



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Le présent travail a été effectué au sein de l'équipe « Imagerie et Biomatériaux Articulaires, Ingénierie Tissulaire » de l'UMR 7561 CNRS-UHP, Nancy I « Physiopathologie et Pharmacologie Articulaires » à la Faculté de Médecine de Nancy.

Je remercie Monsieur le Professeur Patrick NETTER et Monsieur le Docteur Jacques MAGDALOU, Directeurs de l'UMR, pour leur accueil au sein du laboratoire.

J'adresse mes vifs remerciements et mon profond respect à mes directeurs de thèse, Messieurs les Professeurs Pierre GILLET et Damien LOEUILLE, pour leurs projets de recherche novateurs et leurs précieux conseils scientifiques, ainsi que pour leur aide, leur soutien, leur encadrement tout au long de ces années. Qu'ils soient également remerciés de la confiance qu'ils m'ont témoignée.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Madame le Docteur Geneviève GUILLOT et Monsieur le Professeur Jean-Michel FRANCONI d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens également à remercier chaleureusement Madame le Docteur Astrid PINZANO, pour son dynamisme, son aide précieuse, ses conseils avisés, son soutien remarquable et pour le partage d'un même bureau durant la durée de ma thèse.

Je tiens à remercier vivement les membres de l'UMR CNRS 5220 de l'Université Claude Bernard, Lyon 1, avec lesquels j'ai eu la chance de travailler dans le cadre du Programme Interdisciplinaire CNRS-CEA-INSERM « Imagerie du Petit Animal » appel d'offres 2004. Mes remerciements tous particuliers iront à Monsieur le Docteur Olivier BEUF, pour son aide, son soutien et son accompagnement dans la vie d'un doctorant.

Je n'omettrai pas de remercier également Monsieur le Professeur Jacques FELBLINGER ainsi que toute l'équipe de son laboratoire IADI pour leurs apports scientifique et informatique dans le travail de cartographie T2 du cartilage rotulien chez l'Homme.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur Laurent GALOIS pour son aide précieuse et son savoir-faire mis à profit dans les études expérimentales menées chez le petit animal.

Je remercie le Service d'Imagerie du *Centre Hospitalier Universitaire de Nancy*, et particulièrement Monsieur le Professeur Alain BLUM pour nous avoir alloué les vacances de recherche de la plateforme IRM.

De la même façon, je remercie le personnel de la plateforme *Animage* à Bron (Rhône-Alpes) pour les matériels mis à disposition, l'hébergement de qualité et les soins apportés à nos animaux.

Enfin, je n'oublierai pas d'exprimer un grand merci à l'ensemble des membres du laboratoire et des personnels hospitaliers rattachés à l'UMR 7561 qui ont contribué, de près ou de loin, par un acte, une idée ou une parole, à l'achèvement de cette thèse.

La majorité des travaux présentés dans ce mémoire ont été financés par les *Projets Hospitaliers de Recherche Clinique* du CHRU de Nancy, ainsi que par les fonds du *Programme Interdisciplinaire CNRS-CEA-INSERM 'Imagerie du Petit Animal' 2004*.

Enfin, ces travaux s'inscrivent dans les champs disciplinaires du Groupement de Recherche *Mécanotransduction*.

Je dédie cette thèse

*à mes parents, Marie-Claude et René, sans qui rien n'eut été possible,
pour leur soutien affectif, financier et moral,*

à mon épouse Charlotte, pour son soutien et son amour,

à mes sœurs, Amélie et Anastasie, à mon frère, Pierre,

à l'ensemble de ma famille ainsi que celle de Charlotte.

Qu'ils voient en ce travail toute ma reconnaissance, ma fierté et mon amour.

Travaux publiés



Publications dans des revues internationales à comité de lecture

In vivo high resolution MRI (7T) of age- and osteoarthritic related variations of femoro-tibial cartilage in the rat knee: a pilot cross sectional study with histological correlation.

Rheumatology, en révision.

Goebel JC, Bolbos R, Watrin-Pinzano A, Galois L, Rengle A, Loeuille D, Netter P, Beuf O, Gillet P.

A dedicated two-channel phased-array receiver coil for high-resolution MRI of the rat knee cartilage at 7 T.

IEEE Transactions on Biomedical Engineering 56, 2009.

Rengle A, Armenean M, Bolbos R, Goebel JC, Pinzano-Watrin A, Saint-Jalmes H, Gillet P, Beuf O.

Magnetic resonance imaging in osteoarthritis: which method best reflects synovial membrane inflammation?

Correlation with clinical, macroscopic and microscopic features.

Osteoarthritis and Cartilage 17, 2009.

Loeuille D, Rat AC, Goebel JC, Champigneulle J, Blum A, Netter P, Gillet P, Chary-Valckenaere I.

In vivo rat knee cartilage volume measurement using quantitative high resolution MRI (7T): feasibility and reproducibility.

Bio-Medical Materials and Engineering 18, 2008.

Goebel JC, Bolbos R, Pinzano A, Schaeffer M, Rengle A, Galois L, Etienne S, Netter P, Loeuille D, Beuf O, Gillet P.

Quantitative dynamic contrast enhanced MRI of experimental synovitis in the rabbit knee: Comparison of macromolecular blood pool agents vs Gadolinium-DOTA.

Bio-Medical Materials and Engineering 18, 2008.

Watrin-Pinzano A, Loeuille D, Goebel JC, Walter F, Lopicque F, Walter F, Robert P, Netter P, Corot C, Gillet P, Blum A.

A dedicated two-element phased array receiver coil for high resolution MRI of rat knee cartilage at 7T.

Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2007.

Rengle A, Armenean M, Bolbos R, Goebel JC, Pinzano-Watrin A, Saint-Jalmes H, Gillet P, Beuf O.

MRI study of rat cartilage ageing process: knee joint contact sites geometrical assessments

Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering 11 Supp.1, 2008.

Pouletaut P*, Goebel JC*, Pinzano A, Bolbos R, Beuf O, Netter P, Ho Ba Tho MC, Gillet P.

Age-related quantitative MRI changes in healthy cartilage: preliminary results.

Biorheology 43, 2006.

Goebel JC, Watrin-Pinzano A, Bettembourg-Brault I, Odille F, Felblinger J, Chary-Valckenaere I, Netter P, Blum A, Gillet P, Loeuille D.

* contribution égale.

Interest of MRI to detect cartilage and articular lesions in osteoarthritic knee.

Revue du Rhumatisme 73, 2006.

Loeuille D, Goebel JC, Rat AC, Watrin A, Gillet P, Pourel J, Blum A, Chary-Valckenaere I.

Macroscopic and microscopic features of synovial membrane inflammation in the osteoarthritic knee: correlating magnetic resonance imaging findings with disease severity.

Arthritis and Rheumatism 52, 2005.

Loeuille D, Chary-Valckenaere I, Champigneulle J, Rat AC, Toussaint F, Pinzano-Watrin A, Goebel JC, Mainard D, Blum A, Pourel J, Netter P, Gillet P.

Communications affichées avec actes publiés

Monolayer expansion modalities influences 3D chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells seeded in collagen sponges.

OARSI World Congress on OsteoArthritis, Rome, 2008.

Osteoarthritis and Cartilage, 16 Supp.4, 2008.

Cournil-Henrionnet C, Goebel J, Galois L, Huselstein C, Mainard D, Bensoussan D, Netter P, Stoltz J, Gillet P, Pinzano-Watrin A.

Knee Cartilage Measurements During Maturation Using 7T High-Resolution MRI (HR-MRI): an in vivo Study in the Rat.

Annual College of Rheumatology, Washington, 2006.

Arthritis and Rheumatism, 54 S626, 2006.

Goebel JC, Bolbos R, Etienne S, Pinzano-Watrin A, Schaeffer M, Galois L, Rengle A, Netter P, Beuf O, Gillet P.

Semi-Quantitative, Quantitative and new Dynamic MRI Evaluations of Synovitis in Knee OA Correlate with Macroscopic, Microscopic and Clinical Examinations.

Annual College of Rheumatology, San Diego, 2005.

Arthritis and Rheumatism, 52 S70, 2005.

Chary-Valckenaere I, Goebel JC, Champigneulle J, Rat AC, Dintinger H, Touissaint F, Pinzano-Watrin A, Blum A, Netter P, Gillet P, Loeuille D.

MRI Evaluation of the Synovial Membrane after a Single Intraarticular (IA) Injection of Anakinra in 7 Patients with Osteoarthritis of the Knee Suggests Anti-Inflammatory Effect.

Annual College of Rheumatology, San Diego, 2005.

Arthritis and Rheumatism, 52 S70, 2005.

Loeuille D, Chary-Valckenaere I, Goebel JC, Rat AC, Blum A, Kiefer P, Appleton BE, Chevalier X.

Communications orales

MRI study of rat cartilage ageing process: knee joint contact sites geometrical assessments.
33e Congrès annuel de la Société de Biomécanique, Compiègne, 2008.

Pouletaut P, Goebel JC, Pinzano A, Bolbos R, Beuf O, Netter P, Ho Ba Tho MC, Gillet P.

Etude IRM (7T) in vivo du genou de rat normal et pathologique.

Réunion du Groupement de Recherche « MécanoTransduction », Paris, 2008.

Goebel JC, Bolbos R, Pinzano-Watrin A, Pouletaut P, Galois L, Rengle A, Netter P, Ho Ba Tho MC, Beuf O, Loeuille D, Gillet P.

Étude in vivo en micro-imagerie RMN à 7T du cartilage fémorotibial chez le Rat.

6e Journée Hospitalo-Universitaire de Pharmacologie du Nord-Est, Faculté de Médecine de Nancy, 2006.

Schaeffer M, Goebel JC, Etienne S, Pinzano A, Galois L, Netter P, Beuf O, Gillet P.

Knee Cartilage Measurements During Maturation Using 7T High-Resolution MRI (HR-MRI): An In Vivo Study In The Rat.

Workshop 'in vivo Imaging', Interreg IIIc eBird – Recherche sans frontière, Université de Liège, 2006.

Goebel JC, Bolbos R, Pinzano A, Galois L, Etienne S, Rengle A, Schaeffer M, Netter P, Beuf O, Gillet P.

Mesures in vivo du Cartilage du Genou de Rat pendant le Processus de Maturation en IRM 7 Teslas Haute Résolution.

Journée Annuelle de la Recherche Médicale, Faculté de Médecine de Nancy, 2006.

Goebel JC, Bolbos R, Pinzano-Watrin A, Galois L, Etienne S, Rengle A, Netter P, Beuf O, Loeuille D, Gillet P.

Étude IRM in vivo à 7T du cartilage fémorotibial chez le Rat : maturation & arthrose expérimentale.

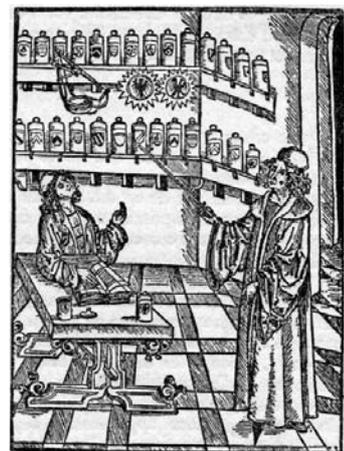
Réunion Scientifique & Bilan du Programme Interdisciplinaire CNRS-CEA-INSERM Imagerie du Petit Animal 2001-2004, Marseille, 2006.

Goebel JC, Bolbos R, Pinzano-Watrin A, Galois L, Etienne S, Rengle A, Netter P, Beuf O, Loeuille D, Gillet P.

Liste des abréviations

2D : bidimensionnel
3D : tridimensionnel
AH : acide hyaluronique
BT : coloration bleu de toluidine
CV : coefficient de variation
CV% : coefficient de variation exprimé en pourcentage
dGEMRIC : *delayed Gadolinium Enhanced MRI of Cartilage*
EVA : échelle visuelle analogique
FSE : séquence d'acquisition IRM *Fast Spin Echo*
GAGs : glycosaminoglycane
Gd-DTPA : acide diéthylènetriamine pentaacétique à cœur de gadolinium
HES : coloration hématoxyline – éosine – safran
IMC : indice de masse corporelle ou indice de Quételet
IRM : imagerie par résonance magnétique
MMPs : métalloprotéases
NEX : nombre d'excitations
OARSI : *Osteoarthritis Research Society International*
PGs : protéoglycannes
RMN : résonance magnétique nucléaire
ROI : région d'intérêt (*Region Of Interest*)
RS : coloration rouge Sirius
S/B : signal sur bruit
SFA : Société Française d'Arthroscopie
TE : temps d'écho
TEP : tomographie par émission de positons
TR : temps de répétition
Tc^{99m} : élément Technétium 99 métastable

Table des matières



TRAVAUX PUBLIES.....	7
TABLE DES MATIERES	15
INTRODUCTION GENERALE	21
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	25
1 <i>L'articulation normale et pathologique</i>	27
1.1 Le cartilage	27
1.2 La membrane synoviale	37
1.3 Le liquide synovial.....	39
1.4 La maladie arthrosique.....	39
2 <i>Méthodes d'imagerie appliquées à l'arthrose.....</i>	45
2.1 Introduction.....	45
2.2 La radiographie	45
2.3 La tomodensitométrie	46
2.4 La scintigraphie osseuse.....	47
2.5 Arthrographie et arthroscanner	47
2.6 L'échographie articulaire	48
2.7 La chondroscopie, ou mini arthroscopie	48
2.8 L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	49
3 <i>Etudes morphologique et structurale par IRM.....</i>	53
3.1 Introduction.....	53
3.2 Etudes IRM semi-quantitatives des défauts cartilagineux	54
3.3 IRM quantitative morphologique du cartilage	54
3.4 Imagerie structurale du cartilage.....	61
3.5 Validation des études méthodologiques dans l'arthrose : précision et reproductibilité	64
3.6 IRM de la membrane synoviale	67
4 <i>Etude de l'arthrose chez le petit animal.....</i>	69
4.1 Problématique	69
4.2 Modèles animaux d'arthrose	69
4.3 Les méthodes d'analyse appliquées chez le petit animal.....	71
TRAVAUX REALISES	79
TRAVAUX EXPERIMENTAUX MENES CHEZ LE PETIT ANIMAL A 7 TESLAS	81
MESURE IN VIVO PAR IRM QUANTITATIVE A 7 TESLAS DU CARTILAGE DU GENOU CHEZ LE RAT	83
1 <i>But.....</i>	84
2 <i>Matériels et Méthodes.....</i>	84
2.1 Animaux	84
2.2 Protocole IRM.....	85
2.3 Traitement d'image.....	86
2.4 Analyse statistique	87
3 <i>Résultats.....</i>	87
4 <i>Discussion.....</i>	87
5 <i>Conclusion.....</i>	88
ETUDE IN VIVO PAR IRM A HAUT CHAMP (7 TESLAS) DES VARIATIONS LIEES A L'AGE AU NIVEAU DU CARTILAGE FEMORO-TIBIAL CHEZ LE RAT SAIN.....	89
1 <i>But.....</i>	90
2 <i>Matériels et Méthodes.....</i>	90
2.1 Animaux	90
2.2 Protocole IRM.....	91
2.3 Analyse des IRM.....	91
2.4 Analyse histologique.....	94
2.5 Analyse statistique	95
3 <i>Résultats.....</i>	95
3.1 Poids des animaux.....	95
3.2 Mesure de l'interligne articulaire en IRM.....	95
3.3 Epaisseur du cartilage mesurée sur lames histologiques	96
3.4 Epaisseur du cartilage mesurée en IRM.....	96
3.5 Concordance des mesures IRM / histologie	98
3.6 Volumétrie du cartilage fémoro-tibial.....	98
4 <i>Discussion.....</i>	99
5 <i>Conclusion.....</i>	103

ETUDE IN VIVO PAR IRM A HAUT CHAMP (7 TESLAS) DES MODIFICATIONS ARTICULAIRES AU COURS D'UN MODELE EXPERIMENTAL D'ARTHROSE CHEZ LE RAT	105
1 <i>But</i>	106
2 <i>Matériels et Méthodes</i>	106
2.1 Animaux	106
2.2 IRM quantitative et métrologie du cartilage.....	107
2.3 Procédures histologiques.....	108
2.4 Analyse statistique.....	110
3 <i>Résultats</i>	110
3.1 Poids des animaux.....	110
3.2 Symptomatologie et interligne articulaire	110
3.3 Epaisseur du cartilage articulaire	112
3.4 Volume du cartilage articulaire	113
3.5 Scores histologiques.....	114
4 <i>Discussion</i>	115
5 <i>Conclusion</i>	117
TRAVAUX MENES CHEZ L'HOMME A 1,5 TESLA	119
CARTOGRAPHIE T2 DU CARTILAGE ROTULIEN A 1,5 TESLA : ETUDE CLINIQUE D'UNE COHORTE DE VOLONTAIRES SAINS AGES DE 10 A 65 ANS	121
1 <i>But</i>	122
2 <i>Matériels et méthodes</i>	122
2.1 Recrutement des volontaires sains	122
2.2 Protocole d'acquisition IRM	123
2.3 Traitement numérique des IRM	123
2.4 Création des ROIs et calcul du T2	124
2.5 Profils de valeurs de T2	125
2.6 Analyse statistique	125
3 <i>Résultats</i>	126
3.1 Reproductibilité intra- et inter-opérateur.....	126
3.2 T2 sur rotule entière	126
3.3 Analyse du T2 selon les 8 ROI	126
4 <i>Discussion</i>	129
5 <i>Conclusion</i>	132
VOLUMETRIE PAR IRM A 1,5 T DU CARTILAGE ROTULIEN SAIN CHEZ L'HOMME	133
1 <i>But</i>	134
2 <i>Matériels et méthodes</i>	134
2.1 Recrutement des volontaires	134
2.2 Protocole IRM.....	134
3 <i>Résultats</i>	135
4 <i>Discussion et conclusion</i>	136
ETUDE DE L'ARCHITECTURE MATRICIELLE ET DE LA MORPHOLOGIE DU CARTILAGE ROTULIEN SAIN CHEZ L'HOMME.....	139
1 <i>But</i>	140
2 <i>Matériels et méthodes</i>	140
2.1 Constitution de la cohorte des volontaires sains.....	140
2.2 Protocoles IRM.....	140
2.3 Valeurs T2 du cartilage rotulien.....	141
2.4 Volume cartilagineux (VC) et osseux (VO) de la rotule	142
2.5 Analyse statistique	143
3 <i>Résultats</i> :.....	144
3.1 Influences anthropométriques	144
3.2 Valeurs T2 moyennes du cartilage patellaire	145
3.3 Volume du cartilage rotulien.....	145
4 <i>Discussion</i> :.....	146
5 <i>Conclusion</i> :	148
ETUDE DE LA MEMBRANE SYNOVIALE INFLAMMATOIRE	149
1 <i>But</i>	150
2 <i>Patients et Méthodes</i>	150
2.1 Recrutement des patients	150
2.2 Protocole et évaluations par IRM.....	150
3 <i>Résultats</i>	154
3.1 Description de la cohorte	154
3.2 Caractéristiques IRM de la synovite	155

Table des matières

3.3	Reproductibilité de la méthode	156
3.4	Confrontation des données IRM, cliniques et histologiques	156
4	<i>Discussion</i>	157
5	<i>Conclusion</i>	159
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES		161
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		165
ANNEXES : PUBLICATIONS		193
IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING		I
BIO-MEDICAL MATERIALS AND ENGINEERING (1).....		III
BIO-MEDICAL MATERIALS AND ENGINEERING (2).....		V
COMPUTER METHODS IN BIOMECHANICS AND BIOMEDICAL ENGINEERING.....		VII
BIORHEOLOGY		IX
REVUE DU RHUMATISME.....		XI
ARTHRITIS AND RHEUMATISM		XIII
RESUMES DES COMMUNICATIONS AFFICHEES AVEC ACTES PUBLIES.....		XV

Introduction générale

L'arthrose, par sa fréquence et son impact socioprofessionnel, constitue une véritable préoccupation de santé publique dans les pays occidentaux du fait du vieillissement global de la population. Il s'agit d'une affection dégénérative du cartilage articulaire dont la pathogénie reste mal connue, malgré les nombreux travaux qui lui sont consacrés. Ainsi, le cartilage hyalin, tissu avasculaire non innervé, est composé d'un contingent cellulaire remarquable, les chondrocytes, largement dispersé au sein d'une matrice extracellulaire très dense. Cette organisation tissulaire lui confère des caractéristiques particulières tant biochimiques que biomécaniques, qui lui permettent de résister aux contraintes répétitives, parfois intenses, inhérentes au fonctionnement articulaire. Lors de la maladie arthrosique il existe un déséquilibre progressif, localisé, entre les phénomènes de synthèse (anabolisme) et de dégradation (catabolisme) jusqu'alors en équilibre pour assurer la maintenance du tissu matriciel. Un excès de catabolisme prend alors une part active à l'érosion progressive du cartilage, qui fait intervenir à des degrés divers l'intervention de cytokines pro-inflammatoires, d'enzymes spécifiques et de phénomènes de mort cellulaire.

Ces mécanismes délétères au sein du cartilage dégradent précocement les protéoglycannes dont la taille et la quantité diminuent progressivement, alors que le contenu hydrique augmente, source d'un œdème localisé. A l'inverse, le contenu en collagène reste initialement constant. Ultérieurement, le réseau collagénique s'altère progressivement tant qualitativement (fibrillations) que quantitativement, conduisant progressivement à l'érosion du cartilage. En dehors de ces zones focales, l'anabolisme devient prédominant et favorise alors la production ostéophytique.

Si l'examen clinique oriente facilement vers une maladie arthrosique, localisée ou généralisée (douleurs, déformation, gêne articulaire...), la technique d'imagerie la plus couramment utilisée pour confirmer ce diagnostic reste toujours la radiographie conventionnelle, accessible, non traumatique. Elle s'impose encore comme outil de référence dans de nombreux essais cliniques. Elle ne permet cependant qu'une évaluation indirecte du cartilage qui est radio-transparent. Les signes cardinaux de la maladie sont classiquement le pincement de l'interligne articulaire, malheureusement peu spécifique, l'ostéocondensation sous-chondrale, l'apparition plus tardive d'ostéophytes, voire de géodes d'hyperpression. Il est largement admis que le pincement de l'interligne articulaire reflète fidèlement la perte cartilagineuse. Les nouvelles techniques diagnostiques telles que l'imagerie par résonance magnétique (IRM) se révèlent très prometteuses dans le domaine ostéoarticulaire et pallient certaines insuffisances de la radiographie. Ainsi, selon les séquences d'acquisition privilégiées, l'IRM permet une bonne individualisation du cartilage hyalin des autres tissus avoisinants (os, tendons, capsules, ligaments, liquide et tissu synovial).

Les travaux les plus récents, mentionnés dans la première partie de notre mémoire, confirment que cette technique permet par ailleurs une bonne détection des lésions arthrosiques, leur localisation, leur évaluation et leur suivi. Lors de l'arthrose, l'IRM montre des anomalies de signal ou de surface du cartilage, et ce avec une bonne concordance anatomo-radiologique (études arthroscopiques, opératoires, autopsiques). En revanche, certaines incertitudes persistent quant aux potentialités de cette technique pour la détection des stades précoces de l'arthrose, lors des altérations initiales de la structure interne du cartilage. Pour faire la part entre les modifications du cartilage tributaires de la maturation et du vieillissement, de celles inhérentes au processus arthrosique, de nombreux travaux ont décrit les différents aspects du cartilage sain selon la nature des séquences d'acquisition. L'interprétation correcte des images IRM de cartilage arthrosique nécessite une bonne compréhension préalable du signal IRM du cartilage sain.

Ainsi, dans ce manuscrit, après avoir rappelé quelques notions bibliographiques sur le cartilage sain et arthrosique et fait le point sur les connaissances actuelles sur l'IRM du cartilage, nous avons adopté la stratégie suivante :

Afin d'évaluer l'influence de la maturation du cartilage sain sur son aspect en IRM nous avons étudié, dans un premier temps, les modifications morphologiques du cartilage fémoro-tibial de rats d'âges différents sur un imageur de 7 Teslas, et ce en adaptant des séquences d'acquisition validées et largement utilisées en clinique. Cette étude a, par ailleurs, fait l'objet d'une confrontation histologique. Pour mener à bien cette première partie consacrée au processus de maturation/vieillessement du cartilage, nous avons été conduits à réaliser une étude de faisabilité démontrant la possibilité de quantifier de façon reproductible le volume du cartilage. Puis, nous nous sommes attelés à l'analyse *in vivo* du volume et des épaisseurs du cartilage fémoro-tibial sur une cohorte d'animaux plus étendue, tout en procédant ensuite à des confrontations histomorphométriques. Ultérieurement, nous avons étudié, sur le même imageur haut champ, le processus de la maladie arthrosique induite expérimentalement par section du ligament croisé antérieur et ses répercussions sur la morphologie de l'articulation fémoro-tibiale. Là encore, nous avons réalisé une confrontation histologique pour mieux appréhender les modifications observables en IRM.

