*, *178*(2), 165–176.

Girkontaite, I., Frischholz, S., Lammi, P., Wagner, K., Swoboda, B., Aigner, T., & Von der Mark, K. (1996). Immunolocalization of type X collagen in normal fetal and adult osteoarthritic cartilage with monoclonal antibodies. *Matrix Biology : Journal of the International Society for Matrix Biology*, *15*(4), 231–238.

Glasson, S. S., Blanchet, T. J., & Morris, E. A. (2007). The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(9), 1061–1069.

Glasson, S. S., Chambers, M. G., Van Den Berg, W. B., & Little, C. B. (2010). The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse. *Osteoarthritis and Cartilage*, *18 Suppl 3*, S17–23.

Goebel, J. C., Bolbos, R., Pham, M., Galois, L., Rengle, A., Loeuille, D., … Watrin-Pinzano, A. (2010). In vivo high-resolution MRI (7T) of femoro-tibial cartilage changes in the rat anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis: a cross-sectional study. *Rheumatology*, *49*(9), 1654–1664.

Goldring, M. B., & Berenbaum, F. (2004). The regulation of chondrocyte function by proinflammatory mediators: prostaglandins and nitric oxide. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (427 Suppl), S37–46.

Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2004). The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (427 Suppl), S27–36.

Grange, L., Rannou, F., Bertin, P., & Taieb, C. (2012). Osteoarthritis in France The cost of ambulatory care in 2010. In *2012 World Congress on Osteoarthritis (Barcelone) : 26-29 avril 2012* (Vol. 20, p. S163).

Guzman, R. E., Evans, M. G., Bove, S., Morenko, B., & Kilgore, K. (2003). Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicologic Pathology*, *31*(6), 619–624.

Hameed, F., & Ihm, J. (2012). Injectable medications for osteoarthritis. *PM & R : The Journal of Injury, Function, and Rehabilitation*, *4*(5 Suppl), S75–81.

Haversath, M., Catelas, I., Li, X., Tassemeier, T., & Jäger, M. (2012). PGE_2 and BMP-2 in bone and cartilage metabolism: 2 intertwining pathways. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *90*(11), 1434–1445.

Hayami, T., Pickarski, M., Zhuo, Y., Wesolowski, G. A., Rodan, G. A., & Duong, T. (2005). Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone*, *38*(2), 234–243.

Heinegård, D., & Saxne, T. (2010). The role of the cartilage matrix in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *7*(1), 50–56.

Helminen, H. J., Säämänen, A.-M., Salminen, H., & Hyttinen, M. M. (2002). Transgenic mouse models for studying the role of cartilage macromolecules in osteoarthritis. *Rheumatology*, *41*(8), 848–856.

Henrotin, Y., Lambert, C., Couchourel, D., Ripoll, C., & Chiotelli, E. (2010). Nutraceuticals: do they represent a new era in the management of osteoarthritis? - a narrative review from the lessons taken with five products. *Osteoarthritis and Cartilage*, *19*(1), 1–21.

Henrotin, Y., Marty, M., & Mobasheri, A. (2014). What is the current status of chondroitin sulfate and glucosamine for the treatment of knee osteoarthritis? *Maturitas*, *78*(3), 184–187.

Herrero-Beaumont, G., & Ivorra, J. A. R. (2007). Glucosamine sulfate in the treatment of knee osteoarthritis symptoms: A randomized, double blind, placebo controlled study using acetaminophen as a side comparator. *Arthritis & Rheumatism*, 56(2), 555-567.

Hoffmann, M. H., Hopf, R., Niederreiter, B., Redl, H., Smolen, J. S., & Steiner, G. (2010). Gait changes precede overt arthritis and strongly correlate with symptoms and histopathological events in pristane-induced arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *12*(2), R41.

Iijima, H., Aoyama, T., Ito, A., Tajino, J., Nagai, M., Zhang, X., … Kuroki, H. (2014). Destabilization of the medial meniscus leads to subchondral bone defects and site-specific cartilage degeneration in an experimental rat model. *Osteoarthritis and Cartilage*, *22*(7), 1036–1043.