Une deuxième grande partie de ce travail de thèse concerne plusieurs études réalisées chez l'Homme sur un imageur clinique de 1,5 Teslas :

Le premier axe de recherche concerne la mesure du temps de relaxation transversal (T2) du signal RMN au sein du cartilage rotulien dans une population saine âgée de 10 à 65 ans. Cette étude a été mise en place afin de quantifier les modifications matricielles du cartilage au cours du processus de vieillissement, et ainsi de proposer des valeurs utilisables comme références dans un contexte de dépistage de signes précoces de la maladie arthrosique.

La deuxième thématique se propose de coupler deux approches différentes, la cartographie T2 et une mesure volumique du cartilage rotulien, afin de quantifier les variations de ces deux paramètres au cours du vieillissement asymptomatique chez l'Homme. L'intérêt de cette étude est de déterminer la sensibilité de chacune des deux approches dans la détection de signes avant-coureurs de l'apparition d'une arthrose.

Enfin, notre dernière étude, originale car jamais encore réalisée dans le contexte de la gonarthrose, concerne l'étude volumique de la membrane synoviale inflammatoire au sein d'une population humaine. Cette étude a été réalisée sur un imageur clinique de 1,5 Teslas chez des patients nécessitant un examen IRM dans le cadre d'actes de soins. L'originalité de notre étude concerne également l'évaluation du degré d'inflammation de la membrane synoviale du genou par une technique élégante de calcul de vitesse de rehaussement du signal IRM après injection de produit de contraste.



Etude bibliographique



1 L'articulation normale et pathologique

1.1 Le cartilage

1.1.1 Généralités

Le tissu cartilagineux est un tissu conjonctif d'origine mésenchymateuse, constitué d'un seul type cellulaire, le *chondrocyte*, ainsi que de fibres et de substance fondamentale [Hayes *et coll.*, 2001]. L'ensemble des fibres et de la substance fondamentale constitue, par définition, la matrice du tissu cartilagineux, dite *matrice extracellulaire*. Dans le cas du cartilage articulaire, à l'exception des surfaces articulaires proprement dites, le cartilage est entouré d'une enveloppe conjonctive appelée périchondre. Cette enveloppe est vascularisée contrairement au cartilage, qui lui, n'est ni innervé ni pourvu de vaisseaux. L'articulation est, quant à elle, délimitée par une membrane synoviale et un manchon fibreux appelé *capsule* qui renforce en-dehors la membrane synoviale. Des ligaments latéraux et parfois intra-articulaires, notamment dans le cas du genou, viennent stabiliser l'articulation. Le cartilage se trouve donc enfermé dans une cavité close stérile et baigne dans un liquide sécrété par la membrane synoviale : le *liquide synovial*.

1.1.2 Classification

Chez l'adulte, il existe trois principaux types de cartilage que sont les cartilages hyalin, élastique et fibreux.

- *le cartilage hyalin* est le type le plus courant de cartilage. Il est rencontré chez l'Homme adulte au niveau des surfaces articulaires, des côtes, de l'arbre trachéobronchique et de la cloison nasale. Il constitue chez le fœtus l'essentiel du squelette avant l'ossification. Chez l'enfant, il forme les cartilages de conjugaison ou de croissance aux extrémités des os.
- *le cartilage élastique* est dénommé ainsi car sa matrice extracellulaire contient de nombreuses fibres élastiques. Il en résulte une grande souplesse du tissu qui peut ainsi supporter certaines déformations réversibles. Chez l'Homme, il est rencontré dans le pavillon de l'oreille, le conduit auditif externe, l'épiglotte et le larynx.
- *le cartilage fibreux* ou *fibrocartilage* fournit une très grande résistance aux tractions et aux compressions. Il peut exister au sein de certaines articulations en s'interposant entre les surfaces cartilagineuses, favorisant ainsi la congruence des surfaces articulaires. Dans l'espèce humaine, il est localisé au niveau des disques intervertébraux, de la symphyse pubienne, des ménisques articulaires (genoux) et de l'insertion de certains tendons (enthèse).

1.1.3 Le cartilage articulaire

Le cartilage articulaire est un tissu sans innervation et sans vascularisation. La nutrition du cartilage se fait par imbibition à partir du liquide synovial, mais également à partir de l'os sous-chondral pour les couches cartilagineuses profondes. L'examen macroscopique du cartilage articulaire révèle une surface blanche, légèrement translucide, lisse et brillante. Sa texture relève d'une certaine souplesse et autorise de légères déformations sous contraintes mécaniques. L'épaisseur du cartilage varie en fonction des articulations, avec des maxima (de l'ordre de 5 à 7 mm) relevés aux niveaux fémoro-patellaire et fémoro-tibial. A l'échelle microscopique, le cartilage articulaire est le siège d'une prolifération cellulaire extrêmement ralentie. L'arrêt de croissance du tissu cartilagineux se fait à un âge encore non évalué avec certitude, et serait la conséquence d'une cessation de recrutement des chondrocytes ou *préchondrocytes*. De même, le processus de mort cellulaire, l'*apoptose*, est lui aussi très limité dans le cartilage articulaire mature sain. Conséquemment à ces deux particularités, le cartilage reste dans un certain état d'*homéostasie*, garantissant ainsi le recouvrement des surfaces articulaires par une épaisseur quasi-fixe de tissu cartilagineux.

1.1.3.a *Stratification du cartilage articulaire*

Le cartilage articulaire est habituellement décrit en couches superposées qui diffèrent entre elles essentiellement par des critères biochimiques (teneur en protéoglycannes) et histologiques (cellularité et architecture du réseau de fibres collagéniques, révélée par sa biréfringence en lumière polarisée).

La couche la plus superficielle du cartilage est une zone acellulaire nommée *lamina splendae*. Cette zone permet l'accrochage de macromolécules présentes dans le liquide synovial et constitue ainsi une couche protectrice pour le cartilage. L'acide hyaluronique, certains phospholipides et la lubricine sont notamment rencontrés à la surface articulaire.

Communément, quatre couches successives sont décrites de la superficie du cartilage jusqu'à l'interface cartilage/os sous-chondral :

- *La couche superficielle* ou *tangentielle* constitue 10 à 20 % de l'épaisseur totale du cartilage articulaire. Cette zone comprend de petits chondrocytes ovalaires ou aplatis (allure fibroblastique) orientés parallèlement à la surface articulaire. De même, les fibres de collagène sont disposées parallèlement à la surface articulaire mais majoritairement dans le sens des mouvements articulaires prédominants. La teneur en protéoglycannes de grande taille et relativement faible. On trouve cependant une relative richesse en fibronectine. Cette couche est en contact direct avec le liquide synovial et constitue la surface de glissement au niveau de l'articulation. En raison de la disposition particulière du réseau collagénique, cette zone résiste particulièrement bien aux forces de friction.
- *La couche transitionnelle intermédiaire* ou *moyenne* s'étend sur 60 % de la hauteur cartilagineuse totale. Les chondrocytes de cette zone sont volumineux et sphériques, sans réelle organisation spatiale. Le réseau de collagène est enchevêtré en tous sens, mais avec une majorité de fibres dirigées obliquement par rapport à la surface articulaire de façon à former des travées voûtées (arches de Benninghoff), contribuant à supporter les forces de compression [Benninghoff, 1925]. Le taux en protéoglycannes augmente fortement en comparaison de la couche superficielle.

- *La couche radiale* ou *profonde* occupe 20 à 30 % de l'épaisseur totale du cartilage. Les chondrocytes sont disposés en colonnes le long des travées collagéniques épaisses et disposées perpendiculairement à la surface articulaire. Les chondrocytes, sphériques, montrent un anabolisme cellulaire plus actif que dans les deux zones précédentes. Il arrive aussi que certains groupes chondrocytaires soient entourés d'une *capsule péricellulaire*, sorte de panier fibreux [Poole, 1997]. Cette formation particulière peut parfois atteindre la couche moyenne et semble constituer une certaine protection des chondrocytes face aux forces de pression et de cisaillement subies par le cartilage. Du fait de l'aspect prolifératif des chondrocytes ainsi que de leur regroupement, ces cellules sont habituellement dénommées chondrocytes *hypertrophiques*. Cette couche radiale est par ailleurs la zone la plus pauvre en eau et inversement la plus riche en protéoglycannes.
- *La couche calcifiée* représente 2 à 3 % de la hauteur du cartilage et repose sur la lame osseuse sous-chondrale. Elle est séparée de la couche sus-jacente par une ligne de démarcation basophile et ondulée : la *tide-mark* ou *front de minéralisation*. Les chondrocytes de cette zone basale conservent leur disposition en file indienne mais sont, en nombre, beaucoup plus restreints, et présentent un aspect de mort apparente. Une concentration pauvre en protéoglycannes est relevée, et les fibres de collagène gardent leur orientation radiale, mais sans continuité avec les fibres collagéniques de l'os sous-chondral. Des cristaux d'hydroxyapatite sont présents et une concentration élevée en calcium est constatée. La jonction entre ce cartilage calcifié et l'os sous-jacent adopte un profil très irrégulier, permettant ainsi l'ancrage du cartilage à la plaque osseuse qui n'est assurée par aucun pont fibreux. C'est aussi au niveau de cette jonction que se situent de rares capillaires vasculaires venant de la moelle osseuse et se terminant aux abords de la *tide-mark*.

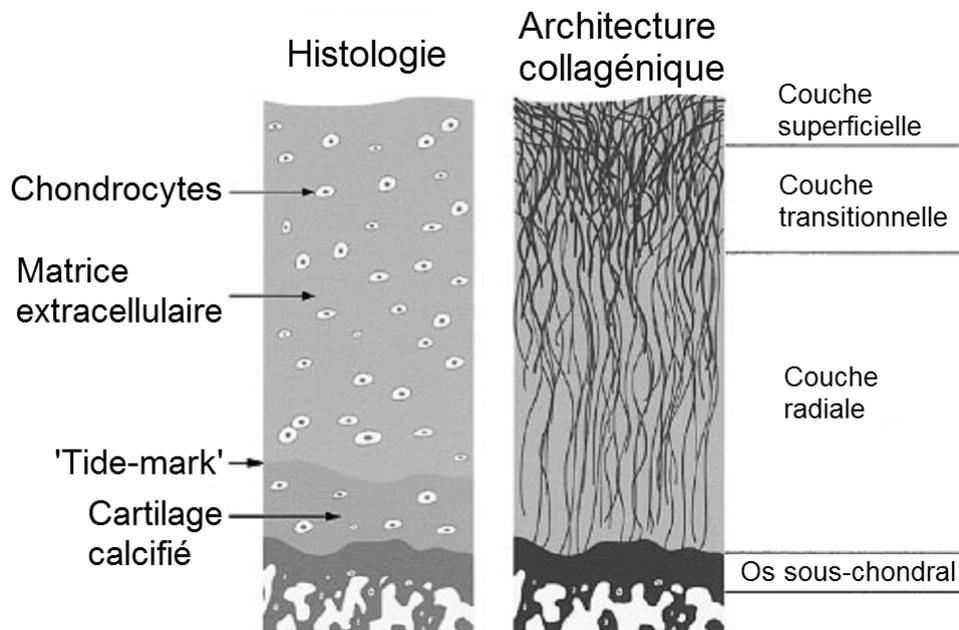


Figure 1. Représentation de l'organisation stratifiée du cartilage articulaire. L'image de gauche montre l'aspect histologique général, tandis que l'image de droite révèle l'architecture du réseau des fibres collagéniques au sein de la matrice extracellulaire.

Source : Jeffrey DR, British Journal of Radiology (2003) 76, 777-787.

1.1.3.b *Le chondrocyte*

Le chondrocyte, unique type cellulaire du cartilage hyalin, est une cellule spécialisée et hautement différenciée. Généralement de forme sphérique ou ovoïde, sa taille atteint 30 à 40 μm de diamètre. Le chondrocyte est séparé de sa matrice extracellulaire par un *espace péri-cellulaire*. Dans cette logette, un grand nombre de molécules d'attache membranaire (collagène de type VI, protéines d'adhésion, héparanes sulfates) relie la cellule à sa matrice environnante, l'ensemble portant le nom de *chondron* [Poole, 1992] ou *chondroplaste*.

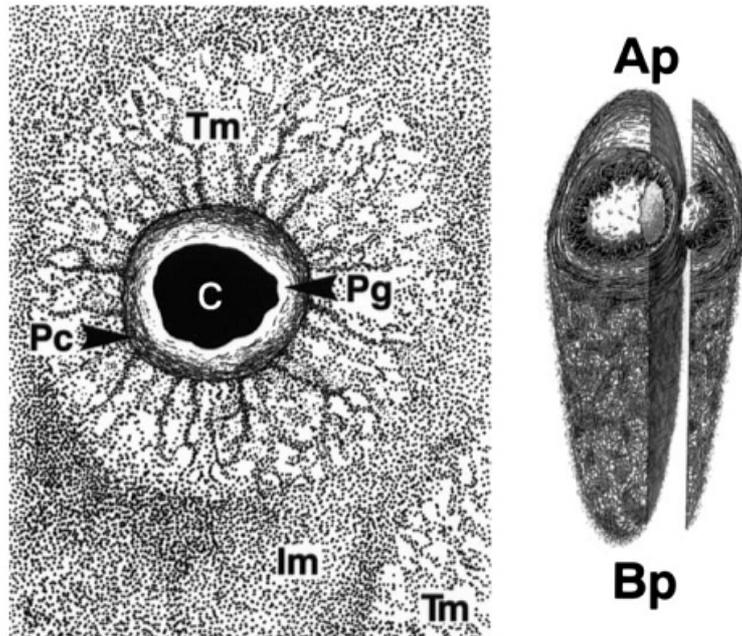


Figure 2. Représentation en deux (à gauche) et trois dimensions (à droite) d'un chondron. Le réseau collagénique est organisé de manière circconférentielle autour du chondrocyte (C). L'espace péri-cellulaire est constitué du glycocalyx (Pg) et de la capsule (Pc), l'ensemble étant lié à la matrice extracellulaire territoriale (Tm) puis inter-territoriale (Im).

Source : CA Poole, J Anat (1997), 191, 1-13.

Les chondrocytes occupent 10 % du volume cartilagineux total (1 à 10 % du volume sec), mais leur nombre, leur taille et leur forme ainsi que leur activité métabolique varient considérablement selon le type d'articulation, la localisation topographique et surtout l'âge de l'individu. En effet, la densité cellulaire tant à décroître avec l'âge.

En raison du caractère avasculaire du cartilage, le chondrocyte utilise essentiellement le glucose et privilégie la voie de la glycolyse anaérobie. Il s'agit d'un des rares tissus à fonctionner en hypoxie. En effet, il existe un gradient hypoxique qui varie de 10 % de teneur en oxygène en surface à 1 % en profondeur. Cependant, les chondrocytes des couches les plus superficielles peuvent utiliser partiellement un fonctionnement aérobie par diffusion de l'oxygène présent dans le liquide synovial. Les chondrocytes ne migrent pas et se multiplient peu ou pas dans un cartilage sain.

L'apport en nutriments provient presque exclusivement du liquide synovial. Celui-ci correspond à un dialysat sélectif du plasma auquel manquent les protéines de poids moléculaire élevé. Le liquide synovial sert également de lubrifiant pour l'articulation, amortit les chocs et évite le contact direct des cartilages articulaires entre eux. Ce pouvoir lubrifiant du liquide synovial est dû à l'abondance en acide hyaluronique de haut poids moléculaire et explique sa viscosité. Il permet aussi l'évacuation des débris issus du cartilage articulaire en les routant jusqu'au tissu synovial, siège de leur phagocytose (*synoviale 'poubelle'*).

Chaque nutriment diffuse des capillaires synoviaux vers le liquide synovial avant d'attendre la matrice extracellulaire du cartilage. Seules les molécules de bas poids moléculaire peuvent pénétrer le cartilage par simple diffusion ou imbibition favorisée par la mobilité de l'articulation. Les molécules plus encombrantes ne peuvent pénétrer que sous l'effet de la compression intermittente qui s'exerce au cours des mouvements. Les macromolécules (albumine, immunoglobuline...) ne peuvent pas pénétrer les mailles serrées de la surface articulaire. La charge ionique des molécules conditionne également l'accès des différentes molécules aux chondrocytes. Le glucose, principal substrat énergétique du chondrocyte, est essentiellement converti en glucosamine pour la synthèse des protéoglycannes.

Chaque cellule possède l'ensemble des organites nécessaires à la synthèse et à la maturation des protéines à destinée intra- et extracellulaire. L'analyse ultrastructurale du chondrocyte révèle un noyau central volumineux, des ribosomes, un réticulum endoplasmique, un appareil de Golgi, des mitochondries ainsi que des vacuoles lipidiques, glycogéniques et lysosomiales. Cependant, le métabolisme chondrocytaire, tout comme l'aspect cellulaire et le nombre de cellules, est très variable selon la zone cartilagineuse considérée [Aydelotte *et coll.*, 1992]. En situation physiologique, le chondrocyte maintient un équilibre dynamique entre la synthèse et la dégradation des protéines structurales (collagènes, protéoglycannes, glycoprotéines) de la matrice cartilagineuse. Sur le versant catabolique, les métalloprotéases, les hyaluronidases, les agrécannases et les cathepsines sont impliquées dans la destruction matricielle. De plus, dans certaines circonstances pathologiques, le chondrocyte est capable de sécréter des cytokines pro-inflammatoires gouvernant le déclin du cartilage articulaire. Enfin, l'homéostasie anabolisme / catabolisme est gouvernée par de nombreux facteurs environnementaux tels que les contraintes mécaniques, les cytokines, les eïcosanoïdes et les facteurs de croissance ($TGF\beta^{\dagger}$, $FGF\beta^{\ddagger}$, IGF^{\S}).

1.1.3.c La matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire du cartilage articulaire est composée majoritairement d'eau (65 à 80 % du poids humide) et de macromolécules (collagène, protéines et glycosaminoglycannes, 20 à 35 % du poids humide). Elle est riche en cations qui équilibrent les charges négatives des protéoglycannes.

- L'eau

Le tissu cartilagineux est caractérisé par un contingent hydrique important. Sa teneur diminue avec l'âge de l'individu et la profondeur du tissu. Les molécules d'eau existent dans le cartilage sous une composante libre et sous une composante liée aux protéoglycannes. L'eau liée confère au cartilage ses propriétés viscoélastiques, tandis que l'eau libre véhicule les nutriments et permet l'évacuation des déchets métaboliques.

- Les protéoglycannes

Les glycosaminoglycannes du cartilage incluent l'acide hyaluronique, les sulfates de chondroïtine, de kératane et de dermatane. La concentration de ces molécules varie selon la zone du cartilage, l'âge de l'individu et l'état morphologique du cartilage. Les protéoglycannes (PGs) sont composés d'une protéine axiale à laquelle sont attachés, par des

[†] Transforming Growth Factor

[‡] Fibroblast Growth Factor

[§] Insulin-like Growth Factor

liaisons covalentes, un nombre variable de chaînes de glycosaminoglycannes, à savoir des sulfates de chondroïtine et de kératane, ainsi que des oligosaccharides. Le cartilage articulaire contient deux classes majeures de protéoglycannes : les agrécannes et les petits protéoglycannes.

○ *Les agrécannes*

Dans la matrice cartilagineuse, la plupart des agrécannes sont associés de façon covalente à l'acide hyaluronique. Une protéine de liaison (*link protein*) stabilise l'association entre les monomères de protéoglycannes (figure 3) et l'acide hyaluronique. Cette association forme les agrégats de protéoglycannes.

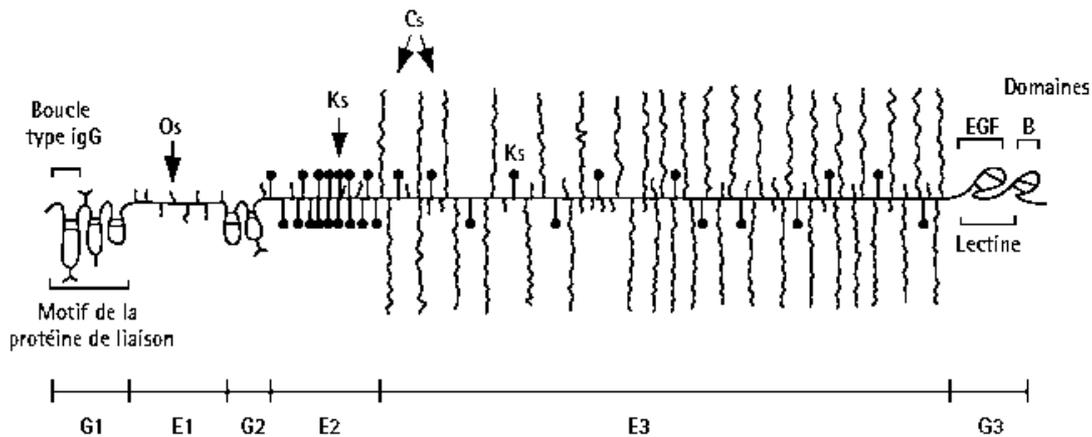


Figure 3. Structure d'un protéoglycane.

Sources : Mazières B., faculté de médecine de Toulouse : <http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/aploco.html>
 Chevalier X. et coll., Traité EMC, Appareil locomoteur, <http://www.em-consulte.com/article/29148> (consultée le 22/09/08).

L'acide hyaluronique s'attache au réseau fibrillaire collagénique et détermine la rétention de l'agrécane dans la matrice extracellulaire [Poole *et coll.*, 1982]. La formation des agrégats aide alors à l'ancrage des PGs à l'intérieur de la matrice cartilagineuse (figure 4) prévenant ainsi leur déplacement durant la déformation du cartilage et stabilise les relations entre les PGs et le réseau collagénique. Ces groupements de PGs sont responsables d'une densité de charges négatives importante à l'intérieur du cartilage [Cohen *et coll.*, 1998], propice aux échanges avec le liquide synovial.

○ *Les petits protéoglycannes*

Cette classe représente la décorine, le biglycane et la fibromoduline. La décorine est formée d'une chaîne de sulfate de dermatane ; le biglycane, lui, est formé de deux chaînes de sulfate de dermatane. La fibromoduline est constituée de plusieurs chaînes de sulfate de kératane. Ces petits protéoglycannes contribuent faiblement à la masse totale des PGs (3 %) [Huber *et coll.*, 2000].

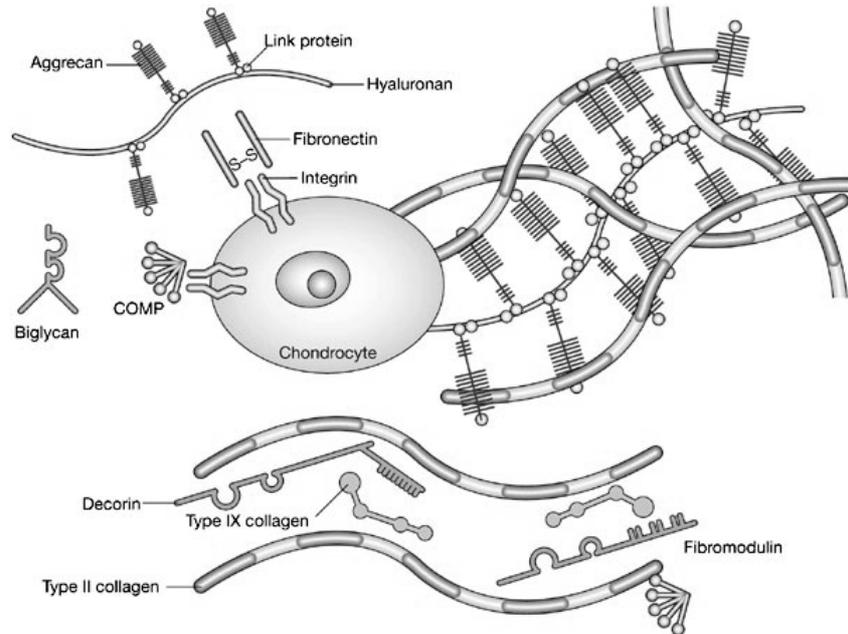


Figure 4. Représentation multi-échelle de l'organisation moléculaire au sein du cartilage articulaire.
Source : Chen F. et coll., Nature Clinical Practice Rheumatology (2006) 2, 373-382.

- Les collagènes

Le cartilage articulaire contient différents types de collagènes spécifiques : types II, VI, IX, X et XI, représentés sur la figure 5.

- *Le collagène de type II*

Le collagène de type II représente la composante collagénique majoritaire du tissu cartilagineux articulaire. Il fait partie du groupe des collagènes fibrillaires qui constituent un long domaine triple hélice hélicoïdal, non interrompu, d'approximativement 300 nm et forment des fibrilles avec des striations ayant une périodicité d'environ 67 nm. La triple hélice est formée par les 3 chaînes $\alpha 1(\text{II})$. Les chaînes α se caractérisent par la répétition d'un triplet d'acides aminés Gly^{**}-Xaa-Yaa. La présence de proline et d'hydroxyproline respectivement dans les positions Xaa et Yaa est importante pour la stabilité de l'hélice ; la flexibilité des diverses zones le long de la molécule paraît dépendre de la distribution de ces aminoacides qui occupent approximativement 30 % de ces positions [Cremer *et coll.*, 1998]. Chaque chaîne forme une hélice à pas de vis gauche et est assemblée avec les deux autres chaînes dans une super-hélice à pas de vis droit. La conformation de la triple hélice place les glycines au centre et expose les chaînes aminoacides en position Xaa et Yaa à la surface de la protéine où elles peuvent alors participer à des interactions latérales. Après la perte des pro-peptides du pro-collagène, les molécules de collagène peuvent s'associer dans la matrice pour former des fibrilles. Les fibrilles du cartilage sont hétérotypiques, formées par plusieurs types de collagène, le principal étant le type II. Le type XI participe à la formation des fibrilles et le type IX est lié d'une manière covalente à la surface de celles-ci [Eyre *et coll.*, 1995]. La participation de ces deux collagènes en proportions diverses influence l'organisation latérale des fibrilles.

** Gly : glycine

○ *Le collagène de type IX*

Ce type de collagène est présent dans le cartilage articulaire, étant associée à la surface des fibrilles de collagène de type II [van der Rest *et coll.*, 1988]. Le contenu du cartilage en collagène de type IX diminue avec l'âge de l'individu. Cette protéine appartient à un groupe de collagène différent des collagènes fibrillaires. Ce groupe a été dénommé FACIT pour *Fibril Associated Collagen with Interrupted Triple helice*. En effet, ce collagène contient trois domaines hélicoïdaux (COL1, COL2 et COL3) et quatre régions non hélicoïdales (NC1, NC2, NC3 et NC4). Chaque molécule résulte de l'assemblage de trois chaînes codées par des gènes différents : $\alpha 1$ (IX) qui contient un volumineux domaine globulaire aminoterminal (NC4) d'environ 250 aminoacides, $\alpha 2$ (IX) qui comporte une chaîne de glycosaminoglycannes liée d'une manière covalente à sa région non hélicoïdale NC3, et $\alpha 3$ (IX).

○ *Le collagène de type XI*

Le collagène de type XI appartient au groupe de collagène fibrillaire. La molécule est formée par trois chaînes différentes : $\alpha 1$ (XI), $\alpha 2$ (XI) et $\alpha 3$ (XI). Les fines fibrilles de collagène de type XI forment le centre des fibres de collagène de type II [Mendler *et coll.*, 1989].

○ *Le collagène de type VI*

Ce type de collagène est retrouvé en petites quantités dans le cartilage articulaire. Il est responsable de la formation de microfibrilles perlées d'une périodicité de 110 nm. La présence de plusieurs séquence-types d'ancrage aux cellules et la distribution prédominante de ce collagène autour des chondrocytes suggèrent un rôle dans l'attachement des cellules aux structures avoisinantes de la matrice.

○ *Le collagène de type X*

Les chondrocytes hypertrophiques synthétisent le collagène de type X dans la zone calcifiée du cartilage articulaire [Schmid *et coll.*, 1985]. Ce collagène joue un rôle important dans la minéralisation du cartilage [Buckwalter *et coll.*, 1997].

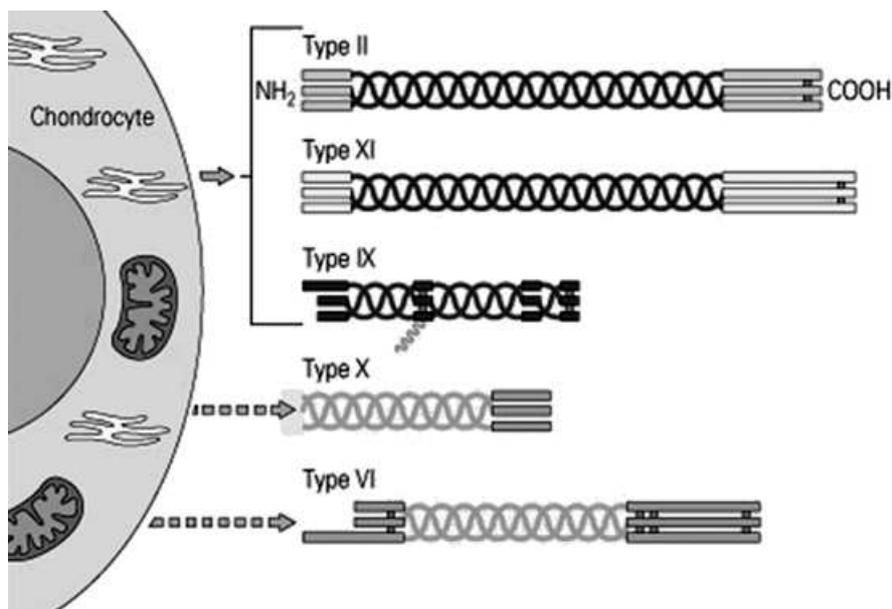


Figure 5. Représentation des différents types de collagène rencontrés au niveau de la matrice extracellulaire du cartilage articulaire.

Source : Faculté de Médecine de Toulouse, <http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/aploco.html> (consultée le 18/09/08).

- Les protéines non collagéniques

Diverses protéines non collagéniques sont présentes au sein du cartilage articulaire. Leur nature ainsi que leur concentration varient selon leur localisation dans le tissu. Elles sont responsables des interactions entre macromolécules de même qu'entre chondrocytes et macromolécules.

Ci-après figure une liste des protéines les plus représentatives :

- les glycoprotéines de liaison qui participent à la formation des agrégats de protéoglycannes,
- la thrombospondine qui joue un rôle dans l'adhérence cellulaire,
- l'anchorine qui aide les chondrocytes à s'ancrer aux fibrilles de collagène [Mollenhauer et coll., 1984],
- la ténascine et la fibronectine influencent l'interaction entre les chondrocytes et la matrice extracellulaire [Huber et coll., 2000],
- la chondrocalcine qui participe à la minéralisation du cartilage [Poole et coll., 1984].

1.1.4 Physiologie du cartilage articulaire

1.1.4.a *Homéostasie du cartilage*

Le chondrocyte possède de grandes capacités métaboliques qui se manifestent surtout dans des conditions pathologiques. Ces cellules assurent la synthèse et le renouvellement de la matrice mais aussi la destruction de sa propre matrice. Dans un cartilage sain il existe un équilibre entre la synthèse et la destruction. Cet équilibre s'effectue grâce à l'intervention des facteurs favorables à l'anabolisme (facteurs de croissance) ou au catabolisme (cytokines pro-inflammatoire). Le chondrocyte est un producteur de cytokines et de facteurs de croissance qui vont réguler son métabolisme.

- La synthèse des constituants matriciels qui est régulée par des facteurs de croissance (TGF- β , IGF-1..).
- La dégradation par des collagénases et des protéases dont l'activité est contrôlée par des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF α ...) [Dijkgraaf et coll., 1995].

Les enzymes de dégradation de la matrice sont les *métalloprotéases* (MMPs). Elles sont sécrétées sous forme inactive par les chondrocytes et agissent à pH neutre. [Martel-Pelletier, 1998]. Les métalloprotéases sont contrôlées physiologiquement par leurs inhibiteurs tissulaires appelés TIMPs. Il existe 3 grandes familles de MMPs :

- les gélatinases clivent les collagènes dénaturés
- les stromélysines hydrolysent les protéoglycannes
- les collagénases sont responsables de la destruction de l'organisation du collagène dans le cartilage.

1.1.4.b *Fonctionnement et renouvellement normaux du cartilage*

Le renouvellement de la matrice extracellulaire est extrêmement lent. Il est pratiquement nul pour les collagènes au cours de la vie, il est de plusieurs centaines de jour pour les protéoglycannes [Chevalier, 1998]. Dans le cas des molécules collagéniques, il existe un *turnover* normal faible dans la région péricellulaire pour le cartilage d'individus jeunes. Ce

renouvellement s'accélère dans le tissu de sujets âgés avec un marquage des collagènes dénaturés et dégradés plus prononcé et plus diffus dont l'aspect se rapproche de celui des lésions arthrosiques débutantes (fibrillations de surface) [Wu *et coll.*, 2002].

1.1.4.c *Sénescence du cartilage*

L'épaisseur du cartilage indemne de fissures varie globalement peu [Mitrovic, 1987]. Avec l'âge, le cartilage prend un aspect jaunâtre, perd de sa déformabilité au profit d'une rigidité accrue [Hudelmaier *et coll.*, 2001]. Il apparaît un accroissement des lésions asymptomatiques macroscopiques du cartilage, débutant au niveau de la surface articulaire (fibrillations).

- Evolution histologique du cartilage vieillissant

Du point de vue histologique, le vieillissement cartilagineux peut être appréhendé par le score de Mankin [Mankin *et coll.*, 1971]. Ce score prend en considération plusieurs aspects microscopiques du tissu cartilagineux, comme :

- l'intégrité de la surface articulaire, la cellularité,
- la teneur en PGs,
- l'épaisseur de la couche de chondrocytes hypertrophiques.

La couche superficielle, même exempte de fibrillations, montre un aspect irrégulier de l'organisation des fibres de collagène. La zone calcifiée, quant à elle, subit un amincissement accompagné de remodelages de la *tide-mark*. Les chondrocytes voient leur nombre décroître, spécialement dans la couche superficielle [Vignon *et coll.*, 1976; Mitrovic *et coll.*, 1983].

Des lésions focales du cartilage vieillissant apparaissent, l'analyse histologique ne permettant pas de différencier clairement ces lésions par rapport à des atteintes arthrosiques précoces. L'anamnèse des événements se traduit par des modifications surfaciques irradiant ensuite vers la profondeur. L'affinité tinctoriale des protéoglycannes tend à décroître, en commençant elle aussi par la couche superficielle du cartilage. Une éventuelle prolifération clonale des chondrocytes peut être observée aux abords des sites lésés. Enfin, le cartilage sénescence peut être le siège de fissures plus ou moins profondes au sein de la matrice extracellulaire.

- Modifications biochimiques

Au cours du vieillissement, la matrice cartilagineuse perd de son contenu hydrique. La concentration en protéines non collagéniques tend à augmenter. Le chondrocyte voit peu à peu son activité métabolique décroître, ayant des implications tant sur l'aspect quantitatif que qualitatif des composés de la matrice extracellulaire. De plus, la cellule chondrocytaire devient moins sensible aux facteurs de croissance et cytokines. Ce ralentissement métabolique général se traduit par une régénération matricielle, voire une réparation, de plus en plus difficile pouvant conduire *in fine* à un stade précoce de la maladie arthrosique.

- *Les protéoglycannes et l'acide hyaluronique*

Le taux de synthèse des protéoglycannes est généralement diminué [Buckwalter *et coll.*, 1985; Wells *et coll.*, 2003]. En revanche, une augmentation de la concentration en acide hyaluronique est communément observée dans le cartilage sénescence. A ces évolutions quantitatives s'associent à des modifications qualitatives des molécules [Holmes *et coll.*, 1988] :

- diminution de la taille des agrégates
- augmentation des kératanes sulfates et du rapport des chondroïtines sulfates C4S/C6S
- diminution des agrégats de PGs

- fragmentation des protéines de liaison
- accumulation de molécules dégradées

o *Les collagènes*

Le réseau collagénique subit également des remaniements importants avec l'âge. Les modifications relevées sont de types [Chambers *et coll.*, 2002; Wu *et coll.*, 2002] :

- augmentation des pontages entre fibres collagéniques
- variabilité du diamètre des fibrilles
- diminution quantitative des fibres (collagène de type II notamment).

1.2 La membrane synoviale

1.2.1 Aspect histologique

La membrane synoviale est un tissu tapissant l'intérieur de la cavité articulaire hormis les surfaces articulaires cartilagineuses. Elle est essentiellement composée de fibres élastiques et de tissu adipeux. Macroscopiquement, elle apparaît comme une membrane fine, lisse, de couleur jaune pâle, au travers de laquelle sont distinguables des vaisseaux de petit calibre ainsi que le tissu fibreux de la capsule.

La membrane synoviale s'organise en trois couches (figure 6) :

- *La couche bordante* ou *intima* qui mesure 20 à 40 microns d'épaisseurs. Elle est composée d'une à deux assises cellulaires.
- *La subintima* contient de nombreux capillaires de la partie superficielle, des artérioles et des vaisseaux lymphatiques. Elle est composée de tissu adipeux, fibreux ou aréolé.
- *La subsynoviale* est un tissu conjonctif plutôt lâche, non spécialisé, dans lequel se trouvent des vaisseaux de plus grande taille. Ce tissu peut être de différents types (alvéolaire, adipeux ou fibreux).

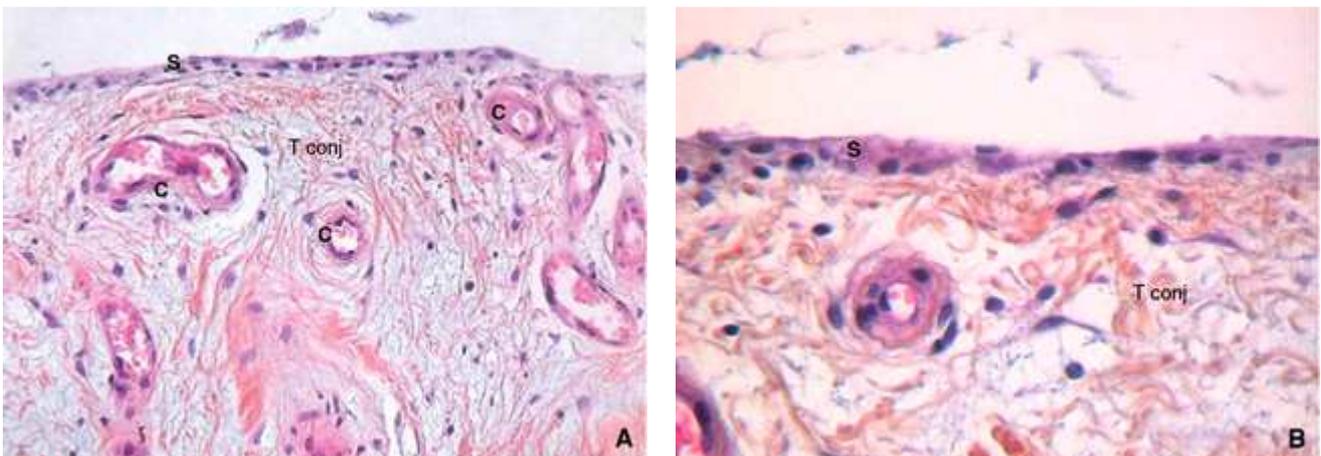


Figure 6. A. Coupe histologique de synoviale (coloration hématoxyline-éosine-safran (HES), x20) montrant le revêtement synoviocytaire (S) reposant sur la subintima, ainsi que le tissu conjonctif (T conj) lâche avec quelques sections capillaires (C). B. Détail de l'intima : revêtement synoviocytaire (S) constitué d'une à deux couches cellulaires (HES, x40).

Source : Ea H.K. et coll., Traité EMC, Appareil locomoteur, <http://www.em-consulte.com/article/179612> (consultée le 22/09/08).

La membrane synoviale est bordée par des cellules spécialisées, les *synoviocytes*, qui sont séparés en différents contingents de par leurs caractéristiques ultra-structurales et cytochimiques, leurs marqueurs moléculaires de surface, leur fonctions phagocytaires et

synthétiques [Allan, 1998]. Trois types de synoviocytes sont classiquement décrits [FitzGerald *et coll.*, 1995] :

- *Les synoviocytes de type A*, dits macrophagiques, sont dérivés des monocytes et présentent des comportements phagocytaires similaires envers les débris de l'espace articulaire. Ils possèdent de multiples marqueurs et récepteurs de surface incluant l'antigène du complexe majeur d'histocompatibilité, à l'instar des cellules immunitaires. Ces synoviocytes représentent environ un tiers du contingent cellulaire.
- *Les synoviocytes de type B* sont les cellules majoritaires de la membrane synoviale. Ils ont des caractéristiques fibroblastiques puisqu'ils possèdent de grandes quantités de réticulum endoplasmique granuleux (REG). Ils produisent ainsi de larges GAGs, incluant le hyaluronate et la lubricine impliqués dans la lubrification de l'articulation. En réponse à des stimuli inflammatoires, les synoviocytes de type B synthétisent également des enzymes qui dégradent la membrane synoviale, le cartilage et l'os. Ces enzymes sont la collagénase, la stromélysine, la cathepsine et l'élastase.
- *Les synoviocytes de type dendritiques* représentent moins de 1 % de la population synoviocytaire totale. Leur rôle demeure encore mal connu.

Aucune membrane basale ne sépare l'intima de la subintima, ce qui confère à la membrane synoviale une caractéristique de tissu lâche et permet ainsi une facilitation de la diffusion des molécules de bas poids moléculaire. Les vaisseaux sanguins sont responsables du transport d'oxygène, des nutriments ainsi que des cellules immunitaires. Les artérioles profondes du synovium possèdent des parois épaisses stimulables par des facteurs locaux.

1.2.2 Rôles de la membrane synoviale

La membrane synoviale remplit trois fonctions principales au sein de l'articulation :

- Elle sécrète, par l'intermédiaire des synoviocytes de type B, l'acide hyaluronique (AH). Ce mucopolysaccharide acide, de par ses propriétés hydrophiles, confère au liquide synovial ses propriétés viscoélastiques et peut ainsi être assimilé à un gel lubrifiant qui contribue à l'absorption des chocs mécaniques. L'AH est une molécule de haut poids moléculaire (6,3 à 7,6 MDa pour un liquide synovial sain [Fam *et coll.*, 2007]). Au cours de la maladie arthrosique, la concentration et le poids moléculaire de l'AH diminuent. Cette molécule entre également dans la constitution de la matrice extracellulaire cartilagineuse, lui conférant élasticité et résistance.
- La membrane synoviale permet l'échange et la filtration entre le liquide synovial et le sang. Le liquide synovial est considéré comme un dialysat du plasma sanguin auquel s'ajoute l'acide hyaluronique. Les protéines de haut poids moléculaires comme les immunoglobulines ne passent pas la barrière synoviale. En revanche, les protéines de bas poids moléculaires (albumine, transferrine), les médicaments et les agents de contraste paramagnétiques utilisés en IRM, diffusent facilement du compartiment sanguin de la membrane synoviale vers le liquide synovial.
- Enfin, les synoviocytes de type A sont responsables de la fonction macrophagique. Les débris cellulaires et d'éventuels fragments cartilagineux sont ainsi résorbés par la

membrane synoviale. Cette action phagocytaire peut provoquer une inflammation synoviale réactionnelle (*synovite*), responsable de la pérennisation des phénomènes inflammatoires au cours de la maladie arthrosique.

Il faut néanmoins noter que la membrane synoviale, de par son innervation abondante, participe activement aux phénomènes douloureux rencontrés au cours de l'arthrose ou d'autres maladies articulaires.

1.3 Le liquide synovial

Le liquide synovial est un fluide clair et visqueux synthétisé par la membrane synoviale. Il résulte d'un transsudat plasmatique au travers des capillaires fenêtrés synoviaux, et ne contient que les molécules du plasma additionné d'acide hyaluronique, ainsi que certaines glycoprotéines sécrétées par les synoviocytes, principalement du type B. L'acide hyaluronique est le constituant principal du liquide synovial et lui confère la plupart de ses caractéristiques. Il s'agit d'un polysaccharide linéaire formé de 10 000 à 12 000 doublets d'acide glycuronique et N-acétylglucosamine, fortement hydraté, et replié en une pelote statique déformable d'environ 0,5 µm de diamètre. Le liquide synovial fait preuve de propriétés rhéologiques uniques. L'acide hyaluronique est responsable, en synergie avec des associations lipidiques en bicouches ou micellaires [Trunfio-Sfarghiu *et coll.*, 2007], de la viscosité et de l'élasticité du liquide synovial. Il assure un coefficient de friction très bas, et protège ainsi la zone superficielle du cartilage en assurant un glissement harmonieux des surfaces articulaires [Buckwalter *et coll.*, 1997].

1.4 La maladie arthrosique

1.4.1 Introduction

Le terme arthrose vient du grec *arthrosis* qui signifie articulation. Elle fait sans doute partie des plus anciennes pathologies connues, puisque certaines momies datant de l'Égypte antique révèlent un squelette portant les stigmates de stades avancés de cette maladie. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'arthrose est 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. Ce déséquilibre peut être initié par de multiples facteurs : génétiques, de développement, métaboliques et traumatiques. L'arthrose affecte non seulement le cartilage et l'os, mais aussi l'ensemble des tissus de l'articulation et se manifeste par des modifications morphologiques, biochimiques, moléculaires et biomécaniques conduisant à un ramollissement (chondromalacie), une fissuration, une ulcération et une perte de cartilage, une sclérose de l'os sous-chondral avec production d'ostéophytes et de géodes sous-chondrales. Lorsque l'arthrose devient symptomatique, elle entraîne douleur et raideur articulaires, ainsi qu'un éventuel épanchement articulaire avec des degrés variables d'inflammation locale.

L'arthrose est une maladie très fréquente et le pourcentage de la population atteinte (*prévalence*) augmente avec l'âge [Hamerman, 1993] : en France, 5 millions de personnes sont concernées par cette pathologie ; 20 à 40 % des seniors de plus de 70 ans ont une arthrose de la hanche ; l'atteinte du genou est quatre fois plus fréquente que celle de la hanche, mais la

pose de prothèse y est deux fois moins réalisée. L'arthrose constitue la seconde cause d'invalidité après les maladies cardio-vasculaires, et représente un véritable enjeu en terme de santé publique [Mankin, 1982]. Avant l'âge de 50 ans, la pathologie arthrosique est également répartie entre hommes et femmes. Puis elle prédomine chez la femme en raison d'une prévalence élevée de la gonarthrose (arthrose du genou) : 35 % des femmes de plus de 65 ans. A 70 ans, 10 % de la population est atteinte d'arthrose de la hanche, 20 à 40 % de gonarthrose, 30 à 40 % d'arthrose au niveau des articulations des mains et plus de 80 % des individus souffrent d'arthrose du rachis.

1.4.2 Prédisposition et facteurs de risques

Communément, une distinction est faite entre les arthroses primitives, dites *idiopathiques*, et les arthroses secondaires en lien avec une anomalie structurale, mécanique ou séquellaires (fracture) des articulations. L'arthrose secondaire concerne généralement une population jeune. Elle peut survenir chez un individu ayant subi des traumatismes (ou microtraumatismes répétés) tels qu'une sollicitation élevée des articulations dans le cadre professionnel et / ou sportif, des fractures, des lésions osseuses et articulaires diverses ou encore des pathologies prédisposant à l'arthrose (maladie osseuse de Paget, dysplasie de la hanche...).

Divers facteurs de risque sont classiquement incriminés dans la genèse de l'arthrose [Peyron, 1987]. Les trois principaux groupes de facteurs sont :

- les facteurs acquis : âge, poids, indice de masse corporelle (IMC), statut hormonal, maladies acquises des articulations/os (ostéoporose), actes chirurgicaux (ménissectomie),
- les facteurs génétiques : sexe, ethnie, rhumatismes inflammatoires,
- les facteurs environnementaux : activités physiques ou professionnelles, traumatismes ostéoarticulaires, sport.

Parmi les facteurs de risques environnementaux, les traumatismes articulaires directs (fissure, fracture) ou indirects (lésion des ligaments croisés du genou) peuvent être différenciés d'une activité professionnelle comportant le port de charges, des gestes répétés ou l'activité sportive de haut niveau (course à pied, sauts...). Paradoxalement, des études épidémiologiques [Hinterwimmer *et coll.*, 2004; Eckstein *et coll.*, 2006d; Racunica *et coll.*, 2007] ont montré qu'un niveau d'activité trop faible (absence de pratique sportive, immobilisation hospitalière) est délétère pour le cartilage articulaire. De même, un excès de masse corporelle accélère les phénomènes arthrosiques [Cicuttini *et coll.*, 2002a; Teichtahl *et coll.*, 2008], en particulier chez les femmes [Cicuttini *et coll.*, 1999b; Ding *et coll.*, 2008b], par l'application de charges trop importantes sur des articulations portantes, en particulier le genou.

1.4.3 Physiopathologie de l'arthrose

L'arthrose est une maladie des articulations due à une détérioration progressive du cartilage articulaire [Peyron, 1973]. Le cartilage joue un rôle clef dans le fonctionnement articulaire. En effet, il représente l'élément qui absorbe les chocs, reçoit, répartit et transmet les pressions à l'os et favorise le glissement / roulement harmonieux des surfaces articulaires les unes sur les autres. Quant au liquide synovial, il possède un rôle lubrifiant et participe au bon fonctionnement articulaire.

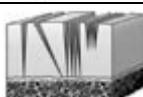
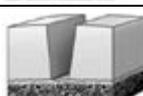
Lors de l'apparition du processus arthrosique, le cartilage se déshydrate, s'amincit, se fissure tout d'abord en surface puis en profondeur. Les fonctions biomécaniques ne sont plus aussi bien assurées. Par des phénomènes compensatoires, la détérioration a des conséquences sur l'ensemble de l'articulation. L'os se condense et durcit aux extrémités, faisant quelquefois apparaître des excroissances osseuses, appelées *ostéophytes*, en bordure de l'articulation. Lorsque des débris cartilagineux et / ou osseux pénètrent dans la cavité articulaire, une inflammation synovitique peut se produire. La membrane synoviale agressive libère à son tour des substances provoquant de nouvelles lésions cartilagineuses. L'ensemble de l'articulation est alors sous le joug d'un véritable cercle vicieux.