Ioan-Facsinay, A., & Kloppenburg, M. (2013). An emerging player in knee osteoarthritis: the infrapatellar fat pad. *Arthritis Research & Therapy*, *15*(6), 225.

Iozzo, R. V. (1998). Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annual Review of Biochemistry*, *67*, 609–652.

Ishikawa, G., Nagakura, Y., Takeshita, N., & Shimizu, Y. (2014). Efficacy of drugs with different mechanisms of action in relieving spontaneous pain at rest and during movement in a rat model of osteoarthritis. *European Journal of Pharmacology*, *738*, 111–117.

Jimenez, P. A., Glasson, S. S., Trubetskoy, O. V, & Haimes, H. B. (1998). Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Laboratory Animal Science*, *47*(6), 598–601.

Johnson, V. L., & Hunter, D. J. (2014). The epidemiology of osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, *28*(1), 5–15.

Jones, M. D., Tran, C. W., Li, G., Maksymowych, W. P., Zernicke, R. F., & Doschak, M. R. (2010). In vivo microfocal computed tomography and micro-magnetic resonance imaging evaluation of antiresorptive and antiinflammatory drugs as preventive treatments of osteoarthritis in the rat. *Arthritis & Rheumatism*, *62*(9), 2726–2735.

Jordan, K. M., Arden, N. K., Doherty, M., Bannwarth, B., Bijlsma, J. W. J., Dieppe, P., … Dougados, M. (2003). EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Annals of the Rheumatic Diseases*, *62*(12), 1145–1155.

Kapoor, M., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J.-P., & Fahmi, H. (2010). Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *7*(1), 33–42.

Kellgren, J. H., & Lawrence, J. S. (1957). Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *16*(4), 494–502.

Klatt, A. R., Becker, A.-K. A., Neacsu, C. D., Paulsson, M., & Wagener, R. (2010). The matrilins: modulators of extracellular matrix assembly. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *43*(3), 320–330.

Knudson, C. B. (2003). Hyaluronan and CD44: strategic players for cell-matrix interactions during chondrogenesis and matrix assembly. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, *69*(2), 174–196.

Knudson, C. B., & Knudson, W. (2001). Cartilage proteoglycans. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *12*(2), 69–78.

Kotwal, N., Li, J., Sandy, J., Plaas, A., & Sumner, D. R. (2012). Initial application of EPIC-μCT to assess mouse articular cartilage morphology and composition: effects of aging and treadmill running. *Osteoarthritis and Cartilage*, *20*(8), 887–895.

Kraus, V. B., Burnett, B., Coindreau, J., Cottrell, S., Eyre, D., Gendreau, M., … Todman, M. (2011). Application of biomarkers in the development of drugs intended for the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *19*(5), 515–542.

Lampropoulou-Adamidou, K., Lelovas, P., Karadimas, E. V, Liakou, C., Triantafillopoulos, I. K., Dontas, I., & Papaioannou, N. A. (2013). Useful animal models for the research of osteoarthritis. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, *24*(3), 263–271.

Laurent, D., Wasvary, J., O'Byrne, E., & Rudin, M. (2003). In vivo qualitative assessments of articular cartilage in the rabbit knee with high-resolution MRI at 3 T. *Magnetic Resonance in Medicine*, *50*(3), 541–549.

Le Pen, C., Reygrobellet, C., & Gérentes, I. (2005). Financial cost of osteoarthritis in France. The "COART" France study. *Joint, Bone, Spine : Revue Du Rhumatisme*, *72*(6), 567–570.

Lee, S. Y., Niikura, T., & Reddi, A. H. (2008). Superficial zone protein (lubricin) in the different tissue compartments of the knee joint: modulation by transforming growth factor beta 1 and interleukin-1 beta. *Tissue Engineering. Part A*, *14*(11), 1799–1808.

Lequesne, M. (1991). Indices of severity and disease activity for osteoarthritis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, *20*(6 Suppl 2), 48–54.