Phénomène lié et intriqué au processus de vieillissement, l'arthrose peut toucher toutes les articulations, grandes ou petites. Les articulations les plus touchées sont celles qui soutiennent le poids du corps (articulations portantes) : rachis lombaire (lombarthrose), hanche (coxarthrose), genou (gonarthrose), pied (notamment dans le cas de l'*hallus valgus*), ainsi que les articulations fréquemment sollicitées : vertèbres cervicales, épaule (omarthrose), coude, poignet et main (arthrose digitale). Dans le cas d'atteintes multiples, on parle de polyarthrose. La douleur ressentie par le patient est au premier plan de cette maladie chronique, souvent handicapante, où alternent douleur sourde et poussées aiguës. De ce fait, la progression de la maladie arthrosique est responsable d'une diminution de la qualité de vie des personnes atteintes.

Du point de vue anatomique, les lésions du cartilage articulaire peuvent être classées en 5 stades, selon la classification arthroscopique de Beguin et Locker (tableau 1), qui considère le degré d'atteinte arthrosique [Peyron, 1967; Beguin *et coll.*, 1982] :

Tableau 1. Classification des lésions du cartilage articulaire selon Beguin et Locker

Adapté de : Robert H., Maîtrise Orthopédique (2007), 162, <http://www.maitrise-orthop.com> (consultée le 19/09/08)

	Stade 0 : cartilage articulaire normal
	Stade I : ramollissement (chondromalacie)
	Stade II : fibrillations, fissures superficielles
	Stade III : fissures profondes avec aspect en chair de crabe ou détachement d'un clapet cartilagineux
	Stade IV : ulcération avec mise à nu de l'os sous-chondral

Dans les stades I et II, les lésions sont dites *chondrales*, car elles ne concernent que le cartilage articulaire, sans atteindre la couche calcifiée ni l'os sous-chondral. Un cartilage mature est incapable de produire un néo-tissu de qualité permettant une réparation stable au niveau des lésions superficielles. Dans le meilleur des cas, le tissu normal situé en périphérie de la lésion tente de fournir des composants matriciels destinés à la réparation [De Palma *et coll.*, 1966]. Les lésions profondes de stade III et IV atteignent l'os sous-chondral au-delà de la tide-mark et de la zone calcifiée, d'où la dénomination de lésions *ostéochondrales*. La moelle osseuse referme des cellules précurseurs, ainsi que des facteurs de croissance et des vaisseaux

manquant au cartilage. Ainsi, l'espace médullaire s'ouvrant au fond d'une lésion ostéochondrale participe à sa réparation [Caplan *et coll.*, 1997; Hunziker, 1999]. Un caillot sanguin vient alors combler la lésion [Shapiro *et coll.*, 1993], les cellules mésenchymateuses présentes dans ce caillot étant capables de se différencier en chondrocytes. A un stade ultérieur, le tissu de réparation atteint la surface articulaire, présentant un aspect cartilagineux mais de nature fibrocartilagineuse. Sa tenue mécanique est réduite et tend à se dégrader à long terme [Hangody *et coll.*, 1998].

Au niveau osseux, il n'est pas rare d'observer une réaction pouvant entraîner en périphérie (jonction capsulo-synoviale) la formation d'ostéophytes au niveau de la zone de charge. Cette réaction peut aussi engendrer une condensation osseuse sous-chondrale avec épaissement des travées osseuses. Ceci s'accompagne occasionnellement de kystes intra-osseux à contenu liquidien fibreux ou nécrotique. La membrane synoviale est normale ou fibreuse, sauf lors de poussées congestives d'arthrose pour lesquelles il existe une réaction inflammatoire vis-à-vis des débris cartilagineux libérés dans l'articulation.

1.4.4 Symptomatologie et diagnostique de l'arthrose

Les symptômes de la maladie arthrosique comprennent généralement :

- une douleur dans les articulations atteintes. Pour les stades précoces d'arthrose, la douleur est mécanique ou d'effort. Elle apparaît lors de la réalisation de certains mouvements et cesse au repos. Dans les arthroses sévères, la douleur devient persistante.
 - Une raideur au niveau des articulations et membres concernés. Fréquente au réveil, cette douleur disparaît habituellement 20 à 30 minutes après le levé (*dérouillage matinal*).
 - Une sensation d'instabilité des articulations.
 - Un épanchement articulaire, souvent en cas de poussées congestives.
 - Des déformations osseuses sont souvent observées au niveau des phalanges (nodules de Bouchard et Heberden) ou des genoux (*valgus* ou *varus*).
- Signes radiologiques

La radiographie standard constitue l'examen de routine de diagnostic positif de l'arthrose. Elle permet une évaluation indirecte du cartilage, celui-ci étant radio-transparent. Le pincement de l'interligne articulaire est mesuré là où les deux berges articulaires sont les plus proches. Les ostéophytes juxta-articulaires peuvent élargir les contours articulaires. La condensation de l'os sous-chondral dans la région du pincement articulaire est habituelle. Des géodes peuvent siéger, de façon occasionnelle et tardive, au sein de la condensation. A un stade avancé, des érosions de l'os sous-chondral sont observées dans la zone dépourvue de cartilage. Cependant, la radiographie standard, souvent suffisante lors d'atteintes avérées, pêche par sa faible sensibilité face à des formes arthrosiques précoces. Néanmoins, le recours à des incidences radiologiques particulières permet de contrecarrer ce problème (*Schuss* pour le genou, *Lequesne* pour la hanche).

- Indices d'évaluation clinique

Il existe plusieurs méthodes d'évaluation des symptômes et gênes subis par le patient atteint d'arthrose. L'intérêt de ces méthodes est de les appliquer afin d'apprécier l'effet d'un traitement. Trois types de scores sont majoritairement utilisés :

- *L'échelle visuelle analogique (EVA)* de la douleur [Huskisson, 1974] évalue l'intensité de la douleur à un instant donné ou sur les 48 dernières heures. Cette échelle est graduée de 0 à 10, ce qui donnera un score définitif sur 100 après multiplication par 10. Les limites de cette méthode sont les difficultés de compréhension par le patient, et la notion d'instant présent qui correspond souvent, lors de la consultation ou de l'hospitalisation, à un moment de repos où les douleurs sont moins importantes.
- *L'indice de sévérité symptomatique* de l'arthrose des membres inférieurs WOMAC (*Western Ontario and Mc Master Universities*) qui prend en compte trois items : la douleur, la raideur et la gêne fonctionnelle [Bellamy *et coll.*, 1988]. La réponse aux diverses questions peut être apportée par l'échelle visuelle analogique de la douleur (0 à 10) ou de l'échelle de Lickert comportant 5 réponses possibles (nulle, minime, modérée, sévère, extrême). Le calcul de l'indice de sévérité symptomatique WOMAC est relativement complexe et long à réaliser.
- *L'indice algo-fonctionnel de Lesquesne* se décline en deux versions : l'une pour la gonarthrose, l'autre pour la coxarthrose. Il explore trois paramètres : la douleur ou la gêne, le périmètre de marche maximal et les difficultés de la vie quotidienne. Son score global varie de 0 à 26. C'est le score le plus simple et le plus reproductible [Lesquesne *et coll.*, 1987].

1.4.5 Evolution de l'arthrose

L'arthrose est une maladie lentement évolutive. Son rythme de progression diffère d'une personne à l'autre et n'est pas uniforme au cours du temps [Meachim *et coll.*, 1977; Cicuttini *et coll.*, 1999b; Raynauld *et coll.*, 2004]. Dans la plupart des cas, l'arthrose évolue plutôt lentement sur de nombreuses années. Elle est marquée par des épisodes évolutifs par intermittence avec des poussées congestives aiguës caractérisées par des modifications du rythme de la douleur, suivies de périodes d'accalmie. Ces poussées surviennent à une fréquence variable selon les patients et l'ancienneté de la maladie. Durant ces poussées, une accélération de la dégradation cartilagineuse est observée [Wluka *et coll.*, 2004].

1.4.6 Les traitements de l'arthrose

Sans prise en charge adaptée, la douleur et la raideur articulaires aboutissent à une réduction de l'amplitude des mouvements et, à terme, à un véritable handicap fonctionnel. L'arthrose sévère rend les gestes de la vie quotidienne difficiles voire impossibles. Cela peut aboutir à une dégradation de la qualité de vie. Actuellement, aucun médicament n'est en mesure d'induire une réparation du cartilage lésé. Le but majeur du traitement pharmacologique de l'arthrose est donc de soulager la douleur. Il fait appel aux médicaments et traitements locaux, à la rééducation pour entretenir la musculature et à la chirurgie, notamment dans le cas d'actions correctrices (ostéotomies) ou de la mise en place de prothèses articulaires. Il est

toujours indispensable de commencer tout traitement de l'arthrose par un traitement médical quelle que soit la gravité ou le stade évolutif.

Les traitements médicaux non chirurgicaux de la gonarthrose comportent :

- les antalgiques simples
- les anti-inflammatoires
- les gestes locaux :
 - injections intra-articulaires de corticoïdes,
 - viscosupplémentation par acide hyaluronique,
 - lavage articulaire per-arthroscopique.

Les traitements chirurgicaux de l'arthrose du genou comportent :

- l'ostéotomie de variation
- la réalisation de microfractures (faisant suite aux anciennes techniques de Pridie ou d'abrasion)
- les techniques de mosaïcplastie
- l'ingénierie articulaire par Transfert Autologue Ostéochondrale, ou méthode de Brittberg
- les différentes prothèses de genoux :
 - prothèses partielles ou unicompartmentales,
 - prothèses fémoro-patellaires,
 - prothèses tricompartmentales (à glissement ou à charnière).

Les indications respectives des différents types de prothèse sont fonction de la nature, de la localisation et de l'importance des lésions qui motivent cette intervention. Le principe directeur de base est celui de l'économie osseuse : mettre en place la prothèse nécessitant le moins de résection osseuse permet une intervention plus simple, et surtout ménage l'avenir en laissant une possibilité de reprise chirurgicale éventuelle dans des conditions techniques satisfaisantes. La part du traitement chirurgical dans le traitement des arthroses évoluées reste donc importante, puisqu'il est posé environ 100 000 prothèses de la hanche par an en France, et 50 000 prothèses du genou [Ziza *et coll.*, 2006].



2 Méthodes d'imagerie appliquées à l'arthrose

2.1 Introduction

Par sa fréquence, son retentissement socio-économique et les difficultés thérapeutiques qu'elle pose, l'arthrose est la pathologie prépondérante dans le contexte ostéoarticulaire. Une des grandes caractéristiques de cette affection est le manque de corrélation entre la symptomatologie fonctionnelle et les lésions anatomiques. Le consensus actuel préconise un dépistage précoce de l'arthrose ou des états « pré-arthrosiques », en raison des solutions apportées par l'orthopédie et des espoirs thérapeutiques apportés par de nouveaux médicaments dits *chondroprotecteurs*. Dans ce dépistage précoce, l'imagerie médicale occupe une place de choix. A ce jour, deux méthodes d'évaluation structurale de l'arthrose sont validées : la radiographie standard et l'arthroscopie. En pratique clinique, seule la radiographie standard est utilisable pour suivre un patient arthrosique en appliquant les recommandations de standardisation des clichés (méthode du *Schuss lyonnais*, genou fléchi), mais d'autres protocoles d'imagerie sont actuellement expérimentés : la radiographie et la tomodensitométrie, la scintigraphie osseuse, l'arthrographie et l'arthroscanner, l'échographie, la chondroscopie et l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

2.2 La radiographie

La radiographie standard est actuellement l'examen principal utilisé en routine pour évaluer les modifications structurales de l'arthrose [Altman *et coll.*, 1987; Lequesne *et coll.*, 1994; Altman *et coll.*, 1996]. La radiographie standard a pour atouts sa simplicité et son coût peu onéreux. Elle permet une évaluation indirecte de l'état du cartilage et met en évidence de nombreuses anomalies telles que les ostéophytes (*becs de perroquet*), la sclérose sous-chondrale, le pincement de l'interligne articulaire qui peuvent être évalués tant qualitativement que quantitativement [Scott *et coll.*, 1993; Altman *et coll.*, 1995; Hart *et coll.*, 1995].

Depuis 1957, le score de Kellgren et Lawrence est considéré comme la référence [Kellgren *et coll.*, 1957]. Cet index prend en compte principalement la taille des ostéophytes et le pincement articulaire.

Elle propose cinq stades en fonction des atteintes articulaires :

- 0 : absence, pas de signe d'arthrose
- 1 : doute, ostéophytes minimales de signification douteuse
- 2 : arthrose minimale, ostéophytes sans diminution de l'interligne
- 3 : arthrose modérée, pincement modéré de l'interligne
- 4 : arthrose sévère, pincement significatif de l'interligne avec condensation de l'os sous-chondral.

Quelques critères furent établis en raison de l'imprécision de la définition du score et de l'importance donnée aux ostéophytes. Ces différents critères radiologiques peuvent être évalués individuellement : pincement articulaire, ostéophytes, sclérose sous-chondrale, géodes. Chacun des paramètres est évalué en utilisant le plus souvent une échelle en 4 grades et en utilisant un atlas de référence [Altman *et coll.*, 1995]. En pratique clinique et lors des essais de médicaments chondroprotecteurs, seule la mesure de l'interligne ou la mesure de la surface de l'articulation sont effectuées.

Pour les articulations, la mesure de l'interligne articulaire (figure 7) est considérée comme le critère majeur pour évaluer la progression radiologique des lésions du cartilage [Ravaud *et coll.*, 1997]. Ainsi, il a été proposé de mesurer la distance entre les surfaces articulaires à l'endroit le plus pincé. D'autres auteurs proposent de mesurer la surface d'une partie de l'interligne articulaire, ou sa totalité, à l'aide de techniques de numérisation [Dacre *et coll.*, 1989; Conrozier *et coll.*, 2001; Gordon *et coll.*, 2001]. Ayral [Ayral *et coll.*, 1993] et Blackburn [Blackburn *et coll.*, 1994; Blackburn *et coll.*, 1996] ont signalé que les lésions au niveau de la surface articulaire détectées par l'arthroscopie ont toujours été accompagnées par un amincissement de l'interligne articulaire sur les radiographies.

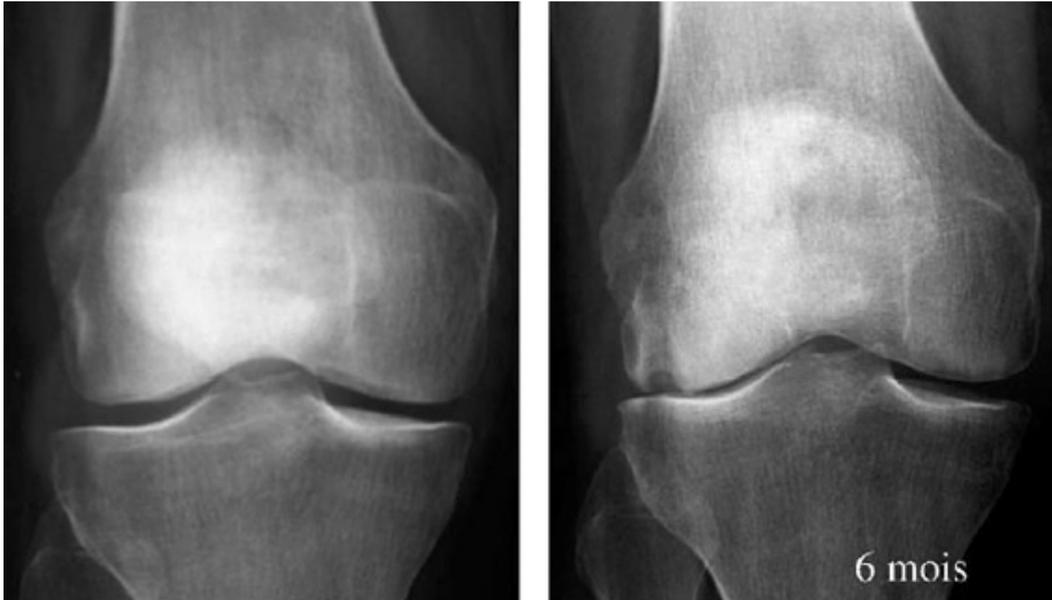


Figure 7. Radiographies d'un genou effectuées à 6 mois d'intervalle. Le cliché de droite montre une diminution de l'interligne articulaire sur le versant latéral de l'articulation.
Adapté de : Loeuille D. et coll., *Revue du Rhumatisme* (2006) 73, 609-616.

Par rapport aux autres méthodes d'imagerie, la radiographie standard conserve ses indications pour le diagnostic et le suivi évolutif. Cependant, cette technique indirecte peut présenter des faux négatifs ou faux positifs, et ne permet qu'une approche partielle dont le clinicien ne puisse se satisfaire lorsqu'il envisage des traitements complexes. Quoiqu'il en soit, la standardisation des protocoles, le positionnement précis de l'articulation et le recours aux repères anatomiques sont les gages de l'acuité et de la reproductibilité des mesures [Buckland-Wright *et coll.*, 1995; Dieppe *et coll.*, 1995; Buckland-Wright, 1997; Dupuis *et coll.*, 2003].

2.3 La tomodensitométrie

Dès son apparition, le scanner a révolutionné le radiodiagnostic. Dans l'étude des articulations, il apporte la « 3ème dimension » sous la forme de vues en coupes axiales impossibles à obtenir par les techniques conventionnelles. S'il ne permet pas une étude satisfaisante des cartilages, le scanner précise par contre fort bien les contours des disques intervertébraux, la présence d'air ou de calcifications et surtout renseigne sur l'état de l'os sous-chondral et les rapports articulaires [Chan *et coll.*, 1991]. Sur les images obtenues il est courant de retrouver les différents éléments du *syndrome radiologique d'arthrose* (pincement de l'interligne articulaire, ostéocondensation et géodes épiphysaires, ostéophytes marginaux)

et il est même possible, dans certains cas, de les dépister. Différentes mesures de densité, de surface, de distance sont aisément réalisables. De plus de l'apport dans le diagnostic de l'arthrose le scanner joue un rôle dans la recherche de certaines étiologies (dysplasies, malpositions articulaires, anomalies rotationnelles ...); de même certaines conséquences de l'arthrose sont bien analysées (par exemple : retentissement de certains ostéophytes vertébraux sur le contenu du canal rachidien et des trous de conjugaison). Toutefois, dans l'arthrose cet examen ne devient vraiment complet qu'après opacification de l'espace articulaire (arthro-scanner) ou du disque intervertébral (disco-scanner) [Resnick, 2004].

2.4 La scintigraphie osseuse

La scintigraphie osseuse aux diphosphonates marqués au Technétium 99m (Tc^{99m}) permet une exploration indirecte du cartilage. En l'absence de lésions chondrales, l'examen révèle des zones d'hyperfixation du diphosphonate liées à son incorporation dans l'os ostéoïde en cours de minéralisation [Christensen, 1985; Dye *et coll.*, 1986]. En cas d'altération du cartilage lors d'un processus dégénératif ou inflammatoire, une hyperfixation est observée dans la zone osseuse sous-jacente concernée. Elle correspond aux phénomènes de remaniements localisés au sein de l'os sous-chondral ou des ostéophytes et/ou un œdème de l'os trabéculaire (vasodilatation vasculaire, extravasation du diphosphonate). Les anomalies observées en scintigraphie reflètent à la fois des lésions évolutives, mais également des lésions anciennes (plus d'un an) en cours de réparation. Du fait de sa faible résolution spatiale (7-10 mm), l'étude précise de l'articulation s'en trouve limitée et n'est pas bien adaptée à l'évaluation de la progression arthrosique. La scintigraphie osseuse ne présente ainsi aucun intérêt pour le dépistage de lésions débutantes du cartilage en l'absence de remaniements sous-chondraux.

2.5 Arthrographie et arthroscanner

L'arthrographie permet une meilleure visualisation du cartilage que la radiographie standard. Il apparaît en négatif sous forme d'une bande transparente, limitée d'un côté par le produit de contraste et de l'autre par l'os sous-chondral. Elle permet une mesure plus précise de l'épaisseur du cartilage, une appréciation de la surface et la mise en évidence d'anomalies localisées (encoches, ostéochondrites, fissures ostéochondrales, irrégularités de surface...) [Blackburn *et coll.*, 1994]. Toutefois, les superpositions des surfaces articulaires expliquent qu'une chondropathie discrète d'un condyle ou d'un plateau tibial puisse passer inaperçue [Silbermann-Hoffman *et coll.*, 1997]. Actuellement, cet examen n'est plus que rarement utilisé dans le cadre de l'étude du cartilage en raison de son caractère invasif, mais reste encore pertinent pour les atteintes méniscales.

L'arthroscanner est capable de donner plus d'informations sur le cartilage que la radiographie standard et l'échographie [Boven *et coll.*, 1982; Reiser *et coll.*, 1982]. La qualité des images est nettement supérieure à celle obtenue lors d'une arthrographie. Cette technique est invasive, irradiante et ne permet pas d'apprécier les réactions de l'os (œdème), la structure du tissu cartilagineux et l'inflammation synoviale. Elle représente toutefois un bon index relatif aux lésions superficielles du cartilage, aux pertes chondrales, et permet une analyse adaptée à l'étude de la membrane synoviale.

2.6 L'échographie articulaire

L'échographie est largement utilisée en rhumatologie tant à visée diagnostic dans les lésions musculaires et tendineuses que dans le dépistage de l'ostéoporose. En revanche, l'emploi de cette technique dans l'étude du cartilage ou de la maladie arthrosique est extrêmement limité et est en cours de recherche. Les travaux de Myers [Myers *et coll.*, 1995] ont montré, sur une image haute fréquence, une grande précision et reproductibilité dans les mesures de l'épaisseur et les caractéristiques de la surface du cartilage articulaire normal ou arthrosique. Cependant, seules les parties du cartilage peu profondes et accessibles à la sonde peuvent être explorées. L'utilisation de cette technique pourrait se faire au cours d'un examen endo-articulaire où la sonde serait mise en contact direct du cartilage. Des travaux expérimentaux ont été réalisés sur la caractérisation ultrasonore du cartilage articulaire chez le rat, dans le but de développer un outil d'exploration endo-articulaire permettant d'obtenir des informations sur la structure interne du cartilage [Pellaumail *et coll.*, 2002].

Classiquement, le cartilage articulaire apparaît hypoéchogène alors que l'os sous-chondral et l'interface cartilage-liquide sont hyperéchogènes [Aisen *et coll.*, 1984; Cherin *et coll.*, 2001]. Ses contours peuvent être analysés et son épaisseur mesurée. Dans un contexte pathologique, des modifications focales d'échogénicité peuvent apparaître au sein du tissu cartilagineux [Cherin *et coll.*, 1998]. Cependant, l'approche échographique reste partielle : elle ne permet pas une étude en routine des articulations et ne peut constituer qu'un complément de l'examen des parties molles péri-articulaires [Blackburn *et coll.*, 1996]. En effet, l'échographie apporte des informations pertinentes quant aux phénomènes inflammatoires (épanchement synovial, bursite, polyarthrite rhumatoïde...) [Chao *et coll.*, 2008], et révèle l'état du réseau vasculaire [Rubin *et coll.*, 1995] de l'articulation (en particulier en utilisant le mode doppler, avec ou sans produit de contraste).

2.7 La chondroscopie, ou mini arthroscopie

L'arthroscopie est le seul examen offrant une visualisation directe, fine et complète des surfaces articulaires du genou. Elle permet également d'apprécier les modifications qualitatives et quantitatives de la membrane synoviale au cours de la gonarthrose et d'appréhender, *in vivo*, les interactions entre les chondropathies et l'inflammation synoviale. La chondroscopie permet d'évaluer et de quantifier les lésions cartilagineuses du genou en vue de mettre en évidence un effet chondroprotecteur des nouvelles molécules proposées comme médicaments « anti-arthrosiques ».

Deux approches différentes sont utilisées pour quantifier les lésions du cartilage :

La première consiste à évaluer globalement, au cours de l'arthroscopie, la sévérité des lésions cartilagineuses de chaque surface articulaire du genou (rotule, trochlée, plateaux et condyles internes et externes) et de reporter cette appréciation personnelle sur une EVA à 100 niveaux (0 représentant l'absence de chondropathie du compartiment, et 100 la chondropathie la plus évoluée possible). Une échelle est utilisée pour chacune des surfaces articulaires.

La seconde approche, plus analytique, dédiée à l'articulation du genou correspond au score et à la classification arthroscopiques des lésions cartilagineuses proposées par le Société Française d'Arthroscopie (SFA), prenant en compte les 3 paramètres des chondropathies, à savoir leur localisation, leur profondeur (appréciée selon la classification arthroscopique de

Beguin et Locker en 5 stades (tableau 1) et leur étendue [Ayrat *et coll.*, 1994; Dougados *et coll.*, 1994]. Pour chaque surface articulaire, le pourcentage de la surface des lésions chondrales est calculé pour chaque grade. Ainsi, un score fémoro-patellaire sur 200 points est obtenu (2 surfaces articulaires) et un score fémoro-tibial sur 400 points (4 surfaces articulaires). Toutes les lésions du cartilage sont reportées sur un schéma du genou par l'investigateur. Le score global du genou en arthroscopie varie de 0 à 600 points. Un score de 0 correspond à un cartilage normal, alors qu'un score de 600 points signifie une absence totale de cartilage (mise à nu de l'os sous-chondral).