Li, Y., Lacerda, D. A., Warman, M. L., Beier, D. R., Yoshioka, H., Ninomiya, Y., … Ramirez, F. (1995). A fibrillar collagen gene, Col11a1, is essential for skeletal morphogenesis. *Cell*, *80*(3), 423–430.

Little, C. B., & Smith, M. M. (2008). Animal Models of Osteoarthritis, *4*, 175–182.

Loeser, R. F. (2011). Aging and osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, *23*(5), 492–496.

Loeser, R. F. (2014). Integrins and chondrocyte-matrix interactions in articular cartilage. *Matrix Biology : Journal of the International Society for Matrix Biology*, *39*, 11–16.

Loeser, R. F., Olex, A. L., McNulty, M. A., Carlson, C. S., Callahan, M., Ferguson, C., & Fetrow, J. S. (2013). Disease progression and phasic changes in gene expression in a mouse model of osteoarthritis. *PLOS ONE*, *8*(1), e54633.

Loeser, R. F., Shanker, G., Carlson, C. S., Gardin, J. F., Shelton, B. J., & Sonntag, W. E. (2000). Reduction in the chondrocyte response to insulin-like growth factor 1 in aging and osteoarthritis: studies in a non-human primate model of naturally occurring disease. *Arthritis & Rheumatism*, *43*(9), 2110–2120.

Lorenzo, P., Bayliss, M. T., & Heinegård, D. (1998). A novel cartilage protein (CILP) present in the mid-zone of human articular cartilage increases with age. *Journal of Biological Chemistry*, *273*(36), 23463–23468.

Lotz, M., Martel-Pelletier, J., Christiansen, C., Brandi, M.-L., Bruyère, O., Chapurlat, R., … Reginster, J.-Y. (2013). Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *72*(11), 1756–1763.

Ma, H.-L., Blanchet, T. J., Peluso, D., Hopkins, B., Morris, E. A., & Glasson, S. S. (2007). Osteoarthritis severity is sex dependent in a surgical mouse model. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(6), 695–700.

Mackie, E. J., Ahmed, Y. A., Tatarczuch, L., Chen, K.-S., & Mirams, M. (2007). Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *40*(1), 46–62.

Malfait, A. M., Ritchie, J., Gil, A. S., Austin, J.-S., Hartke, J., Qin, W., … Mogil, J. S. (2009). ADAMTS-5 deficient mice do not develop mechanical allodynia associated with osteoarthritis following medial meniscal destabilization. *Osteoarthritis and Cartilage*, *18*(4), 572–580.

Manion, C. V, Hochgeschwender, U., Edmundson, A. B., Hugli, T. E., & Gabaglia, C. R. (2011). Dietary aspartyl-phenylalanine-1-methyl ester delays osteoarthritis and prevents associated bone loss in STR/ORT mice. *Rheumatology*, *50*(7), 1244–1249.

Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., & Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, *53*(3), 523–537.

Martel-Pelletier, J., Boileau, C., Pelletier, J.-P., & Roughley, P. J. (2008). Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*, *22*(2), 351–384.

Mason, R. M., Chambers, M. G., Flannelly, J., Gaffen, J. D., Dudhia, J., & Bayliss, M. T. (2001). The STR/ort mouse and its use as a model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *9*(2), 85–91.

Matsumoto, K., Kamiya, N., Suwan, K., Atsumi, F., Shimizu, K., Shinomura, T., … Watanabe, H. (2006). Identification and characterization of versican/PG-M aggregates in cartilage. *The Journal of Biological Chemistry*, *281*(26), 18257–18263.

Mazières, B. (2011, August 1). Epidémiologie de l'arthrose en 2011. *Rhumatologie Pratique*.

McErlain, D. D., Appleton, C. T. G., Litchfield, R. B., Pitelka, V., Henry, J. L., Bernier, S. M., … Holdsworth, D. W. (2007). Study of subchondral bone adaptations in a rodent surgical model of OA using in vivo micro-computed tomography. *Osteoarthritis and Cartilage*, *16*(4), 458–469.