L'arthroscopie demeure une technique invasive qui devrait servir d'outil de référence pour la validation des techniques non invasives telles que les radiographies en *schuss*. Par ailleurs, la chondroscopie n'est pas couramment utilisée comme outil métrologique lors des essais des médicaments chondroprotecteurs, bien qu'elle le soit ponctuellement pour le suivi des chondropathies focales lors de greffe de chondrocytes.

2.8 L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

2.8.1 Introduction

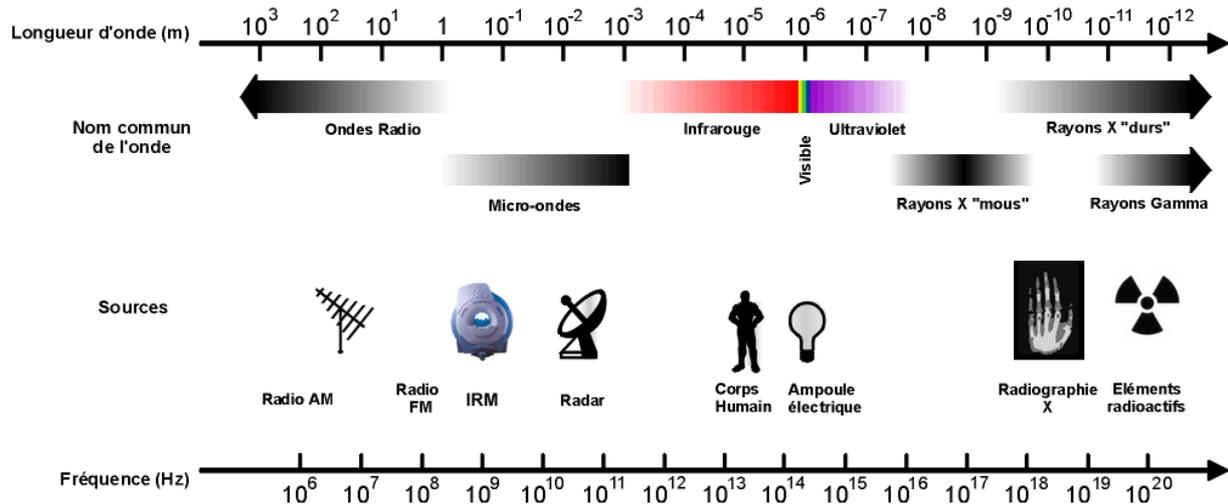
La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est le fruit du couplage énergétique entre un moment magnétique nucléaire et un champ magnétique B_0 . Cette technique est relativement récente car le phénomène RMN a été mis en évidence pour la première fois en 1946 par Bloch et Purcell indépendamment. Cependant, elle occupe une place de choix parmi les méthodes spectroscopiques. La RMN permet, à l'aide d'impulsions de champs radiofréquence, d'analyser un très grand nombre d'expériences qui se révèlent applicables dans de nombreux domaines : la chimie, la biologie, la médecine, les sciences des matériaux, alors qu'à ses débuts elle se limitait à mesurer essentiellement des moments magnétiques nucléaires.

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), apparue en 1973, est devenue un outil performant et non agressif de diagnostic médical, venant largement compléter la tomographie à rayons X, les ultrasons, la magnétoencéphalographie et la tomographie par émission de positons (TEP). Théoriquement la RMN n'a pas de domaine de fréquence propre puisque celle-ci peut varier avec l'intensité du champ magnétique appliqué. Cependant, les champs magnétiques actuellement accessibles permettent de situer la RMN dans le domaine des radiofréquences (fréquences inférieures à celles des micro-ondes). La figure 8 représente le spectre du domaine allant des radiofréquences aux rayons gamma. Il permet de situer les diverses spectroscopies à partir de leur plage d'utilisation en fréquences. Les énergies et les longueurs d'onde associées à ces spectroscopies peuvent être déduites des relations suivantes :

$$E = h \times \nu \quad \text{Eq. 1}$$

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{Eq. 2}$$

Avec : E , l'énergie de l'onde électromagnétique (en Joules),
 h , la constante de Planck ($\approx 6,626\ 068\ 96 \times 10^{-34}$ J.s),
 ν , la fréquence de l'onde électromagnétique (en Hertz),
 λ , la longueur d'onde (en mètre),
 c , la célérité de l'onde électromagnétique (m.s^{-1}).



Adapté de : Ecole Polytechnique Universitaire de Lille, <http://www.eudil.fr/eudil/tec35/hyper/hyperc1.htm> (consultée le 18/09/08).

L'énergie utilisée en RMN dans le domaine des radiofréquences est environ 10^9 fois inférieure à l'énergie des photons utilisés en radiologie X conventionnelle. Par conséquent, la RMN est considérée comme une technique non agressive, n'affectant pas les tissus biologiques. L'IRM représente donc une alternative aux techniques radiographiques et tomodensitométriques lorsque les tissus à explorer sont sensibles aux rayonnements ionisants. L'IRM se révèle capable de mesurer un nombre important de paramètres physiques, permettant ainsi d'obtenir des images avec des contrastes variés. Son 'pouvoir contrastant' et sa définition autorisent une caractérisation tissulaire remarquable.

2.8.2 La technique d'IRM dans l'étude du cartilage

L'IRM possède le potentiel de fournir des images à haute résolution spatiale des tissus mous, permettant la visualisation anatomique et la détermination des pathologies. L'IRM est la seule technique capable de visualiser directement et simultanément l'ensemble des constituants de l'articulation. Cette faculté permet à l'investigateur d'étudier la totalité des organes d'intérêt [Peterfy *et coll.*, 1994a]. L'IRM est une technique adaptée pour un diagnostic fiable d'une large variété de pathologies rhumatologiques des articulations périphériques [Ehman *et coll.*, 1988; Deutsch *et coll.*, 1989]. L'IRM est cependant la plus coûteuse des modalités utilisées dans l'imagerie du genou [Ruwe *et coll.*, 1992]. Cependant, elle présente plusieurs avantages tels que ses capacités d'acquisition multi-planaire, l'excellent contraste entre les différents tissus ainsi que son caractère non invasif et non irradiant. Les travaux de Buckland-Wright *et coll.* [Buckland-Wright, 1997], confirmés par Chan [Chan *et coll.*, 1991], ont montré que l'IRM est plus sensible que la radiographie et l'arthroscopie pour la détection d'anomalies de type arthrosique, et qu'elle est absolument unique pour l'évaluation des modifications des tissus mous.

De plus, les performances de l'IRM dans l'investigation du cartilage articulaire sont en constante évolution : implémentation de nouvelles séquences pour la visualisation du cartilage [Recht *et coll.*, 1993; Tervonen *et coll.*, 1993], développement de nouveaux capteurs radiofréquence, mais aussi utilisation de produits de contraste intra-articulaire [Engel, 1990; Blum *et coll.*, 2003] et

intra-veineux [Drape *et coll.*, 1993; Winalski *et coll.*, 1993]. Ces développements ont stimulé les études *in vitro* sur le cartilage hyalin, sur des pièces anatomiques ainsi que dans le domaine de la recherche clinique utilisant l'IRM [Gyls-Morin *et coll.*, 1987; Hodler *et coll.*, 1992; Jonsson *et coll.*, 1992; Monson *et coll.*, 1992]. Les modèles *in vitro* ont des avantages certains, incluant la reproductibilité de positionnement et la possibilité de comparaison directe des résultats IRM obtenus avec des examens histologiques. Plusieurs auteurs ont étudié les corrélations IRM/histologie ou IRM/arthroscopie [Handelberg *et coll.*, 1990; Broderick *et coll.*, 1994; Peterfy *et coll.*, 1994a; Disler *et coll.*, 1996]. D'autres études ont comparé les capacités diagnostiques de l'IRM à celles d'autres modalités comme la radiographie planaire [McAlindon *et coll.*, 1991; Blackburn *et coll.*, 1994; Munasinghe *et coll.*, 1996], le scanner [Chan *et coll.*, 1991] et les critères physiopathologiques [Adams *et coll.*, 1991; McAlindon *et coll.*, 1991; Loeuille *et coll.*, 1997], pour détecter des anomalies cartilagineuses focales. Ces travaux ont mis en évidence le potentiel de l'IRM pour étudier et analyser la maladie arthrosique. Quelques auteurs ont analysé *in vivo* les changements des os sous-chondral et trabéculaire par IRM dans le cadre de cette pathologie [McGibbon *et coll.*, 1998; Beuf *et coll.*, 2002; Bolbos *et coll.*, 2008b]. Bien que l'attention des chercheurs soit dirigée préférentiellement vers la quantification du cartilage hyalin dans des conditions normales et pathologiques [Peterfy *et coll.*, 1995; Kladny *et coll.*, 1996; Tan *et coll.*, 1996; Eckstein *et coll.*, 1998a], l'hypothèse de changements quantitatifs de l'os sous-chondral dans les stades précoces de l'arthrose a été émise [Watson *et coll.*, 1996a; Watson *et coll.*, 1996b].

2.8.3 Les séquences d'acquisition en IRM

2.8.3.a *Séquences classiques*

Les séquences en écho de spin pondérées T1 : elles sont caractérisées par une bonne qualité de l'image (bon rapport signal sur bruit et bonne résolution), mais elles présentent un mauvais contraste entre le cartilage et le liquide synovial. Le diagnostic des lésions est évalué avec une précision de 70 % [Recht *et coll.*, 1994]. Il faut garder en mémoire que ces séquences sont utiles notamment pour toutes les lésions de stade IV, car elles permettent une analyse idéale du liseré cortical et l'état de l'os sous-cortical, rarement intact à ce stade.

Les séquences en 'double écho' associant une imagerie en densité de protons et en T2 permettent d'obtenir un meilleur contraste avec un cartilage relativement intense en pondération densité de protons, et bien marqué en pondération T2.

L'écho de spin est aujourd'hui abandonné au profit de séquences plus rapides. Les séquences de type *fast* ou *turbo spin-echo* permettent de garder globalement la même qualité d'image, mais dans un temps d'acquisition nettement plus court (de l'ordre de 5 minutes). Ces séquences permettent de limiter la survenue d'artéfacts de mouvement. Actuellement, la saturation des signaux de la graisse est souvent utilisée avec ses séquences. Ceci a pour effet de majorer nettement le contraste entre le cartilage et l'eau, le cartilage et le tissu osseux. Dans une étude datant de 1998, l'équipe de Potter [Potter *et coll.*, 1998] montre qu'avec ces séquences dites classiques, à condition d'utiliser une matrice élevée, la valeur diagnostique est de 92 %, la sensibilité de 87 % et la spécificité de 94 %.

2.8.3.b Séquences spécifiques de l'imagerie du cartilage

Il existe de nombreuses séquences fondées sur l'écho de gradient 3D. Les variantes s'appellent FISP (*Fast Imaging with Steady-state Precession*), DESS (*Dual Echo Steady State*), GRASS (*Gradient Recalled Acquisition in Steady State*), SPGR (*Spoiled GRASS*). Elles présentent l'énorme avantage de permettre des coupes millimétriques et des reconstructions dans les trois plans de l'espace. Pour Disler [Disler, 1997], ces séquences en écho de gradient 3D ont permis d'améliorer les performances diagnostiques de 38 à 75 %. Les techniques 3D mettent en évidence un cartilage spontanément en hyper-signal franc, contrastant avec l'ensemble des structures graisseuses, liquidiennes et osseuses restant en hypo-signal plus ou moins franc.

L'arthrographie par IRM nécessite l'injection intra-articulaire d'une très faible quantité de gadolinium. Elle a l'avantage de pouvoir être associée à des séquences en écho de spin en pondération T1, réputées pour leur qualité et leur fiabilité, qu'elles soient effectuées avec ou sans suppression du signal de la graisse. Il s'agit cependant de coupes relativement épaisses que l'on peut actuellement réduire à 2 mm (en 2D). On pourra privilégier les séquences millimétriques 3D SPGR qui gagnent à être effectuées avec saturation des signaux lipidiques afin de conserver un bon contraste entre le liquide intra-articulaire et le cartilage. Un effet arthrographique peut également être réalisé après injection intra-veineuse de gadolinium [Drape *et coll.*, 1993] qui diffuse progressivement dans la cavité articulaire, ce qui permet d'obtenir une amélioration évaluée à 20 % de la visibilité du cartilage par rapport au cas sans injection. Il est nécessaire de faire marcher le patient au minimum une demi-heure avant l'examen. L'équipe de Bashir [Bashir *et coll.*, 1996] a montré par ailleurs que le gadolinium peut pénétrer dans le cartilage par la surface lorsqu'il est présent dans la cavité intra-articulaire, mais aussi en surface et dans la zone profonde osseuse lorsqu'il est injecté par voie intra-veineuse. Une diminution de 50 % du contenu cartilagineux en GAG se traduit par une baisse de l'imprégnation en gadolinium d'environ 30 % en utilisant la technique récente dGEMRIC (*delayed Gadolinium Enhanced MRI of Cartilage*, cf. paragraphe 3.4.5) [Gold *et coll.*, 2006].

Les images pondérées en T1 peuvent être plus utiles que celle pondérées en T2 dans le dépistage des anomalies de petite taille. Cependant, en présence d'un épanchement, un effet arthrographique obtenu avec les IRM pondérées en T2 augmente l'évidence des lésions. Les images d'écho de spin pondérées en T1 et en densité de protons ont le désavantage d'avoir un faible contraste entre le cartilage et les autres structures qui l'entourent. Les images d'écho de spin avec suppression de la graisse rendent le cartilage articulaire hyper-intense, en fort contraste avec les structures adjacentes [Peterfy *et coll.*, 1994a; van Leersum *et coll.*, 1995]. En plus de ces techniques conventionnelles d'écho de spin, il est possible d'employer des séquences pondérées en T1 avec suppression de la graisse (*hybrid fat suppression*) qui amplifie la visibilité du cartilage hyalin [Chandnani *et coll.*, 1991].

Les séquences d'écho de gradient peuvent être combinées avec des acquisitions 3D délivrant ainsi des coupes plus fines et jointives, ce qui constitue un avantage certain pour les petites articulations et pour les patients présentant des lésions précoces du cartilage. En particulier, la séquence tridimensionnelle d'écho de gradient SPGR (*3D SPOiled Gradient Echo*) avec suppression de la graisse se révèle rapide et significativement plus sensible que les techniques IRM 2D standards en ce qui concerne la détection des défauts cartilagineux [Peterfy *et coll.*, 1994a; Disler *et coll.*, 1996; Recht *et coll.*, 1996]. Cette séquence a montré une excellente reproductibilité inter- et intra-observateur [Peterfy *et coll.*, 1994b; Disler *et coll.*, 1996].

3 Etudes morphologique et structurale par IRM

3.1 Introduction

Un obstacle important dans les tests d'efficacité des approches thérapeutiques de l'arthrose a été l'incapacité d'évaluer le statut du cartilage directement par des techniques non invasives [Beary, 2001; Peterfy, 2001]. L'arrivée de l'IRM, technique non invasive avec des capacités d'acquisition multi-coupes et multi-dimensionnelles pour un contraste inégalé des tissus mous, a créé l'opportunité d'évaluer l'intégrité des articulations : cartilage articulaire, os, tendons, ligaments, ménisques. Cependant, la minceur du cartilage, sa géométrie complexe, son temps de relaxation transversal (T2) relativement court, sa composition complexe et ses sources variées d'artéfacts potentiels font de l'IRM quantitative du cartilage articulaire un réel défi. Dans le contexte arthrosique, l'étude de la surface du cartilage devient plus difficile à définir en raison de modifications focales, de fibrillations et d'amincissement du cartilage, mais aussi de l'apparition de tissus réparateurs et d'ostéophytes. Néanmoins, des avancées techniques significatives en IRM et dans le traitement des images ont révolutionné l'évaluation non invasive de la morphologie et de la structure du cartilage.

L'imagerie RMN possède des atouts uniques pour l'étude *in vivo* du cartilage (morphologie et structure) et des structures trabéculaires sous-chondrales. C'est une technique d'utilisation courante dans la pathologie de l'appareil locomoteur. Non agressive, l'IRM permet d'obtenir *in vivo* des images avec une résolution spatiale élevée et son caractère multiparamétrique autorise une bonne caractérisation tissulaire par le choix des contrastes. L'IRM, et plus particulièrement la microscopie RMN, apparaît donc comme une technique particulièrement adaptée au suivi *in vivo* des dégradations et des réparations de l'arthrose. La densité importante d'eau (liée ou libre) contenue dans le cartilage rend l'IRM extrêmement performante dans l'étude morphologique du cartilage. Elle permet d'avoir des images très contrastées grâce à la suppression des tissus graisseux environnants ; l'acquisition tridimensionnelle délivrant quant à elle des coupes fines et jointives de tout le volume cartilagineux.

De nombreuses études ont également mis en évidence la structure du cartilage par IRM. Ces études utilisent des techniques de mesure de temps de relaxation (longitudinal (T1) et/ou transversal (T2)), le transfert d'aimantation et la diffusion. Toutes ces techniques renseignent, de manière différente, sur l'orientation des fibres de collagène ou l'organisation de la matrice extracellulaire. En complément, l'injection de produit de contraste de type Gd-DTPA a permis de mettre en évidence, de manière extrêmement localisée, le contenu en protéoglycannes et sa dépendance avec le degré de dégradation de la structure du cartilage. Dans la suite de ce chapitre, nous allons décrire les différentes méthodes d'évaluation de la morphologie (épaisseur, volume) et de la structure (composition 'biochimique') du tissu cartilagineux articulaire. Nous nous focaliserons davantage sur le cartilage du genou qui constitue une part importante des travaux de thèse réalisés.

3.2 Etudes IRM semi-quantitatives des défauts cartilagineux

Un nombre conséquent de scores semi-quantitatifs ont été développés pour l'imagerie du cartilage articulaire. La plupart de ces méthodes graduent la sévérité de l'amincissement du cartilage sur des échelles de 0 à 4. Des études ont montré de hautes spécificité et sensibilité des séquences SPGR pondérées T1 (avec suppression de la graisse) dans la détection des lésions chondrales sur pièces anatomiques de même qu'*in vivo*, en comparaison avec des relevés arthroscopiques [Recht *et coll.*, 1993; Disler *et coll.*, 1996; Recht *et coll.*, 1996]. Des résultats similaires sont trouvés avec des séquences d'acquisition rapides FSE pondérée T2 (avec suppression de la graisse) [Broderick *et coll.*, 1994; Kawahara *et coll.*, 1998].

Peterfy *et coll.* ont récemment décrit un système de score avec lequel les lésions cartilagineuses sont graduées selon leurs profondeur et étendue (figure 9) le long de la surface articulaire. Ce score, échelonné sur 8 grades, est en fait une partie d'un système de score plus complet : le *whole-organ MRI scoring*, dans lequel sont évaluées des caractéristiques de la globalité de l'articulation [Peterfy *et coll.*, 2004; Peterfy *et coll.*, 2006]. En dépit de la relative complexité de ce score et de son échelle étendue, l'étude statistique montre un bon accord des mesures semi-quantitatives entre différents observateurs.

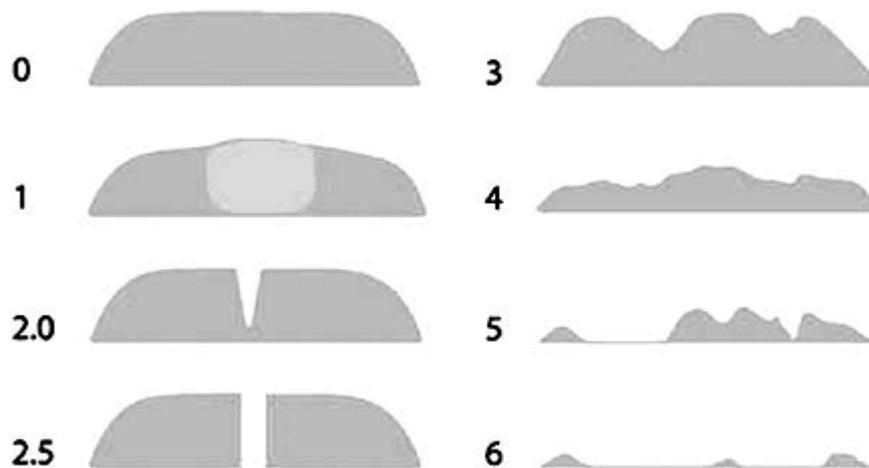


Figure 9. Score semi-quantitatif à 8 grades d'évaluation du signal IRM et de l'état morphologique du cartilage articulaire :

- 0 : cartilage et signal IRM normaux,
- 1 : épaisseur normale mais signal T2 élevé,
- 2.0 : défaut focal à profondeur restreinte,
- 2.5 : défaut focal allant jusqu'à l'os sous-chondral,
- 3 : défauts multiples (de grade 2.0) de la surface articulaire,
- 4 : perte diffuse au niveau de l'épaisseur cartilagineuse (≥ 75 % de la surface articulaire),
- 5 : multiples zones de perte totale de cartilage (grade 2.5),
- 6 : mise à nu diffuse de l'os sous-chondral.

Source : Eckstein F *et coll.*, Osteoarthritis and Cartilage (2006) 14 suppl. A, A46-75.

3.3 IRM quantitative morphologique du cartilage

Pour permettre l'évaluation quantitative du cartilage, les séquences IRM doivent remplir certaines conditions. Une séquence IRM optimisée pour l'imagerie du cartilage doit avoir un rapport signal-sur-bruit (S/B) suffisant et fournir un rapport contraste-sur-bruit élevé entre le tissu cartilagineux (normal et pathologique) et les tissus qui l'entourent (liquide synovial,

muscles). La séquence doit permettre d'atteindre une résolution spatiale adaptée à l'épaisseur du cartilage pour un temps d'acquisition raisonnable (le plus court possible) afin de limiter les artefacts de mouvement, maintenir le confort du patient et garder le coût de l'examen dans des limites raisonnables. En fonction de l'articulation, il s'agit de bien différencier le muscle squelettique, les tissus graisseux et même la superposition des surfaces du cartilage. En raison de la faible épaisseur du cartilage, diminuant au cours de l'arthrose, une résolution spatiale élevée est exigée pour qu'un nombre suffisant de pixels puisse caractériser l'épaisseur du cartilage. Il est à noter que chacun de ces paramètres sont dépendants les uns des autres, il est donc nécessaire de faire un compromis judicieux dans le choix des paramètres. Pour illustrer ces contraintes, nous pouvons donner l'exemple suivant : en doublant la résolution spatiale, dans les 3 dimensions, il en résulte une augmentation du temps d'acquisition d'un facteur 64 pour garder le rapport S/B constant. Un subtil équilibre entre les différents paramètres d'acquisition est donc nécessaire.

Les séquences IRM les plus employées pour l'IRM quantitative de la morphologie du cartilage sont celles fondées sur la séquence d'écho de gradient, tel que FLASH (*Fast Low Angle Shot*) [Frahm *et coll.*, 1986] ou SPGR (*S*Poiled *G*radient *R*ecalled *a*cquisition *a*t *s*teady *s*tate). Ces séquences sont implémentées soit avec suppression de la graisse par une excitation sélective aux fréquences réalisée en amont de la séquence d'acquisition [Recht *et coll.*, 1993; Peterfy *et coll.*, 1994b; Eckstein *et coll.*, 1996; Cicuttini *et coll.*, 2000], soit plus récemment, par l'excitation sélective en fréquence de l'eau [Hardy *et coll.*, 1998; Graichen *et coll.*, 2000; Burgkart *et coll.*, 2001; Glaser *et coll.*, 2001] afin d'augmenter le contraste de l'image et éliminer les artefacts de déplacement chimique au niveau de l'interface osseuse.

3.3.1 Paramètres géométriques pour l'IRM morphologique

La valeur diagnostique des lésions cartilagineuses en IRM est apparue longtemps comme incertaine et peu précise. En 1996, Levy [Levy *et coll.*, 1996] n'identifiait que 21 % des lésions chondrales avec l'IRM. D'emblée, il est à retenir que l'IRM est une technique nettement plus complexe que le scanner X. Il ne s'agit en aucun cas d'un examen standard, mais d'un examen dont le protocole doit toujours être adapté au but recherché. Si l'intensité du champ d'un appareil IRM est à prendre en compte (variant de 0,2 à 3 Teslas sur des modalités de recherche clinique), elle est imposée à l'opérateur. Celui-ci disposera, pour 'pilote' l'examen, d'un large choix de séquences : un genou traumatique au stade aigu ne nécessite pas le même protocole qu'un cas chronique, même post-traumatique. Le désir d'identifier les lésions cartilagineuses amène à utiliser des séquences classiques mais également à préférer des séquences parfois longues, très spécifiques au cartilage, qui peuvent *a contrario* se révéler médiocres pour l'analyse d'autres structures adjacentes (capsulo-ligamentaires, méniscales...).

Loeuille [Loeuille *et coll.*, 1998] a bien décrit les différents facteurs concourant à garantir la qualité diagnostique d'un examen IRM à visée cartilagineuse. Les progrès récents observés dans ce domaine sont dus à l'amélioration des machines d'IRM, notamment l'amélioration des capteurs de surface, des gradients, ainsi que de l'utilisation des séquences 3D existantes qui restaient encore sous-utilisées du fait de leur durée. La qualité de l'image dépend de la résolution spatiale et du « piqué » du contraste entre les différentes structures tissulaires. Cependant, augmenter la résolution spatiale occasionne d'autres limites : en effet, le rapport S/B est inversement proportionnel à la résolution spatiale. Ce rapport S/B peut malgré tout être amélioré grâce à des antennes spécifiques plus sensibles et par un allongement du temps

d'acquisition. Une certaine tolérance sur ces paramètres peut cependant demeurer, puisque Hardya et coll. [Hardya *et coll.*, 2000] ont rapporté une amélioration significative de 20 à 25 % de la précision des mesures (reproductibilité) avec un pixel de $0,28 \times 0,28 \text{ mm}^2$, comparé à un pixel de $0,55 \times 0,55 \text{ mm}^2$, ceci malgré la dégradation des rapports S/B et contraste-sur-bruit.

En alignant les coupes perpendiculairement à la surface de l'articulation, l'épaisseur de la coupe est moins critique que la résolution spatiale dans le plan. Marshall et coll. [Marshall *et coll.*, 1995] ont comparé des reconstructions volumiques ayant différentes épaisseurs de coupe avec le volume connu d'un fantôme. Ces auteurs ont rapporté une différence moyenne de 1,7 % pour 1,0 mm d'épaisseur de coupe, 3,5 % pour 1,5 mm, 6,4 % pour 2 mm et 23 % pour 3 mm. Ils ont ainsi recommandé l'utilisation d'épaisseur de coupe de 1,5 mm qui représente un bon compromis entre la justesse des données et le temps d'acquisition. Hardya et coll. [Hardya *et coll.*, 2000] n'ont pas trouvé de différences significatives pour la reproductibilité inter-séquence des mesures du volume cartilagineux (genou humain) pour des épaisseurs de coupe de 0,5, 1 et 2 mm.

Eckstein et coll. [Eckstein, 2004] recommandent une coupe de 1,5 mm d'épaisseur pour le genou humain, et un pixel de 0,3 mm dans le plan pour une acquisition de 10 à 12 minutes. Ils conseillent également une orientation coronale du plan de coupe, étant plus avantageuse qu'une orientation sagittale, à cause des effets de volumes partiels au niveau des surfaces articulaires, mais aussi du fait de la perte cartilagineuse plus prononcée dans la région médio-latérale dans le cas d'une arthrose fémoro-tibiale.

3.3.2 Segmentation du cartilage

3.3.2.a *Introduction*

La segmentation d'image est un ensemble d'opérations de traitement informatique ayant pour but de rassembler des pixels suivant des critères de similitude prédéfinis (équivalence de nuances de couleur ou d'intensité, analogie de texture...). Les pixels sont ainsi regroupés en régions qui constituent un pavage ou *partition* de l'image originale. Ainsi plusieurs classes de pixels sont générées chacune regroupant un ensemble de pixels similaires. Dans le cas d'une image segmentée pouvant se résumer à deux classes de pixels, on parle de *binarisation*. L'Homme est capable de séparer naturellement des objets visuels d'une image grâce à un apprentissage cognitif et des connaissances de haut niveau (compréhension et représentation cognitive des objets et de la scène). Mettre au point des algorithmes de segmentation de haut niveau (chaque région étant un objet sémantique) demeure un des thèmes de recherche les plus compliqués dans le domaine du traitement de l'image.

La segmentation est une étape cruciale dans les techniques d'extraction et de quantification d'informations contenues dans les images. A ce jour, il existe de nombreuses méthodes de segmentation pouvant être regroupées en quatre classes principales :

- segmentation basée sur les différentes régions d'une image (*region-based segmentation*)
- segmentation basée sur les contours des objets contenus dans l'image (*edge-based segmentation*)
- segmentation basée sur une approche globale de l'image
- segmentation basée sur la coopération des trois précédentes classes. Cette dernière ne sera pas détaillée puisqu'elle ne constitue qu'un amalgame judicieux et

efficace des méthodes de segmentation explicitées dans les sous-paragraphes suivants.

3.3.2.b *L'approche régionale*

Les méthodes appartenant à la classe de segmentation par approche régionale manipulent directement les différentes régions contenues dans une image. Classiquement, deux types d'algorithmes sont rencontrés :

- dans le premier cas, l'algorithme prend en considération l'ensemble de l'image (première partition), puis, par itérations successives, en divisant ou regroupant des régions connexes, l'image va se voir partitionnée au fur et à mesure des itérations. On parle alors de méthodes de type décomposition/fusion (*split and merge*). Ce type de segmentation est à la base de l'algorithme des 'lignes de partage des eaux', mieux connue sous le terme *watershed* [Grau et coll., 2004; Fripp et coll., 2007].
- Dans le deuxième cas, plusieurs pixels indépendants sont choisis dans l'image, subjectivement ou non, et vont servir de germes (*seed points*) à un algorithme itératif. A partir de chaque germe, des régions vont croître jusqu'à atteindre des zones où les pixels de révéleront suffisamment différents de ceux déjà englobés. La croissance des régions (*region growing*) se termine lorsque l'ensemble de l'image est couvert.

Les algorithmes de type décomposition/fusion exploitent les caractéristiques propres de chaque région de l'image (surface, intensité lumineuse, colorimétrie, texture...). L'algorithme recherche des couples de régions candidates à une fusion (régions semblables) et les gradue en fonction de l'impact que cette fusion aurait sur l'apparence générale de l'image. Les couples de régions les mieux notés sont ainsi fusionnés, et l'opération est réitérée jusqu'à ce que les caractéristiques de l'image remplissent une condition prédéfinie (nombre de régions, luminosité, contraste ou texture générale) ou lorsque les notes attribuées aux couples de régions n'atteignent plus un certain seuil (algorithme de minimisation fonctionnelle). Les algorithmes par croissance de régions partent d'un premier échantillonnage de l'image (germes), puis les régions grandissent par incorporation des pixels connexes les plus similaires suivant un critère donné (exemple : différence entre le niveau de gris du pixel considéré et le niveau de gris moyen de la région).

3.3.2.c *La création de frontières*

Cette approche cherche à exploiter le fait qu'il existe une transition détectable entre deux régions connexes d'une image. Les méthodes les plus anciennes [Marr et coll., 1980] utilisent des opérateurs de traitement d'image, tels que les filtres de détection de contours (calcul des gradients maximums, filtres passe-haut, calcul de dérivées...), afin de mettre en évidence les pixels situés aux abords des frontières régionales de l'image. D'autres techniques plus récentes, dites de 'contours actifs', sont basées sur des modèles déformables régis par des tracés paramétriques (courbe de Bézier, *spline*, *snakes*...) et des calculs d'énergie [Siddiqi et coll., 1998; Stammberger et coll., 1999b; Liang et coll., 2006a]. Afin d'initier le processus, un contour grossier est tracé autour d'une région. Puis, l'algorithme déforme itérativement le contour pour, d'une part, se rapprocher au maximum des zones de fortes variations d'intensité des pixels, et d'autre part limiter le niveau de courbure du contour (minimisation de l'énergie du contour).

L'intérêt principal des méthodes de segmentation selon l'approche 'frontière' est de minimiser le nombre d'opérations nécessaires en cas d'itération du processus sur une succession d'images peu différentes les unes des autres (cas des piles d'images médicales volumiques et des images de séquences vidéo). En effet, dès lors que les contours des régions ont été trouvés sur la première image, l'application du modèle déformable à l'image suivante est plus efficace et rapide que pour les méthodes où il est nécessaire de relancer l'intégralité des calculs image par image.

Une autre voie dans ces techniques de segmentation repose sur l'emploi simultané de la détection des contours et l'optimisation, en temps réel, d'un tracé manuel. De telles méthodes sont connues sous les dénominations de *lasso magnétique*, ou *ciseaux intelligents* (dans la littérature anglo-saxonne les termes couramment usités sont : *intelligent scissors*, *live-wire*, *live-lane*). Les ciseaux intelligents [Barrett *et coll.*, 1997; Mortensen *et coll.*, 1998; Falcao *et coll.*, 2000a; Falcao *et coll.*, 2000b; Gougoutas *et coll.*, 2004b; Bowers *et coll.*, 2008] constituent une technique semi-automatique de segmentation d'image permettant l'extraction rapide et précise de régions, par l'intermédiaire d'un tracé manuel effectué par l'opérateur.

Ces méthodes sont basées sur des algorithmes de calcul de coût minimal élaboré par Dijkstra [Dijkstra, 1959]. Dans un premier temps, les gradients de l'image sont calculés, les valeurs maximales de ces gradients étant localisées sur les zones de fortes variations de l'échelle de gris, c'est-à-dire au niveau des interfaces entre les différents objets présents sur l'image originale. Dans un second temps, une table de coûts est générée qui permet de 'taxer' différemment le déplacement d'un pixel à l'autre de l'image en fonction de la longueur et de l'orientation du déplacement. Enfin, lorsque l'opérateur réalise le tracé sur l'image, l'algorithme va faire venir se coller le tracé manuel sur les valeurs maximales des gradients de l'image, tout en optimisant les coûts du tracé (choix du parcours le plus court) grâce à la table de coût. Cette méthode de segmentation semi-automatique permet de cumuler l'expertise de l'opérateur avec une optimisation en temps réel et reproductible de son tracé manuel.

3.3.2.d Approche globale de l'image (classification)

Avec la méthode d'approche globale de l'image, l'ensemble des pixels est utilisé pour créer différentes régions segmentées. La mise en œuvre la plus simple et la plus ancienne de cette approche globale de segmentation est le seuillage binaire. Dans une image en niveaux de gris, les pixels représentent une information de luminance, et l'histogramme de l'image permet de représenter le nombre de pixels par niveau de gris. L'utilisateur choisit un seuil de luminance sur l'histogramme, permettant ainsi de constituer deux classes de pixels : l'une en-deçà du seuil, l'autre au-delà. Cette opération conduit à la constitution d'images binaires (noir et blanc), où seuls les pixels ayant une valeur de luminance déterminée par le seuil sont conservés.

A partir de l'algorithme de base, des méthodes robustes permettent de déterminer plusieurs seuils sur un même histogramme, et ce, de façon automatisée et reproductible (méthode de détermination des points d'intersection des différents pics de l'histogramme [Kittler *et coll.*, 1986]). Cette méthode de seuillages multiples délivre plusieurs régions différentes, correspondant à différents lots de pixels classifiés selon chaque valeur de seuil. Enfin, les seuillages d'histogramme peuvent être employés localement et en combinaison avec d'autres méthodes de segmentation, ou encore en utilisant un seuil flottant particulièrement utile lorsque l'illumination est non-uniforme sur l'ensemble de l'image (vignettage, moirage...).

3.3.2.e Application au domaine ostéoarticulaire

Dans le contexte de la compréhension de la physiopathologie du cartilage ainsi que dans l'évaluation de la réponse de traitements de l'arthrose, il est nécessaire de déterminer des paramètres quantitatifs, fiables, liés à la morphologie du cartilage et à sa raréfaction pathologique. La première étape, indispensable au passage des images IRM contiguës à une analyse quantitative, consiste en la segmentation des structures anatomiques d'intérêt (cartilage articulaire) par rapport aux tissus avoisinants. Le relativement faible contraste existant entre les différents tissus de l'articulation (comme par exemple la surface de contact entre les cartilages fémoral et tibial, les tendons et ligaments), rend une segmentation précise, entièrement automatisée, encore irréalisable.

A l'heure actuelle, plusieurs techniques de segmentation semi-automatiques ont été proposées, mais celles-ci nécessitent encore différents niveaux d'intervention (vérification et corrections du tracé) de la part de l'opérateur [Stammberger *et coll.*, 1999a], imposant un certain degré d'expérience et d'expertise. Pour ces raisons, la segmentation du cartilage constitue une étape longue et fastidieuse : il n'est pas rare de consacrer plusieurs heures de travail et de post-corrrections pour segmenter le cartilage articulaire d'un seul patient.

Idéalement, les algorithmes semi-automatiques interactifs procurent des précisions et reproductibilités au moins similaires à la segmentation manuelle, mais avec un temps de travail et un effort à fournir moins importants [Stammberger *et coll.*, 1999b]. Il reste néanmoins nécessaire de valider ces méthodes semi-automatiques en les comparant à des méthodes indépendantes et pleinement établies [Eckstein *et coll.*, 2006c] (cf. paragraphe 3.5.1).

3.3.3 Mesure du volume cartilagineux

Après la segmentation, le calcul du volume du cartilage est obtenu par intégration numérique du nombre de voxels attribués au cartilage lors de l'étape de segmentation. Si des articulations avec un cartilage relativement mince sont imagées et si la résolution spatiale dans le plan est relativement faible, il est possible de réaliser une interpolation des données pour obtenir une résolution en pixel dans le plan plus élevée, avant d'effectuer l'étape de segmentation [Graichen *et coll.*, 2000; Al-Ali *et coll.*, 2002]. En effet, moins le nombre de pixels décrivant le cartilage est important, plus le calcul du volume sera imprécis. En complément des données chiffrées, il est possible, grâce à des outils informatiques de rendu visuel, de représenter les volumes d'intérêts sous forme de maillages 3D (figure 10).

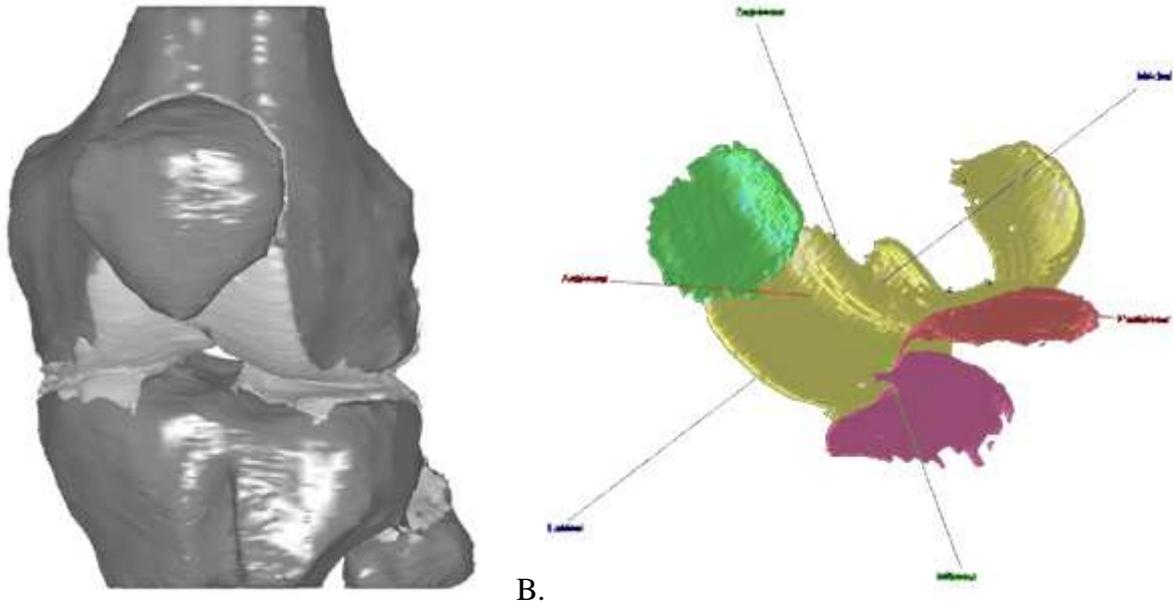
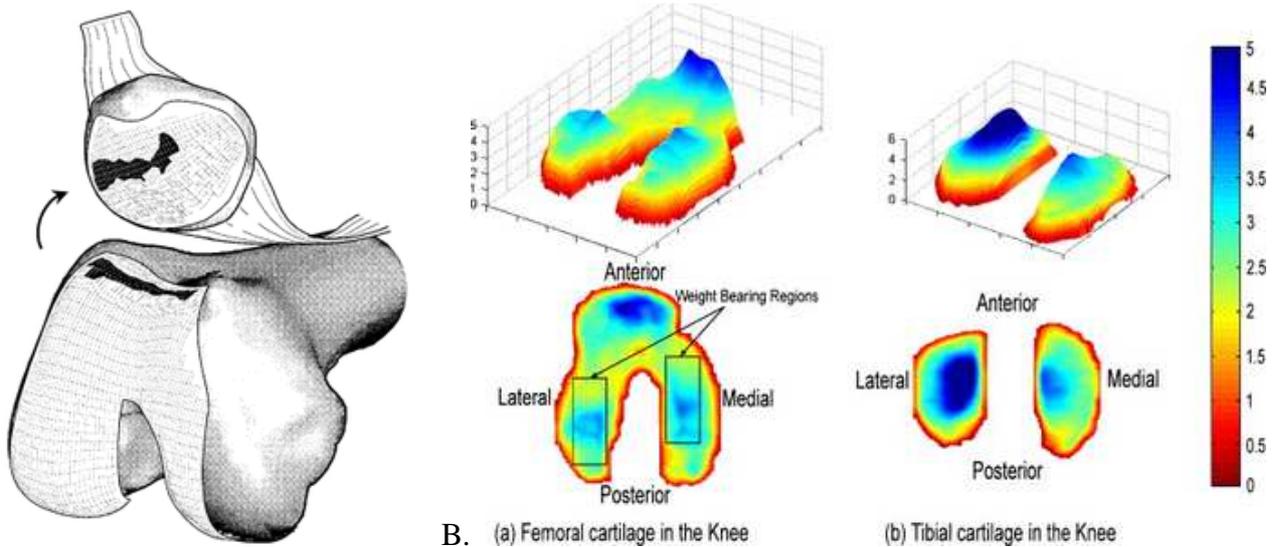


Figure 10. A. Rendu volumique du genou après segmentation de l'os et du cartilage artériel. B. Représentation des 4 compartiments cartilagineux du genou (cartilages rotulien (vert), fémoral (jaune) et tibiaux (rose+saumon)).
Source : Goebel J.C. et coll., données internes.

Le volume du cartilage dépend de la taille générale de l'individu [Eckstein *et coll.*, 2001; Ding *et coll.*, 2003]. Ainsi, il est nécessaire de normaliser ce volume par des paramètres anthropométriques tels que la taille et/ou le poids, l'aire de l'os sous-chondral ou encore le volume osseux, afin de pouvoir comparer les données inter-individus [Cicutini *et coll.*, 1999b; Jones *et coll.*, 2000; Faber *et coll.*, 2001b; Burgkart *et coll.*, 2003].

3.3.4 Quantification d'épaisseur, analyse des surfaces articulaires

Le calcul du volume global du cartilage est un premier pas dans l'analyse morphologique du cartilage. Cette étape peut être complétée par des approches géométriques plus avancées telles que le calcul de courbure des surfaces articulaires (rugosité, congruence...), la mesure de l'épaisseur du cartilage et l'aire des zones de contact artériel (figure 11.A) [Faber *et coll.*, 2001b; Eckstein *et coll.*, 2002a]. Le calcul de ces paramètres doit être réalisé en 3D (coupes jointives) afin de s'affranchir de l'orientation originale des coupes qui pourrait influencer sur les mesures d'épaisseurs [Stammberger *et coll.*, 1999a; Hohe *et coll.*, 2002]. De la même manière, le recours à des méthodes de cartographie reposant sur des calculs de distances euclidiennes 3D [Danielsson, 1980] permettent d'obtenir des mesures indépendantes de l'orientation des coupes IRM. Enfin, ces cartes 3D présentent l'avantage de fournir *in fine* une représentation des épaisseurs de l'ensemble des compartiments cartilagineux étudiés (figure 11.B). L'ensemble de ces données sont autant de paramètres susceptibles de varier au cours du processus pathologique et renseignent ainsi sur l'avancée des atteintes du cartilage arthrosique.



A. Représentation des zones de contact de l'articulation fémoro-patellaire. B. Cartographie des épaisseurs du cartilage fémoral et tibial.

Sources : Cohen Z.A. et coll., *Osteoarthritis and Cartilage* (1999) 7, 95-109.
 Koo S. et coll., *Osteoarthritis and Cartilage* (2005) 13, 782-789.

3.4 Imagerie structurale du cartilage

Paul et coll. [Paul *et coll.*, 1993] ont été parmi les premiers à émettre l'hypothèse que les variations de l'intensité du signal du cartilage (dans une séquence d'écho de spin) sont corrélées avec la distribution spatiale des protéoglycannes (PGs). Des études plus récentes ont indiqué que l'IRM utilisant l'acide diéthylènetriamine pentaacétique chargé avec du gadolinium (Gd-DTPA) peut potentiellement être utilisée pour quantifier *in vivo* le contenu des PGs pour le cartilage articulaire normal ou dégradé [Bashir *et coll.*, 1997; Allen *et coll.*, 1999; Bashir *et coll.*, 1999; Trattnig *et coll.*, 1999; Burstein *et coll.*, 2000; Gray *et coll.*, 2001]. Le Gd-DTPA est un agent de contraste chargé négativement et dont la distribution est inversement proportionnelle à la concentration en glycosaminoglycannes dans le cartilage (cf. paragraphe 3.4.5).

3.4.1 Collagène

Wolff et coll. [Wolff *et coll.*, 1991] ont employé le transfert d'aimantation pour évaluer les macromolécules du cartilage. Cette technique permet de diminuer l'intensité du signal dans les régions de fort couplage magnétique entre les fluides et les macromolécules. Certains auteurs ont suggéré que le transfert d'aimantation est presque exclusivement lié au collagène [Kim *et coll.*, 1993; Aoki *et coll.*, 1996; Seo *et coll.*, 1996], alors que d'autres ont trouvé une contribution significative de la part des PGs [Gray *et coll.*, 1995; Wachsmuth *et coll.*, 1997]. En clinique, il peut être intéressant d'obtenir une information spécifique sur les macromolécules (collagène) par l'acquisition d'image avec ou sans l'application préalable de transfert d'aimantation [Vahlensieck *et coll.*, 1994; Vahlensieck *et coll.*, 1998]. Les temps de relaxation transversale (T2) ont été aussi utilisés pour obtenir une information spécifique sur l'architecture spatiale du collagène [Niemenen *et coll.*, 2001] (cf. paragraphe 3.4.3.b).

3.4.2 Composition interstitielle de l'eau

Des études préliminaires d'évaluation de la composition interstitielle de l'eau dans le cartilage ont aussi été réalisées à partir de la mesure des temps de relaxation T2 [Dardzinski *et coll.*, 1997; Frank *et coll.*, 1999; Lusse *et coll.*, 2000; Liess *et coll.*, 2002] et de la densité de protons [Shapiro *et coll.*, 2001].

3.4.3 Cartographies T1 et T2

3.4.3.a *Cartographie T1*

Cette cartographie résulte de l'utilisation de plusieurs séquences d'inversion-récupération qui permettent de calculer, pixel par pixel, la valeur du temps de relaxation longitudinal (T1) correspondant. Mlynarik *et coll.* [Mlynarik *et coll.*, 1996] ont montré l'absence de variation zonale du T1 tant sur des cartilages rotuliens normaux que sur des rotules présentant des lésions arthrosiques. Récemment a été rapportée la possibilité de définir la distribution spatiale des protéoglycannes en utilisant la cartographie T1 associée à l'administration intra-articulaire ou intraveineuse de produits de contraste. Cette évaluation quantitative des protéoglycannes repose sur le degré d'interaction entre les charges négatives de ces protéines 'sucrées' et sulfatées, et les charges des produits de contraste utilisés. Dans le cas du gadolinium, la structure cartilagineuse normale (riche en protéoglycannes) empêche ce dernier de diffuser dans la matrice, alors qu'une structure cartilagineuse soumise à une déplétion en protéoglycannes donne lieu à un rehaussement du signal proportionnel au degré de déplétion. [Bashir *et coll.*, 1999; Trattnig *et coll.*, 1999]. Cependant, ce type de procédure est long du fait de la nécessité de réaliser deux acquisitions, l'une avant, puis l'autre après administration du produit de contraste. En outre, un délai de 2 à 3 heures est requis entre ces deux acquisitions, délai nécessaire à la diffusion dans le liquide synovial puis dans le cartilage après injection intraveineuse du produit de contraste. En cas d'injection intra-articulaire la diffusion intra-cartilagineuse débute immédiatement, mais l'IRM perd alors son caractère non invasif. Cette administration n'est autorisée que dans certains pays.

3.4.3.b *Cartographie T2*

Le temps de relaxation transversal (T2) caractérise les échanges d'énergie entre les noyaux et dépend de leur possibilité de mouvement *in situ*. Ainsi, le T2 est court dans les milieux solides, long dans les liquides où sa durée est alors très voisine du T1, et représente une durée intermédiaire dans les milieux plus ou moins visqueux. L'analyse mathématique de la décroissance du signal RMN, obtenu à partir de séquences utilisant différents TE (séquences pondérées T2 multi-échos, séquences à train d'écho), permet de disposer d'une représentation cartographique T2. Ainsi, il est possible d'obtenir des informations quantitatives des valeurs de T2 pour chaque voxel de l'image. Lehner *et coll.* [Lehner *et coll.*, 1989] ont été les premiers à montrer, sur un imageur de 1,5 T, des variations zonales du T2 au sein de cartilages bovins avec des valeurs de 77 ms dans la couche superficielle et 51 ms dans la couche profonde du cartilage rotulien.