Melrose, J., Hayes, A. J., Whitelock, J. M., & Little, C. B. (2008). Perlecan, the "jack of all trades" proteoglycan of cartilaginous weight-bearing connective tissues. *BioEssays*, *30*(5), 457–469.

Merline, R., Schaefer, R. M., & Schaefer, L. (2009). The matricellular functions of small leucine-rich proteoglycans (SLRPs). *Journal of Cell Communication and Signaling*, *3*(3-4), 323–335.

Messier, S. P. (1994). Osteoarthritis of the knee and associated factors of age and obesity: effects on gait. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *26*(12), 1446–1452.

Messier, S. P., Loeser, R. F., Miller, G. D., Morgan, T. M., Rejeski, W. J., Sevick, M. A., … Williamson, J. D. (2004). Exercise and dietary weight loss in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis: the Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis & Rheumatism*, *50*(5), 1501–1510.

Mohan, G., Perilli, E., Kuliwaba, J. S., Humphries, J. M., Parkinson, I. H., & Fazzalari, N. L. (2011). Application of in vivo micro-computed tomography in the temporal characterisation of subchondral bone architecture in a rat model of low-dose monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, *13*(6), R210.

Mohan, G., Perilli, E., Parkinson, I. H., Humphries, J. M., Fazzalari, N. L., & Kuliwaba, J. S. (2013). Pre-emptive, early, and delayed alendronate treatment in a rat model of knee osteoarthritis: effect on subchondral trabecular bone microarchitecture and cartilage degradation of the tibia, bone/cartilage turnover, and joint discomfort. *Osteoarthritis and Cartilage*, *21*(10), 1595–1604.

Moldovan, F., Pelletier, J. P., Jolicoeur, F. C., Cloutier, J. M., & Martel-Pelletier, J. (2000). Diacerhein and rhein reduce the ICE-induced IL-1beta and IL-18 activation in human osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, *8*(3), 186–196.

Mueller, M. B., & Tuan, R. S. (2011). Anabolic/Catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: identifying molecular targets. *PM & R : The Journal of Injury, Function, and Rehabilitation*, *3*(6 Suppl 1), S3–11.

Muramatsu, Y., Sasho, T., Saito, M., Yamaguchi, S., Akagi, R., Mukoyama, S., … Takahashi, K. (2014). Preventive effects of hyaluronan from deterioration of gait parameters in surgically induced mice osteoarthritic knee model. *Osteoarthritis and Cartilage*, *22*(6), 831–835.

Murphy, J. M., Fink, D. J., Hunziker, E. B., & Barry, F. P. (2003). Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, *48*(12), 3464–3474.

Naumann, A., Dennis, J. E., Awadallah, A., Carrino, D. A., Mansour, J. M., Kastenbauer, E., & Caplan, A. I. (2002). Immunochemical and mechanical characterization of cartilage subtypes in rabbit. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *50*(8), 1049–1058.

Neame, P. J., Tapp, H., & Azizan, A. (1999). Noncollagenous, nonproteoglycan macromolecules of cartilage. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, *55*(10), 1327–1340.

Ng, L. J., Tam, P. P., & Cheah, K. S. (1993). Preferential expression of alternatively spliced mRNAs encoding type II procollagen with a cysteine-rich amino-propeptide in differentiating cartilage and nonchondrogenic tissues during early mouse development. *Developmental Biology*, *159*(2), 403–417.

Ni, G.-X., Li, Z., & Zhou, Y.-Z. (2014). The role of small leucine-rich proteoglycans in osteoarthritis pathogenesis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *22*(7), 896–903.

Oldershaw, R. A. (2012). Cell sources for the regeneration of articular cartilage: the past, the horizon and the future. *International Journal of Experimental Pathology*, *93*(6), 389–400.

Orlandi, A., Oliva, F., Taurisano, G., Candi, E., Di Lascio, A., Melino, G., … Tarantino, U. (2008). Transglutaminase-2 differently regulates cartilage destruction and osteophyte formation in a surgical model of osteoarthritis. *Amino Acids*, *36*(4), 755–763.