D'autres travaux ont souligné la variation spatiale du T2 entre la couche superficielle et les couches profondes du cartilage humain à partir de profils topographiques [Dardzinski *et coll.*,

1997; Smith *et coll.*, 2001]. Ces variations spatiales semblent relatives à une diminution d'hydratation entre les différentes couches du cartilage. Cependant, aucune confrontation biochimique et/ou histologique n'a été réalisée. Mlynarik *et coll.* [Mlynarik *et coll.*, 1996] mesurent, à 1,5 T, des T2 de 41, 23 et 26 ms respectivement dans les couches superficielle, moyenne et profonde du cartilage de têtes fémorales humaines. Chez l'adulte jeune, Dardzinski *et coll.* [Dardzinski *et coll.*, 1997] réalisent une cartographie T2 du cartilage rotulien et effectuent le même type de mesures avec un imageur 3 T. Les valeurs sont respectivement de 67, 48, et 32 ms dans les couches superficielle, moyenne et profonde. L'équipe de Nieminen [Nieminen *et coll.*, 2001] ont réalisé, sur du cartilage bovin âgé de 1 à 3 ans, à l'aide d'un imageur de 9,4 T, une cartographie T2 qui confirme l'existence d'une fine couche superficielle avec une valeur de T2 de 40 ms comparativement à une valeur de 90 ms de la couche sous-jacente. La méthode cartographique atteste donc l'existence de différentes couches dans le cartilage bovin caractérisées par des valeurs de T2 propres.

Dans les travaux de Smith *et coll.* [Smith *et coll.*, 2001], des cartographies T2 de l'articulation fémoro-tibiale de 15 patients asymptomatiques ont été réalisées sur un imageur de 3 T. Ils ont montré, outre la faisabilité technique sur cette articulation, l'existence de variations spatiales du T2 similaires à celles observées au niveau de la rotule. Ces variations spatiales peuvent s'expliquer par des modifications du contenu hydrique de la couche superficielle du cartilage [Mosher *et coll.*, 2001; Smith *et coll.*, 2001]. Goodwin *et coll.* [Goodwin *et coll.*, 1998] ont obtenu des valeurs de 29 à 11 ms chez le cerf avec un imageur de 7 T. Ils ont montré que l'architecture collagénique de la matrice extracellulaire n'était pas le seul responsable de l'apparence stratifiée des cartes T2 au sein du cartilage. Tyler *et coll.* [Tyler *et coll.*, 1995] mesurent, à partir de régions d'intérêt, les variations de T2 dans le cartilage de hanche chez le porc au cours du vieillissement. Les valeurs du T2 sont stables avec une durée de 20 ms entre la 5^{ème} et la 20^{ème} semaine, puis augmentent jusqu'à atteindre 40 ms à la 50^{ème} semaine. Ces études attestent de l'existence des variations zonales du T2 dans le cartilage articulaire.

3.4.4 Imagerie du sodium

L'IRM du noyau d'hydrogène (H^+), nommée plus couramment *IRM du proton*, représente la technique conventionnelle puisqu'elle s'applique particulièrement bien à l'analyse des molécules d'eau, constituant majeur de l'ensemble des tissus biologiques. Une autre approche, l'*IRM du sodium*, est expérimentée et montre des résultats encourageants dans le domaine articulaire. Elle utilise le même type d'imageur que l'imagerie protonique mais les paramètres intrinsèques (tableau 2) sont différents, afin d'atteindre un rapport S/B satisfaisant. L'IRM du sodium (Na) nécessite également le recours à des antennes émettrices et réceptrices spécifiques (ainsi que toute l'électronique de puissance, d'amplification et de numérisation).

Cette technique présente un intérêt dans le contexte de l'arthrose puisque l'imagerie du sodium permet l'analyse du contenu en PGs au sein de la matrice extracellulaire du cartilage. En effet, les ions Na^+ interagissent avec les agrégats de PGs chargés négativement. Ainsi, de faibles pertes en PGs sont responsables de variations de signal observables grâce à l'imagerie du sodium, permettant de localiser de manière précoce des atteintes du cartilage. Cette technique est utilisée sur le cartilage [Reddy *et coll.*, 1998; Regatte *et coll.*, 1999; Borthakur *et coll.*, 2000] mais aussi dans d'autres domaines (tissu musculaire, rein, foie, vésicule biliaire, tissu mammaire, fluide cérébro-spinal, évaluation de traitements en chimiothérapie... [Granot, 1988; Constantinides *et coll.*, 2000; Kline *et coll.*, 2000]).

Tableau 2 : comparaison des caractéristiques intrinsèques de l'IRM du proton et du sodium

	IRM du Proton	IRM du Sodium
Fréquence de résonance (à 1,5 Tesla)	63,87 MHz	16,89 MHz
Rapport S/B	satisfaisant	faible
NEX (exemple)	1	800
Résolution	satisfaisante	très dépendante du rapport S/B
Application au cartilage articulaire	T1 et T2 relativement peu sensible aux variations de concentration en PGs	T1 et T2 sensibles aux variations de concentration en PGs

3.4.5 Imagerie à contraste rehaussé : dGEMRIC

Comme nous l'avons vu précédemment, la composante matricielle du cartilage articulaire est riche en chaînes glycosaminoglycanniques (GAGs) chargées négativement du fait de la présence de groupements carboxyle et sulfate. Ainsi, si des ions mobiles sont présents au sein de la matrice, ceux-ci vont se distribuer en relation avec la densité de charges négatives fixes du cartilage, c'est-à-dire corrélativement à la concentration en GAGs. Les principaux agents de contraste utilisés en IRM sont, eux aussi, chargés négativement (Magnevist, gadolinium $Gd(DTPA)^{2-}$). Lorsque le gadolinium pénètre au niveau du tissu cartilagineux, celui-ci va diffuser en plus forte proportion dans les régions où le contenu en GAGs est moindre, et à l'inverse, pénétrera moins les régions riches en GAGs.

Les séquences pondérées T1, sensibles à la concentration en gadolinium, vont ainsi fournir des images révélant les concentrations locales de GAGs. Cette technique est répertoriée sous l'appellation anglo-saxonne *delayed Gadolinium Enhanced MRI of Cartilage* (dGEMRIC), le terme 'delayed' se référant au délai nécessaire à l'imprégnation de l'agent de contraste au sein de la matrice du cartilage. La technique dGEMRIC a été validée, tant par des études fondamentales que par des études cliniques, comme étant le reflet de la concentration en GAGs du cartilage articulaire, puisque les valeurs recueillies correspondent à celles obtenues par les méthodes de références (biochimie, histologie) [Burstein *et coll.*, 1993; Bashir *et coll.*, 1999; Tratnig *et coll.*, 1999].

3.5 Validation des études méthodologiques dans l'arthrose : précision et reproductibilité

Parce que les algorithmes de traitement utilisés pour la quantification des images peuvent faire l'objet d'erreurs, la validation par confrontation avec des méthodes indépendantes établies est nécessaire. Cela doit être réalisé, non seulement en utilisant des fantômes connus, mais aussi avec des structures biologiques d'intérêt car la plupart des artéfacts IRM apparaissent uniquement lorsque le tissu d'intérêt est placé dans le champ magnétique.

3.5.1 Validation des mesures

La validité technique des mesures fondées sur l'IRM a été abordée dans des analyses comparatives sur des articulations cadavériques [Eckstein *et coll.*, 1996; Piplani *et coll.*, 1996; Sittek *et coll.*, 1996; Eckstein *et coll.*, 1997; Eckstein *et coll.*, 1998a; Cohen *et coll.*, 1999a; Eckstein *et coll.*, 2000b], sur des articulations amputées [Peterfy *et coll.*, 1994b; Cicuttini *et coll.*, 1999b] et sur des articulations de patients avant arthrotomie totale du genou [Peterfy *et coll.*, 1994b; Cicuttini *et coll.*, 1999b; Burgkart *et coll.*, 2001]. La dernière méthode fournit une opportunité unique pour valider les mesures puisque les patients peuvent être imagés *in vivo* avant la chirurgie, et l'articulation pourra être conservée et analysée *ex vivo* après l'opération.

La plupart des études de validation ont rapporté une bonne concordance entre les valeurs moyennes mesurées par les différentes méthodes, avec des erreurs aléatoires (sur- ou sous-estimations absolues) d'environ 5 à 10 % [Eckstein, 2004]. En ce qui concerne le cartilage humain, l'IRM ne révèle aucune sur- ou sous-estimations par rapport aux méthodes de référence et le degré d'exactitude des mesures IRM leur est similaire. Graichen *et coll.* [Graichen *et coll.*, 2004] ont récemment démontré que des résultats précis peuvent être obtenus sur des patients avec arthrose sévère (avant arthroplastie totale du genou), en ce qui concerne le pourcentage de surface articulaire couverte par le cartilage ainsi que l'épaisseur de la couche restante du cartilage. Des études de validation ont aussi été réalisées dans des articulations plus petites contenant du cartilage moins épais comme l'articulation métacarpo-phalangienne [Peterfy *et coll.*, 1995] et l'articulation du coude [Graichen *et coll.*, 2000].

3.5.2 Reproductibilité des mesures quantitatives du cartilage dans l'arthrose

Dans le cadre de l'arthrose, la reproductibilité des mesures du cartilage est d'une importance critique pour les études cliniques car les changements du cartilage se produisent très lentement. Des techniques hautement reproductibles sont nécessaires pour déterminer ces changements avec une confiance statistique suffisante et en particulier pour déterminer l'effet de traitements médicamenteux. Il est important de noter que le niveau de précision d'une technique est un paramètre majeur à considérer pour déterminer le nombre de patients à inclure dans une étude et la durée de cette étude. Il est évident que ces facteurs ont un énorme impact sur le coût des études cliniques [Peterfy, 2000]. En outre, il serait discutable, d'un point de vue éthique, d'exposer un grand nombre de patient à une longue étude avec un nouvel agent thérapeutique, alors qu'une information équivalente serait obtenue dans un temps plus court et avec moins de patients.

La reproductibilité des mesures quantitatives du cartilage par IRM dépend du processus d'acquisition des images et du processus d'analyse des images. Contrairement à la radiographie, des variations dans le positionnement de l'articulation sont moins critiques car la technique est tridimensionnelle et les mesures quantitatives d'intérêt sont obtenues à partir de reconstruction dans les trois directions de l'espace après reformatage des données plutôt que par projection. Cela représente un avantage considérable pour des études cliniques multicentriques nécessitant des techniques d'acquisitions robustes, et en considérant que l'analyse des images puisse être réalisée dans des centres spécialisés.

3.5.3 Analyse statistique de la précision des mesures

Les paramètres les plus communément utilisés pour quantifier les erreurs de précision des mesures sont l'écart type (σ) de mesures répétées et le coefficient de variation (CV) exprimé en pourcentage (CV%). L'intervalle de confiance des écarts types et des CV, décrits dans une étude sur la précision des mesures par Glüer et coll. [Glüer *et coll.*, 1995], dépendent du nombre de sujets examinés et du nombre de mesures répétées réalisées. Dans cette même étude, les auteurs recommandent au moins 3 à 4 mesures répétées par individu sur au moins 14 sujets représentatifs afin d'évaluer le niveau d'erreur entachant la précision des mesures.

3.5.4 Résultats spécifiques des erreurs de précision des mesures IRM du volume et de l'épaisseur du cartilage

La plupart des études ont étudié la précision de protocoles d'acquisition IRM spécifiques associés à des logiciels spécifiques de traitement et d'analyse d'images dans des conditions d'acquisition à court terme (images obtenues dans le cadre d'une session d'acquisition IRM, mais en repositionnant l'articulation entre les acquisitions). Une étude récente a évalué la précision à long terme pour l'analyse quantitative du cartilage [Eckstein *et coll.*, 2002b]. Lorsque l'on compare les résultats obtenus dans différents compartiments de l'articulation et pour différentes orientations des coupes, la plus faible erreur (CV% ~ 1 %) a été observée pour la rotule sur des coupes axiales [Eckstein *et coll.*, 2000a]. En revanche, des erreurs plus importantes (entre 1,9 et 3,9 %) ont été rapportées pour l'analyse des condyles fémoraux sur des coupes sagittales [Eckstein *et coll.*, 2002b]. Les erreurs sur la précision du calcul des épaisseurs moyennes du cartilage ont été rapportées comme très similaires à celles du volume du cartilage [Stammberger *et coll.*, 1999a; Hyhlik-Durr *et coll.*, 2000; Burkart *et coll.*, 2001] ainsi qu'à celles des surfaces articulaires [Eckstein *et coll.*, 2002a; Burkart *et coll.*, 2003].

3.5.5 La sensibilité des mesures quantitatives IRM au changement du cartilage

L'estimation de l'amincissement du cartilage lors du vieillissement normal (en l'absence d'arthrose) a été obtenue à partir de données représentatives recueillies sur des sujets sains âgés sans antécédents de symptômes, traumatismes ou chirurgie articulaires (50-78 ans) et comparée avec une cohorte de sujets sains jeunes (20-30 ans) dans les mêmes conditions [Hudelmaier *et coll.*, 2001]. Ainsi, les auteurs ont déterminé une diminution annuelle estimée à 0,3-0,5 % de l'épaisseur du cartilage pour tous les compartiments du genou. Récemment, les premières données sur le changement du volume du cartilage ont été obtenues par des études longitudinales. Aucun changement significatif de volume du cartilage n'a été détecté sur des sujets sains sur une période d'environ 2 ans, mais une perte significative du cartilage a été détectée pour des patients ayant subi une méniscectomie partielle [Cicuttini *et coll.*, 2002b]. Malgré des différences inter-groupes, le taux de perte du cartilage observé dans les groupes arthrosiques est d'environ 5 % par an [Cicuttini *et coll.*, 2002a; Wluka *et coll.*, 2002].

3.6 IRM de la membrane synoviale

L'apparition de lésions cartilagineuses, dans un tissu non innervé, ne peut expliquer les manifestations douloureuses habituellement observées au cours de l'arthrose. Ces dernières sont le plus souvent d'origine multifactorielle : atteintes osseuses, pathologies abarticulaires (tendinites, bursites, kyste poplité et lésions dégénératives méniscales). De même, l'inflammation de la membrane synoviale constitue un facteur majeur dans les phénomènes douloureux. Bien que la synovite apparaisse généralement secondairement au cours de l'arthrose, des anomalies de la membrane synoviale peuvent déjà être rencontrées dans les stades précoces de la pathologie, leur fréquence et sévérité augmentant ensuite avec le temps [Myers *et coll.*, 1990; Smith *et coll.*, 1997; Loeuille *et coll.*, 2005]. On assiste alors à un épaississement de la membrane synoviale ainsi qu'à des épanchements synoviaux de volume modéré à sévère [Hill *et coll.*, 2001]. Classiquement, l'inflammation de la membrane synoviale est observée sur des séquences pondérées T1 avec injection de produit de contraste, et peut être présente à tous les stades de la maladie. Le degré de la synovite peut être gradé selon un score semi-quantitatif, selon les modalités suivantes (Figure 12) [Loeuille *et coll.*, 2006] :

- grade 0 : absence de rehaussement de la membrane synoviale,
- grade 1 : rehaussement linéaire inférieur à 2 mm,
- grade 2 : rehaussement compris entre 2 et 4 mm,
- grade 3 : rehaussement supérieur à 4 mm.

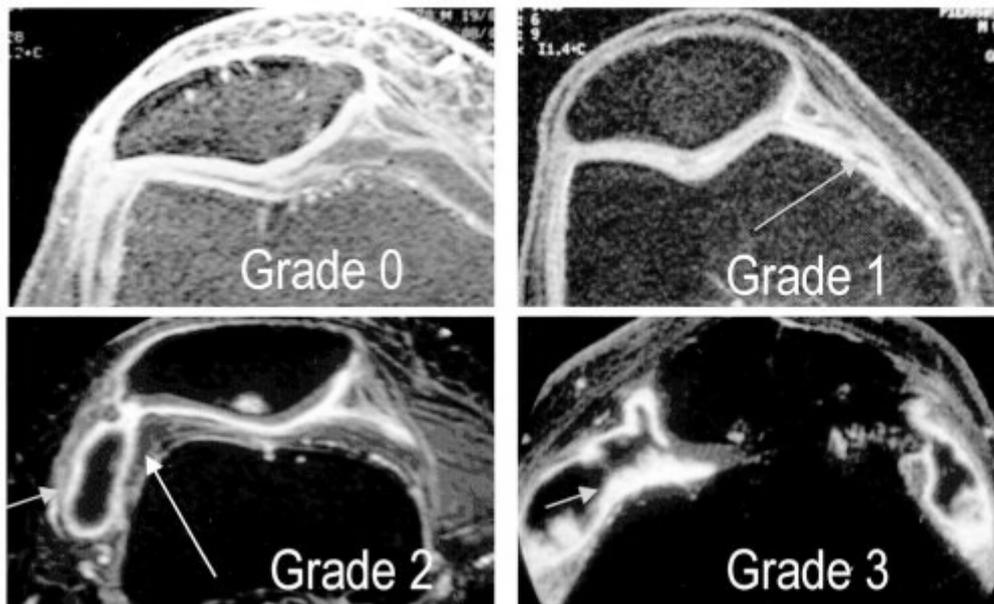


Figure 12. IRM axiales dans la région rotulienne, en pondération T1 avec ajout de produit de contraste et suppression du signal de la graisse. Les 4 images correspondent aux 4 grades d'inflammation de la membrane synoviale (en hypersignal).

Source : Loeuille D. *et coll.*, *Arthritis Rheum.* (2005) 52, 3492-501.

L'équipe de Loeuille a montré que la sévérité de l'inflammation, étudiée sur cinq régions d'intérêt du genou, n'est pas corrélée aux indices cliniques ou à la douleur [Loeuille *et coll.*, 2005]. Par contre, en adaptant une méthodologie développée par Østergaard *et coll.* [Østergaard *et coll.*, 1997], les auteurs ont établi que le volume de synovite froide (synovite présentant un taux de rehaussement inférieur à 0,3 % par seconde), est bien corrélé avec l'EVA-douleur et qu'il tend à être corrélé avec l'indice algofonctionnel de Lequesne [Chary-Valckenaere *et coll.*, 2005]. Parmi les structures abarticulaires responsables de manifestations douloureuses, l'existence d'une bursite du muscle demi-membraneux, d'un syndrome de la bandelette ilio-

tibiale, et d'un kyste de l'articulation fémoro-tibiale sont plus fréquemment retrouvés [Hill *et coll.*, 2003]. La présence de lésions péripatellaires de type bursites, tendinites et kyste poplité ne semble pas être liée à la survenue de douleurs ou de gêne fonctionnelle. Parmi les anomalies osseuses fréquemment décrites au cours de l'arthrose, seul l'œdème osseux est corrélé à la survenue de manifestations douloureuses [Felson *et coll.*, 2001]. Cet œdème osseux est particulièrement bien mis en évidence sous forme d'un hypersignal sur des séquences pondérées T2 avec suppression du signal de la graisse ou des séquences pondérées T1 avec suppression du signal de la graisse et injection de gadolinium, et pourrait correspondre à des micro-fractures de l'os trabéculaire ou « micro-cracks », et/ou à des phénomènes d'hyperremodelage osseux survenant sur un os hyper-sollicité.



4 Etude de l'arthrose chez le petit animal

4.1 Problématique

A l'heure actuelle, les traitements de la maladie arthrosique restent insatisfaisants. Bien que plusieurs composés pharmacologiques diminuent de manière notable la douleur et l'inflammation, aucun n'est capable de bloquer la progression de la pathologie de manière convenable. La recherche et le développement de thérapies efficaces contre l'arthrose constituent un besoin indéniable, dont les retombées seraient un réel bénéfice médico-social. Cependant, l'étiologie et la pathogénie de l'arthrose ne sont pas encore totalement cernées et comprises.

Le recours aux modèles animaux est d'une importance considérable dans l'élucidation des mécanismes fondamentaux dans la pathologie de l'arthrose. Par exemple, les modèles animaux ont une utilité potentielle dans l'étude des différents types d'inhibiteurs spécifiques pour évaluer les changements dans la matrice du cartilage impliquée dans le processus de l'arthrose. Cette évaluation aidera finalement à identifier la clef des processus qu'initie et perpétue la pathologie et qui devrait mener à la découverte de nouveaux agents pharmaceutiques pour les patients arthrosiques. Ils fournissent donc la preuve du concept dans le développement d'agents pharmacologiques et biologiques pour l'articulation arthrosique. Ils permettent d'étudier une réponse thérapeutique et sont déterminants dans la présélection des traitements médicamenteux à développer chez l'homme.

4.2 Modèles animaux d'arthrose

L'arthrose revêt des formes cliniques assez hétérogènes associant, à des degrés divers, un métabolisme cartilagineux anormal (œdème, fibrillations et érosions associées à une prolifération des chondrocytes en clones ou à leur mort et à une perte des protéoglycannes matriciels), un remodelage osseux (condensation de l'os sous-chondral, géodes, ostéophytes) et une synovite (hyperplasie des cellules bordantes, fibrose). Par conséquent, l'arthrose est de plus en plus considérée comme une pathologie de l'ensemble des tissus articulaires, résultant de processus biologiques et biochimiques complexes qui ne peuvent pas être reproduits par des systèmes cellulaires simplifiés.

De nombreux modèles animaux ont été développés avec pour objectif la caractérisation des phases précoces de l'arthrose, l'étude de sa progression et l'évaluation de nouvelles thérapeutiques [Otterness *et coll.*, 1995; Bendele *et coll.*, 1999; Bendele, 2002]. Outre leur intérêt physiopathologique, ces modèles permettent de sélectionner ou de valider l'activité pharmacodynamique de molécules susceptibles de se comporter comme des 'anti-arthrosiques' d'action lente chez l'Homme [Jouzeau *et coll.*, 2000]. La diversité des formes cliniques de l'arthrose a peu de chance d'être reproduite intégralement par un seul modèle expérimental, bien que chacun mime une partie des modifications fonctionnelles et / ou structurales de la maladie.

Les modèles dans lesquels l'arthrose est induite par des contraintes biomécaniques anormales, consécutives à une instabilité articulaire (section ligamentaire [Stoop *et coll.*, 2001], patellectomie (exérèse rotulienne), ménissectomie [Kaab *et coll.*, 2000], myectomie) ou à une

répartition anormale des charges (ostéotomie, immobilisation). De même, les arthroses induites, reproduisant toute ou partie de l'arthrose secondaire humaine, peuvent être provoquées par des modifications structurales de l'articulation, consécutives à une dégradation de la matrice extracellulaire par des moyens physiques (abrasion locale, contusion externe), thermiques ou enzymatiques (injections intra-articulaires de papaine [Bentley, 1971; Bentley, 1975; Huang *et coll.*, 1997], de collagénase bactérienne [van Osch *et coll.*, 1996; Kikuchi *et coll.*, 1998]) ou à une perturbation plus ou moins réversible du métabolisme chondrocytaire (injection intra-articulaire de vitamine A [Lapadula *et coll.*, 1995], de monoiodoacétate [Guingamp *et coll.*, 1997; Loeuille *et coll.*, 1997]). Les modèles d'arthrose spontanée sont également étudiés en particulier chez le chien, le cochon d'Inde [Kapadia *et coll.*, 2000], la souris [Stoop *et coll.*, 1999] et le singe [Chateauvert *et coll.*, 1990].

Un grand nombre de modèles expérimentaux de lésions chondrales et / ou ostéochondrales a été développé chez l'animal : le lapin et le chien [Caplan *et coll.*, 1997; Britt *et coll.*, 1998; Kawamura *et coll.*, 1998] pour l'étude de lésions en zone articulaire portante. D'autres modèles sont également utilisés : le cheval [Hendrickson *et coll.*, 1994], la chèvre [Butnariu-Ephrat *et coll.*, 1996], le porc [Hunziker, 2001] et le poulet [Robinson *et coll.*, 1990]. Le rat est un modèle utilisé [Moskalewski *et coll.*, 1993; Noguchi *et coll.*, 1994; Galois *et coll.*, 2004] mais qui possède l'inconvénient, selon Rahfoth *et coll.* [Rahfoth *et coll.*, 1998], de ne pas être bien adapté à l'étude des lésions ostéochondrales en zone portante. De plus, le diamètre des lésions est limité par la taille du genou. Enfin, à l'heure actuelle, des modèles transgéniques ont été développés chez la souris afin de fournir de nouveaux outils de recherche dans le domaine ostéoarticulaire [Young, 2005].