Palmer, A. W., Guldberg, R. E., & Levenston, M. E. (2006). Analysis of cartilage matrix fixed charge density and three-dimensional morphology via contrast-enhanced microcomputed tomography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(51), 19255–19260.

Pap, T., & Bertrand, J. (2012). Syndecans in cartilage breakdown and synovial inflammation. *Nature Reviews Rheumatology*, *9*(1), 43–55.

Pataki, A., Fries, R., Ochsner, K., & Witzemann, E. (1987). Qualitative radiographic diagnosis of osteo-arthritis of the knee joint in the C57BL mouse. *Agents and Actions*, *22*(1-2), 123–130.

Pataki, A., Graf, H. P., & Witzemann, E. (1990). Spontaneous osteo-arthritis of the knee-joint in C57BL mice receiving chronic oral treatment with NSAID's or prednisone. *Agents and Actions*, *29*(3-4), 210–217.

Pataki, A., Reife, R., Witzemann, E., Graf, H. P., & Schweizer, A. (1990). Quantitative radiographic diagnosis of osteo-arthritis of the knee-joint in the C57BL mouse. *Agents and Actions*, *29*(3-4), 201–209.

Pinney, J. R., Taylor, C., Doan, R., Burghardt, A. J., Li, X., Kim, H. T., … Majumdar, S. (2011). Imaging longitudinal changes in articular cartilage and bone following doxycycline treatment in a rabbit anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Magnetic Resonance Imaging*, *30*(2), 271–282.

Piscaer, T. M., van Osch, G. J. V. M., Verhaar, J. A. N., & Weinans, H. (2008). Imaging of experimental osteoarthritis in small animal models. *Biorheology*, *45*(3-4), 355–364.

Piscaer, T. M., Waarsing, J. H., Kops, N., Pavljasevic, P., Verhaar, J. A. N., van Osch, G. J. V. M., & Weinans, H. (2008). In vivo imaging of cartilage degeneration using microCT-arthrography. *Osteoarthritis and Cartilage*, *16*(9), 1011–1017.

Pritzker, K. P. H., Gay, S., Jimenez, S. A., Ostergaard, K., Pelletier, J. P., Revell, P. A., … Van Den Berg, W. B. (2005). Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis and Cartilage*, *14*(1), 13–29.

Rédini, F. (2001). Structure and regulation of articular cartilage proteoglycan expression. *Pathologie-Biologie*, *49*(4), 364–375.

Roddy, E., Zhang, W., & Doherty, M. (2005). Aerobic walking or strengthening exercise for osteoarthritis of the knee? A systematic review. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *64*(4), 544–548.

Roos, E. M., Roos, H. P., Lohmander, L. S., Ekdahl, C., & Beynnon, B. D. (1998). Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)--development of a self-administered outcome measure. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*, *28*(2), 88–96.

Roughley, P. J. (2001). Articular cartilage and changes in arthritis: noncollagenous proteins and proteoglycans in the extracellular matrix of cartilage. *Arthritis Research & Therapy*, *3*(6), 342–347.

Rousseau, J.-C., & Delmas, P. D. (2007). Biological markers in osteoarthritis. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, *3*(6), 346–356.

Ryu, J. H., Lee, A., Huh, M. S., Chu, J., Kim, K., Kim, B.-S., … Youn, I. (2012). Measurement of MMP Activity in Synovial Fluid in Cases of Osteoarthritis and Acute Inflammatory Conditions of the Knee Joints Using a Fluorogenic Peptide Probe-Immobilized Diagnostic Kit. *Theranostics*, *2*(2), 198–206.

Sarukawa, J., Takahashi, M., Doi, M., Suzuki, D., & Nagano, A. (2010). A longitudinal analysis of urinary biochemical markers and bone mineral density in STR/Ort mice as a model of spontaneous osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, *62*(2), 463–471.

Sawitzke, A. D., Shi, H., Finco, M. F., Dunlop, D. D., Harris, C. L., Singer, N. G., … Clegg, D. O. (2010). Clinical efficacy and safety of glucosamine, chondroitin sulphate, their combination, celecoxib or placebo taken to treat osteoarthritis of the knee: 2-year results from GAIT. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *69*(8), 1459–1464.

Schmitz, N., Laverty, S., Kraus, V. B., & Aigner, T. (2010). Basic methods in histopathology of joint tissues. *Osteoarthritis and Cartilage*, *18 Suppl 3*, S113–6.

Schulz, R. M., & Bader, A. (2007). Cartilage tissue engineering and bioreactor systems for the cultivation and stimulation of chondrocytes. *European Biophysics Journal*, *36*(4-5), 539–568.

Schünke, M., Tillmann, B., Brück, M., & Müller-Ruchholtz, W. (1988). Morphologic characteristics of developing osteoarthrotic lesions in the knee cartilage of STR/IN mice. *Arthritis & Rheumatism*, *31*(7), 898–905.

Seibel, M. J., Robins, S. P., & Bilezikian, J. P. (2006). *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism : Principles and Clinical Applications*. Academic Press.

Sellam, J., & Berenbaum, F. (2010). The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *6*(11), 625–635.

Shen, G. (2005). The role of type X collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage. *Orthodontics & Craniofacial Research*, *8*(1), 11–17.

Siebelt, M., Waarsing, J. H., Kops, N., Piscaer, T. M., Verhaar, J. A. N., Oei, E. H. G., & Weinans, H. (2011). Quantifying osteoarthritic cartilage changes accurately using in vivo microCT arthrography in three etiologically distinct rat models. *Journal of Orthopaedic Research*, *29*(11), 1788–1794.

Sofat, N. (2009). Analysing the role of endogenous matrix molecules in the development of osteoarthritis. *International Journal of Experimental Pathology*, *90*(5), 463–479.

Sokoloff, L. (1956). Natural history of degenerative joint disease in small laboratory animals. I. Pathological anatomy of degenerative joint disease in mice. *A.M.A. Archives of Pathology*, *62*(2), 118–128.

Spandonis, Y., Heese, F. P., & Hall, L. D. (2004). High resolution MRI relaxation measurements of water in the articular cartilage of the meniscectomized rat knee at 4.7 T. *Magnetic Resonance Imaging*, *22*(7), 943–951.

Stanescu, R., Knyszynski, A., Muriel, M. P., & Stanescu, V. (1993). Early lesions of the articular surface in a strain of mice with very high incidence of spontaneous osteoarthritic-like lesions. *The Journal of Rheumatology*, *20*(1), 102–110.

Stok, K. S., Pelled, G., Zilberman, Y., Kallai, I., Goldhahn, J., Gazit, D., & Müller, R. (2009). Revealing the interplay of bone and cartilage in osteoarthritis through multimodal imaging of murine joints. *Bone*, *45*(3), 414–422.

Suri, P., Morgenroth, D. C., & Hunter, D. J. (2012). Epidemiology of osteoarthritis and associated comorbidities. *PM & R : The Journal of Injury, Function, and Rehabilitation*, *4*(5 Suppl), S10–9.

Tabassi, N. C.-B., & Garnero, P. (2007). Monitoring cartilage turnover. *Current Rheumatology Reports*, *9*(1), 16–24.

Teeple, E., Elsaid, K. A., Jay, G. D., Zhang, L., Badger, G. J., Akelman, M., … Fleming, B. C. (2010). Effects of supplemental intra-articular lubricin and hyaluronic acid on the progression of posttraumatic arthritis in the anterior cruciate ligament-deficient rat knee. *The American Journal of Sports Medicine*, *39*(1), 164–172.

ter Huurne, M., Schelbergen, R., Blattes, R., Blom, A., de Munter, W., Grevers, L. C., … van Lent, P. L. E. M. (2012). Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experimental osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, *64*(11), 3604–3613.

Tessier, J. J., Bowyer, J., Brownrigg, N. J., Peers, I. S., Westwood, F. R., Waterton, J. C., & Maciewicz, R. A. (2003). Characterisation of the guinea pig model of osteoarthritis by in vivo three-dimensional magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and Cartilage*, *11*(12), 845–853.

Thote, T., Lin, A. S. P., Raji, Y., Moran, S., Stevens, H. Y., Hart, M., … Willett, N. J. (2013). Localized 3D analysis of cartilage composition and morphology in small animal models of joint degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage*, *21*(8), 1132–1141.

Troeberg, L., & Nagase, H. (2011). Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1824*(1), 133–145.

Umlauf, D., Frank, S., Pap, T., & Bertrand, J. (2010). Cartilage biology, pathology, and repair. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *67*(24), 4197–4211.

van der Rest, M., & Garrone, R. (1991). Collagen family of proteins. *The FASEB Journal*, *5*(13), 2814–2823.

Vaughan-Thomas, A., Young, R. D., Phillips, A. C., & Duance, V. C. (2000). Characterization of type XI collagen-glycosaminoglycan interactions. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(7), 5303–5309.

Verma, P., & Dalal, K. (2011). ADAMTS-4 and ADAMTS-5: key enzymes in osteoarthritis. *Journal of Cellular Biochemistry*, *112*(12), 3507–3514.

Wachsmuth, L., Keiffer, R., Juretschke, H.-P., Raiss, R. X., Kimmig, N., & Lindhorst, E. (2003). In vivo contrast-enhanced micro MR-imaging of experimental osteoarthritis in the rabbit knee joint at 7.1T1. *Osteoarthritis and Cartilage*, *11*(12), 891–902.

Wachsmuth, L., Söder, S., Fan, Z., Finger, F., & Aigner, T. (2006). Immunolocalization of matrix proteins in different human cartilage subtypes. *Histology and Histopathology*, *21*(5), 477–485.

Walton, M. (1977a). Degenerative joint disease in the mouse knee; histological observations. *The Journal of Pathology*, *123*(2), 109–122.

Walton, M. (1977b). Degenerative joint disease in the mouse knee; radiological and morphological observations. *The Journal of Pathology*, *123*(2), 97–107.

Wang, T., Wen, C.-Y., Yan, C.-H., Lu, W.-W., & Chiu, K.-Y. (2013). Spatial and temporal changes of subchondral bone proceed to microscopic articular cartilage degeneration in guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, *21*(4), 574–581.

Wang, Y.-X. (2008). In vivo magnetic resonance imaging of animal models of knee osteoarthritis. *Laboratory Animals*, *42*(3), 246–264.

Watson, P. J., Carpenter, T. A., Hall, L. D., & Tyler, J. A. (1997). MR protocols for imaging the guinea pig knee. *Magnetic Resonance Imaging*, *15*(8), 957–970.

Wiberg, C., Klatt, A. R., Wagener, R., Paulsson, M., Bateman, J. F., Heinegård, D., & Mörgelin, M. (2003). Complexes of matrilin-1 and biglycan or decorin connect collagen VI microfibrils to both collagen II and aggrecan. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(39), 37698–37704.

Wisłowska, M., & Jabłońska, B. (2004). Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Clinical Rheumatology*, *24*(3), 278–284.

Wu, J.-J., Weis, M. A., Kim, L. S., & Eyre, D. R. (2010). Type III collagen, a fibril network modifier in articular cartilage. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(24), 18537–18544.

Xie, L., Lin, A. S. P., Levenston, M. E., & Guldberg, R. E. (2008). Quantitative assessment of articular cartilage morphology via EPIC-microCT. *Osteoarthritis and Cartilage*, *17*(3), 313–320.

Yan, J.-Y., Tian, F.-M., Wang, W.-Y., Cheng, Y., Xu, H.-F., Song, H.-P., … Zhang, L. (2014). Age dependent changes in cartilage matrix, subchondral bone mass, and estradiol levels in blood serum, in naturally occurring osteoarthritis in Guinea pigs. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(8), 13578–13595.

Young, R. D., Lawrence, P. A., Duance, V. C., Aigner, T., & Monaghan, P. (2000). Immunolocalization of collagen types II and III in single fibrils of human articular cartilage. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *48*(3), 423–432.

Zhang, W., Moskowitz, R. W., Nuki, G., Abramson, S., Altman, R. D., Arden, N., … Tugwell, P. (2007). OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, part I: critical appraisal of existing treatment guidelines and systematic review of current research evidence. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(9), 981–1000.

Zhang, W., Moskowitz, R. W., Nuki, G., Abramson, S., Altman, R. D., Arden, N., … Tugwell, P. (2008). OARSI recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis and Cartilage*, *16*(2), 137–162.

Zhang, W., Robertson, J., Jones, A. C., Dieppe, P. A., & Doherty, M. (2008). The placebo effect and its determinants in osteoarthritis: meta-analysis of randomised controlled trials. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *67*(12), 1716–1723.

Zhen, G., & Cao, X. (2014). Targeting TGFβ signaling in subchondral bone and articular cartilage homeostasis. *Trends in Pharmacological Sciences*, *35*(5), 227–236.

U.F.R. DE PHARMACIE DE RENNES

N°

LE TILLY, Elodie.- Emergence des méthodes non invasives pour évaluer l'arthrose en préclinique

175 f., 43 ill., 22 tabl., 30 cm.- Thèse : Pharmacie ; Rennes 1; 2016 ; N° .

L'arthrose est une des pathologies articulaires les plus communes et les plus invalidantes. C'est une maladie dégénérative de l'articulation qui affecte des millions de personnes au monde. Elle est intimement liée au vieillissement, et il n'existe actuellement aucun traitement permettant d'en guérir. Le diagnostic clinique chez l'homme se base principalement sur l'évaluation de la douleur et de la gêne fonctionnelle, et peut être confirmé par radiographie. Les études précliniques actuelles utilisent majoritairement l'histologie pour évaluer l'effet de nouvelles thérapeutiques, qui, bien qu'étant la méthode de référence, est une technique inutilisable dans les études cliniques humaines. De nouvelles techniques non invasives permettant de réaliser un suivi longitudinal de l'arthrose chez l'animal se sont donc développées : des techniques d'imagerie (radiographie, IRM, micro-scanner), d'analyse de la démarche et la détection de biomarqueurs. L'objectif de cette thèse est de décrire les techniques utilisables dans les études précliniques pour suivre la progression de l'arthrose afin de tester l'effet de nouveaux médicaments grâce à des méthodes directement transposables à l'homme. Ce manuscrit se conclura par la présentation d'une étude réalisée en utilisant la radiographie et l'analyse de la marche chez le petit animal pour tester les effets d'un nouveau traitement préventif de l'arthrose.

Osteoarthritis is one the most common and debilitating joint disease. This age-related degenerative disease is affecting millions of people worldwide, and has currently no effective treatment. The diagnosis in human pathology is based on pain and functional symptoms, and can be confirmed by radiography. Most current preclinical studies use the gold standard of histology to test new therapies, which cannot be used in the human clinical context. New non-invasive techniques allowing a longitudinal analysis of osteoarthritis in animal models have been set up: imaging techniques (radiography, MRI, micro-CT), gait analysis and biomarkers detection. The aim of this thesis is to describe the methods which can be used to assess osteoarthritis progression in preclinical studies, in order to test new therapies allowing transferable approaches in clinical studies. This manuscript will be illustrated with a preclinical study using radiography and gait analysis to test the effect of a new preventive treatment of osteoarthritis.

Rubrique de classement : RECHERCHE PRECLINIQUE

Mots-clés : Arthrose, Etude préclinique, Imagerie, CatWalk®, Biomarqueurs

Mots-clés anglais MeSH : Osteoarthritis, Preclinical study, Imaging, CatWalk®, Biomarkers

JURY :

Président : Monsieur Vincent LAGENTE

Assesseurs : Monsieur Laurent BECK

Madame Lydie Sparfel