Virtuellement, tous les modèles d'arthrose spontanée ou induite montrent finalement des changements morphologiques qui ressemblent aux occurrences trouvées chez l'Homme, aux différents stades de l'avancée de la maladie. Les différences entre les modèles sont en général liées à la rapidité de la progression. De ce fait, les modèles d'arthrose spontanée chez le cobaye, la souris, le hamster et le primate non-humain offrent la meilleure opportunité d'étudier l'arthrose à progression lente qui caractérise cette pathologie chez l'Homme. Par contre, les modèles d'arthrose induite expérimentalement, et particulièrement chez les rongeurs et le lapin, présentent habituellement des dégénérescences rapides et sévères du cartilage. Généralement, plus l'instabilité pratiquée est importante, plus la lésion induite sera dommageable. Les effets des modèles expérimentaux d'arthrose induite se rapprochent davantage, de par leur nature, des lésions arthrosiques rencontrées chez les patients ayant subi une usure brutale et traumatique de leurs articulations (sportifs, accidents, fortes sollicitations articulaires...). Néanmoins, il est important de tenir compte de la manière dont les forces mécaniques se répartissent sur les articulations, ceci dépendant de l'espèce choisie pour le modèle, afin d'extrapoler les résultats à l'espèce humaine [Bendele *et coll.*, 1987]. Enfin, il est à considérer que le choix de l'animal dépend de la disponibilité des espèces, de la taille des articulations et de l'animal lui-même et des problèmes liés à la stabulation.

4.3 Les méthodes d'analyse appliquées chez le petit animal

4.3.1 Techniques in vitro

4.3.1.a Synthèse de protéoglycannes et inhibiteurs d'enzymes

Les protéoglycannes (PGs) sont, après les fibres de collagène, la principale composante du cartilage articulaire. Les PGs sont constitués d'une protéine centrale de laquelle partent des chaînes de glycosaminoglycannes qui donnent au cartilage ses propriétés hydrophiles ainsi qu'une pression hydrostatique nécessaire à la résistance aux forces de compression. Utilisant le processus de synthèse de PGs à partir des chondrocytes décrit par De Ceuninck et coll. [De Ceuninck *et coll.*, 2004], Lesur et coll. [Lesur *et coll.*, 2004] ont réalisé un système *in vitro* d'analyse simple et rapide de la dégradation de la matrice extracellulaire du cartilage. Ce système est fondé sur la culture d'explants de cartilage chez le lapin et a permis d'étudier l'effet des inhibiteurs d'enzymes (protéases) responsables de la dégradation des PGs et du collagène.

Sabatini et coll. [Sabatini *et coll.*, 2005] ont montré dans une étude récente, l'effet d'un nouvel inhibiteur (S-34219) d'une protéinase, *in vitro* sur la dégradation de cartilage et *in vivo* chez le modèle de cobaye ménisectomisé. Cette équipe a montré que l'inhibiteur prévient la dégradation du cartilage, probablement par la limitation de la destruction des fibres de collagène qui conduit normalement à une érosion des zones articulaires. Ces études renforcent l'intérêt pour la prise en charge de l'arthrose des modèles animaux pour le test de produits pharmacologiques et montrent le rôle potentiel des inhibiteurs d'enzymes responsables de la dégradation de la matrice cartilagineuse.

4.3.1.b L'histologie, l'histomorphométrie

L'histologie chez le petit animal est d'une importance considérable. Elle est bien adaptée à l'analyse des lésions caractéristiques de la pathologie du cartilage et de l'os. L'histologie est considérée comme la technique de référence à laquelle toute autre méthode biologique ou d'imagerie doit être comparée. L'équipe de Pastoureau [Pastoureau *et coll.*, 2004] a réalisé une étude histomorphométrique du cartilage et de l'os du plateau tibial par des procédures appliquées et validées sur deux modèles animaux d'arthrose : le rat et le cobaye ménisectomisés. Les méthodes proposées débutent par le prélèvement de l'os suivi par toutes les étapes de la préparation de l'échantillon (sans décalcification préalable), coloration et fixation. En fonction des composantes à visualiser (cartilage ou os), deux colorations sont utilisées : safranine-O et trichrome de Goldner. Les différents paramètres histomorphométriques sont ensuite quantifiés en utilisant des logiciels dédiés. Dans une autre étude [Pastoureau *et coll.*, 2003], Pastoureau et coll. ont mesuré, au niveau du plateau tibial médial, le cartilage (épaisseur, index de fibrillation, contenu en protéoglycannes et densité de chondrocytes) et l'os (épaisseur de l'os sous-chondral, élément étiologique important dans la pathologie de l'arthrose). Cette équipe a montré des différences significatives pour tous ces paramètres mesurés chez le cobaye, 1 et 3 mois après une ménisectomie partielle par rapport aux cobayes contrôles.

L'histologie a permis de révéler, pour les modèles animaux d'arthrose (rat [Karahan *et coll.*, 2001; Wancket *et coll.*, 2005], cobaye [Meacock *et coll.*, 1990; Pastoureau *et coll.*, 2003; Sabatini *et coll.*,

2005], lapin [Messner *et coll.*, 2000; Rijk *et coll.*, 2004], mouton [Melrose *et coll.*, 2004]), l'impact de la pathologie dans le temps avec une fibrillation précoce du cartilage du plateau tibial médial apparue un mois après la chirurgie. Cette méthode a aussi permis de mettre en évidence, lors de la progression arthrosique, une relation entre les paramètres caractéristiques de l'os sous-chondral et du cartilage.

L'histologie est une technique par nature invasive dont la procédure, incluant la préparation des échantillons et leur analyse, s'échelonne sur plusieurs semaines. La nécessité de sacrifier l'animal à chaque point de mesure implique la constitution de groupes importants d'animaux, induisant ainsi une organisation complexe et un coût élevé des études. De plus, l'histologie n'autorise pas une analyse tridimensionnelle.

Pour ces raisons, le développement de méthodes d'imagerie non invasives permettant de réaliser des analyses *in vivo* présente un vif intérêt. La validation est réalisée par comparaison à l'histologie, car elle constitue la méthode à laquelle il est nécessaire de se référer.

4.3.2 Modalités d'imagerie in vivo

La visualisation et l'analyse quantitative des endommagements articulaires sont d'une grande importance dans le diagnostic clinique de l'arthrose, le suivi des thérapeutiques et la recherche pharmaceutique en général. Cependant, la capacité d'évaluation des stades initiaux de la maladie arthrosique, par les différentes modalités d'imagerie, demeure un domaine de recherche en pleine expansion. De nombreuses études se penchent actuellement sur le potentiel des modalités spécifiques à l'imagerie du petit animal.

4.3.2.a *Le micro-scanner X*

Le micro-scanner X est fondé sur le même principe que le scanner X utilisé pour l'examen clinique. Il permet d'atteindre des résolutions spatiales bien inférieures à 100 μm , mais la taille des échantillons ou des régions à explorer est limitée à quelques centimètres. La technique d'acquisition est toutefois différente de celle du scanner X classique. En radiologie clinique, l'acquisition des données se fait grâce à des barrettes de détecteurs disposées en arc de cercle ou en éventail (*fan beam*) afin de réduire les temps d'acquisition et d'améliorer la qualité des images. Le tube, producteur de rayons X, tourne seul dans une couronne comprenant de nombreux détecteurs fixes (de l'ordre de 800 à 1000).

Chez le petit animal, l'acquisition est réalisée à l'aide de multi-détecteurs de type matriciel (*cone beam*) afin d'obtenir des images 3D. Cette technique requiert un micro-scanner à rotation continue et rapide de la source des rayons X, ainsi qu'un puissant système multiprocesseur qui assure simultanément les tâches d'acquisition, de reconstruction et de visualisation. A la suite d'opérations d'interpolation, le système reconstruit une série de coupes axiales présentant entre-elles un certain degré de chevauchement. Une limitation de cette modalité d'imagerie, mis à part son caractère irradiant, est le volume important de données acquises (plusieurs giga octets) et le temps de reconstruction extrêmement important (plusieurs dizaines d'heures) avec une station de travail biprocesseur.

Le potentiel de cette technique est l'excellente discrimination entre l'os et les tissus mous, tandis que le cartilage peut être évalué indirectement, en mesurant la distance qui sépare l'os sous-chondral de l'articulation. La principale application du micro-scanner X dans l'arthrose

est l'investigation de l'os sous-chondral, *in vitro* aussi bien qu'*in vivo*. Waschmuth et Engelke [Wachsmuth *et coll.*, 2004] décrivent l'application *in vitro* et *in vivo* du micro-scanner X dans l'investigation des articulations chez des souris développant une arthrose spontanée dont les caractéristiques sont similaires à celles développées chez l'Homme [Benske *et coll.*, 1988]. Cette équipe a réalisé, dans des conditions [Benske *et coll.*, 1988], des acquisitions de l'articulation avec une taille de voxels de 11 µm. Dans le cas d'acquisitions *in vivo*, le temps d'acquisition et l'exposition aux radiations sont des paramètres limitant les expérimentations. De plus, il est nécessaire de prévenir les mouvements des échantillons qui deviennent d'autant plus critiques que la résolution est élevée. Une résolution de 22 µm dans le plan a été considérée comme appropriée pour des protocoles *in vivo* et compatible avec un temps d'acquisition raisonnable.

Grâce au micro-scanner X, il est possible de suivre le développement d'altérations osseuses comme la formation d'ostéophytes, le remodelage trabéculaire, l'épaississement de l'os sous-chondral et la sclérose sous-chondrale [Engelke *et coll.*, 2001]. D'autres études utilisent le rat *in vivo* [Kapadia *et coll.*, 1998] et *in vitro* [Roemer *et coll.*, 2005] ou le cobaye [Fini *et coll.*, 2005] comme modèle animal dans l'évaluation de l'arthrose et de l'ostéoporose, à partir de l'analyse de l'évolution de l'architecture osseuse trabéculaire et sous-chondrale. Malgré ses potentialités, le micro-scanner X reste un outil difficile à utiliser en imagerie *in vivo* et procure des informations indirectes sur le cartilage articulaire. Néanmoins, cette modalité apporte des données pertinentes sur les tissus calcifiés de l'articulation, montrant des altérations de l'os sous-chondral lors des phases précoces de la maladie, et ceci bien avant que la distance inter-articulaire de l'articulation et/ou des changements macroscopiques osseux puissent être observés [Benske *et coll.*, 1988; Layton *et coll.*, 1988; Dedrick *et coll.*, 1993; Jiang *et coll.*, 2000].

4.3.2.b La scintigraphie

L'imagerie ostéoarticulaire bénéficie des progrès techniques constants. Ainsi, la scintigraphie est capable de suivre des produits pharmaceutiques marqués qui se fixent de manière spécifique au niveau de l'articulation. Divers traceurs, majoritairement à base de technétium (Tc^{99m}), sont utilisés chez le petit animal pour détecter des changements cartilagineux et osseux lors de processus inflammatoires ou de stades arthrosiques avancés. L'équipe d'Ollier [Ollier *et coll.*, 2001] a montré l'apport du $99mTc-N-(3-(triéthylammonio)propyl)-15ane-N5$ dans la détection *in vivo* de lésions du cartilage chez le lapin, par rapport au $99mTc$ -méthylène diphosphonate. En effet, l'intensité de la fixation du $99mTc$ -NTP est dépendante de l'âge et de la sévérité des lésions. Dans ce cas, les altérations du cartilage qui ne sont pas détectées par radiographie montrent, en scintigraphie, une fixation faible de ce traceur dans le cartilage. Cette molécule est détectée cinq minutes après injection et reste stable pendant deux heures. A l'inverse, le $99mTc$ -MDP ne révèle pas les lésions arthrosiques précoces.

Cet exemple évoque la contribution en cours de développement de la scintigraphie qui, à l'heure actuelle, demeure une méthode limitée d'investigation de la dégradation précoce du cartilage et de la progression de l'arthrose.

4.3.2.c La micro tomographie par émission de positons

La tomographie par émission de positons (TEP) est une méthode d'imagerie médicale nucléaire permettant la mesure en trois dimensions de l'activité métabolique d'un organe, grâce aux émissions produites par les positons issus de la désintégration d'un produit radioactif injecté au préalable. La TEP repose sur le principe général de la scintigraphie qui consiste en l'injection d'un traceur, dont le comportement et la voie métabolique biologique

sont connus, pour obtenir des images du fonctionnement d'un organe. Cette molécule traceuse est communément marquée par un atome radioactif de type carbone, fluor, azote ou oxygène qui émet des positons dont l'annihilation avec la matière produit elle-même deux photons gammas simultanés et antiparallèles. La détection en cohérence de la trajectoire de ces deux photons γ par l'anneau de détecteurs permet de localiser le lieu de leur émission, et, par intégration du nombre de désintégrations, la concentration du traceur en chaque voxel de l'organe. Cette information quantitative est généralement représentée sous la forme d'images où la concentration est codée selon une échelle de couleurs. Ainsi, la TEP permet de visualiser les activités du métabolisme cellulaire d'un organe cible. La modalité TEP constitue donc une *imagerie fonctionnelle*, par opposition aux techniques d'imagerie dite *structurelles* reflétant l'anatomie des organes (radiographie conventionnelle, scanner X).

Cette modalité d'imagerie a récemment été adaptée à l'analyse *in vivo* chez le petit animal et est, de ce fait, connue sous le vocable de *micro-TEP*. Classiquement utilisée dans le contexte de l'imagerie cérébrale (révélation des zones activées lors de certaines sollicitations cognitives) [Aznavour *et coll.*, 2008; Paul *et coll.*, 2008] et de la cancérologie (révélation de l'activité cellulaire exacerbée des sites tumoraux) [Zavaleta *et coll.*, 2007; Zhang *et coll.*, 2008], la micro-TEP apporte ses spécificités d'imagerie fonctionnelle dans la caractérisation de certains phénomènes ostéoarticulaires. En effet, le micro-TEP, reflet de l'activité cellulaire, a été récemment mise à profit dans l'évaluation *in vivo* d'un modèle d'arthrite induite au collagène chez la souris [Yaghoubi *et coll.*, 2007]. Au sein de notre laboratoire, et en collaboration avec le service de Médecine Nucléaire du CHU de Nancy, nous avons effectué un travail préliminaire similaire *in vivo* chez le rat (figure 13), lors d'un modèle de mono-arthrite induite par injection de parois de mycobactéries.

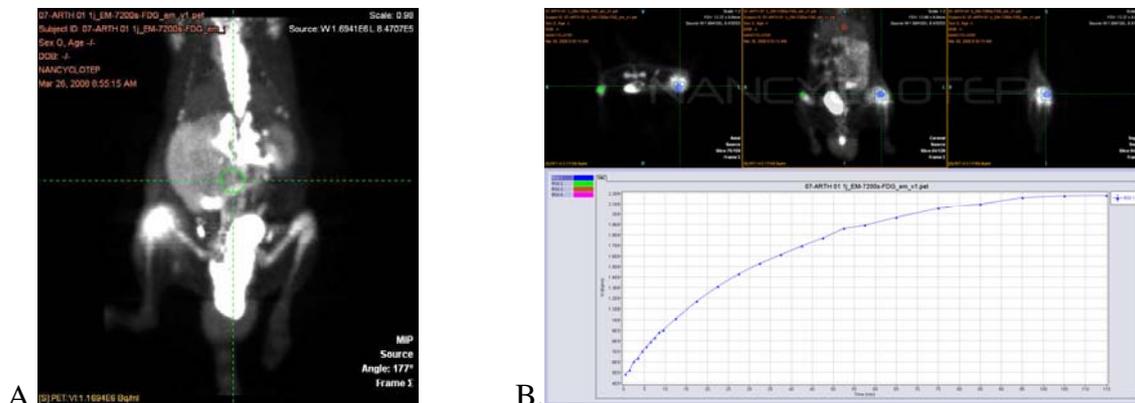


Figure 13. Micro imagerie par émission de positons *in vivo* chez le rat (mono-arthrite induite au niveau du genou droit par injection de parois de mycobactéries). La molécule traceuse choisie est le ^{18}F -FDG (fluorodéoxyglucose marqué au fluor 18, émetteur de positons), analogue structural du glucose, principal substrat énergétique du métabolisme cellulaire. A. Vue antérieure de l'abdomen et des membres inférieurs du rat. Nous observons un marquage prononcé du genou droit (à gauche sur l'image) reflétant l'activité inflammatoire de la membrane synoviale. B. Suivi de l'activité au sein d'une région d'intérêt définie au niveau du genou arthritique.

Source : travail préliminaire 'micro-TEP chez le rat arthritique', données internes non publiées.

4.3.2.d L'échographie ultrasonore

Les ondes ultrasonores sont des ondes élastiques qui se propagent dans facilement au travers des tissus mous. Elles sont utilisées pour mesurer les propriétés mécaniques ou élastiques du milieu de propagation, qui, dans le cas du cartilage articulaire, sont associées à différentes caractéristiques comme la composition de la matrice extracellulaire (contenu en collagène et protéoglycannes) et la microarchitecture (orientation des fibres de collagène et épaisseur). Pour détecter des lésions précoces du cartilage et suivre leur évolution, une résolution spatiale élevée est nécessaire. Pour l'imagerie ultrasonore, ce niveau de résolution est obtenu en utilisant des ondes ultrasonores hautes fréquences. Cependant, comme l'atténuation des ultrasons au sein du cartilage articulaire dépend de leur fréquence, la fréquence maximale de travail est donnée par la profondeur de pénétration de l'onde dans le tissu. Plusieurs investigateurs ont rapporté que des fréquences comprises entre 20 et 80 MHz sont bien appropriées pour l'étude du cartilage chez l'Homme ou l'animal [Kelly-Fry *et coll.*, 1988; Kim *et coll.*, 1995; Myers *et coll.*, 1995; Saied *et coll.*, 1997]. Dans cet intervalle fréquentiel, la structure du cartilage est sondée avec une résolution spatiale pouvant atteindre 30 µm dans l'axe de propagation de l'onde ultrasonore, et environ 80 µm dans le plan transverse.

Quelques études ont démontré le potentiel des ultrasons à haute fréquence pour l'évaluation quantitative de changements d'épaisseur du cartilage, la mise en évidence d'altérations de surface et matriciels, ainsi que de l'os sous-chondral. La technique a été appliquée dans l'étude des variations durant la maturation du cartilage [Saied *et coll.*, 1997; Cherin *et coll.*, 1998; Cherin *et coll.*, 2001; Pellaumail *et coll.*, 2002], la maladie arthrosique [Kelly-Fry *et coll.*, 1988; Myers *et coll.*, 1995; Saied *et coll.*, 1997; Cherin *et coll.*, 1998] de même que pour l'arthrite et ses traitements [Jaffre *et coll.*, 2003]. Cependant, quelques modifications (fréquence des ultrasons, transducteur, spécifications électroniques) peuvent être introduites pour développer une méthodologie appropriée à l'étude du cartilage chez l'Homme et le gros animal (canin, porcin, bovin) [Agemura *et coll.*, 1990; Kim *et coll.*, 1995; Toyras *et coll.*, 1999]. De plus, d'autres paramètres tels que la vitesse de l'onde, le coefficient d'atténuation, la dispersion et les coefficients de réflexion peuvent être pris en compte dans l'évaluation quantitative de la composition du tissu et de sa micro-architecture. Le coefficient d'atténuation et la vitesse du son dans le cartilage articulaire sont sensibles à la modification de la matrice du collagène [Pellaumail *et coll.*, 2002]. La dégradation enzymatique des protéoglycannes matriciels, chez l'Homme et l'espèce bovine, accroît significativement le coefficient d'atténuation et diminue la vitesse du son dans l'intervalle 20-40 MHz [Toyras *et coll.*, 1999; Joiner *et coll.*, 2001; Nieminen *et coll.*, 2002a].

Cette méthodologie appropriée à des expérimentations *in vitro* ou *ex vivo* a été plus spécifiquement appliquée par Saied et Laugier [Saied *et coll.*, 2004] dans le cadre de l'investigation du cartilage patellaire chez le rat. Cette équipe a quantifié l'épaisseur cartilagineuse, localement, utilisant le mode échographique A ('A' pour amplitude, ce mode étant basé sur la mesure de l'amplitude de l'écho, proportionnelle au temps de réponse) en calculant la différence de temps de réponse entre les échos correspondants d'une part à la réflexion des ondes sur les surfaces cartilagineuses, et les échos réfléchis par l'os sous-chondral d'autre part. Ce mode d'acquisition fournit des mesures précises de l'épaisseur du cartilage le long de l'axe de propagation des ondes ultrasonores. Le mode B ('B' pour *brightness*), mode échographique classique, présente l'amplitude détectée (signal vidéo) des signaux sonores par une codification en niveaux de gris. Une reproductibilité de 1,3 % des mesures de l'épaisseur cartilagineuse a été rapportée [Cherin *et coll.*, 1998] en utilisant ce mode B. Il a aussi été démontré que l'épaisseur du cartilage dépendaient de l'âge de l'animal ou de l'état de dégradation du cartilage [Cherin *et coll.*, 1998; Toyras *et coll.*, 1999; Cherin *et coll.*, 2001]. De

nouvelles techniques d'investigation, en cours de développement, du cartilage chez le petit animal utilisent les ultrasons en association avec d'autres modalités comme l'arthroscopie conventionnelle [Laasanen *et coll.*, 2002] ou la microscopie ultrasonore [Spriet *et coll.*, 2005].

4.3.2.e L'arthroscopie

Des études arthroscopiques du cartilage articulaire arthrosique ont été réalisées chez le rat [Cheng *et coll.*, 2004], le chien [Van Ryssen *et coll.*, 1997; Warnock *et coll.*, 2004], le cheval [Scott *et coll.*, 2004; Smith *et coll.*, 2005] et la chèvre [Bjornland *et coll.*, 1994]. La précision de l'évaluation des défauts cartilagineux par cette méthodologie [Brommer *et coll.*, 2004] ainsi que le suivi de traitements de l'arthrose ont été rapportés [Smith *et coll.*, 1999]. Des travaux antérieurs avaient tenté de mettre en évidence la capacité de l'arthroscopie à discriminer le cartilage articulaire normal du cartilage arthrosique. Oakley *et coll.* [Oakley *et coll.*, 2005] ont mis en évidence le rôle de l'arthroscopie dans la détection précoce des chondropathies. Ils ont montré, sur un modèle arthrosique ovin, une semaine après méniscectomie, la sensibilité, la spécificité et la précision des évaluations arthroscopiques dans le diagnostic de la pathologie. Néanmoins, cette modalité d'imagerie n'est pas capable de fournir des données quantitatives d'épaisseur ou de volumes cartilagineux et reste une technique invasive peu adaptée aux petits animaux.

4.3.3 L'IRM à haute résolution spatiale chez le petit animal

L'IRM, grâce à ses propriétés contrastantes vis-à-vis des tissus mous, sa résolution spatiale, ses capacités multiplanaires de visualisation directe du cartilage, apparaît comme la méthode idéale pour l'étude des pathologies articulaires. Cependant, en raison de la faible taille des articulations et de la faible sensibilité de l'IRM, l'utilisation de cette technique pour la quantification *in vivo* du cartilage représente toujours un défi [Link *et coll.*, 1997; Link *et coll.*, 1998].

L'IRM a cependant été appliquée à une variété de modèles animaux comme la souris [Munasinghe *et coll.*, 1995], le rat [Loeuille *et coll.*, 1997; Watrin *et coll.*, 2001], le cobaye [Watson *et coll.*, 1997], le lapin [Calvo *et coll.*, 2001], le singe [Gahunia *et coll.*, 1995], la chèvre [Laurent *et coll.*, 2001] et le chien [Nolte-Ernsting *et coll.*, 1996]. Toutes ces études ont montré des amincissements focaux et des dégradations matricielles du cartilage, avec une sclérose sous-chondrale généralisée ainsi qu'une formation d'ostéophytes et de kystes au niveau de l'os sous-chondral. Calvo *et coll.* [Calvo *et coll.*, 2001] ont observé, chez le lapin ayant subi une méniscectomie partielle au niveau du condyle médial, la prolifération de tissu fibreux à l'endroit où le ménisque a été éliminé. L'équipe d'O'Byrne [O'Byrne *et coll.*, 1993] a mené une étude chez le lapin en pratiquant un sectionnement des ligaments fibulaires collatéral et sésamoïde en complément d'une méniscectomie latérale partielle ; leurs résultats montrent une réduction de l'épaisseur fémoro-tibiale du cartilage. Dans une étude longitudinale chez le chien avec transsection du ligament croisé antérieur, Braunstein *et coll.* [Braunstein *et coll.*, 1990] ont conclu que sur une période de trois années, les chondrocytes peuvent produire une surface articulaire capable de supporter une charge comparable aux forces de compression observées *in vivo*.

La progression de l'arthrose chez le cobaye, précédemment caractérisée par histomorphométrie [Bendele *et coll.*, 1989; Jimenez *et coll.*, 1997], a également été décrite dans la littérature à partir d'acquisitions IRM [Watson *et coll.*, 1993]. L'équipe de Watson [Watson *et coll.*, 1996a] a rapporté divers changements d'épaisseur du cartilage fémoro-tibial associés à l'arthrose en utilisant l'IRM bidimensionnelle (les auteurs considéraient en effet les

acquisitions 3D difficiles à réaliser dans l'articulation du petit animal, en raison des impératifs de qualité / contraste et rapport signal sur bruit des images, associés à la nécessité d'une haute résolution spatiale [Watson *et coll.*, 1997]). De leur côté, Tessier et coll. [Tessier *et coll.*, 2003] ont réalisé une étude longitudinale *in vivo* utilisant l'IRM 3D, démontrant le succès de cette technique pour la caractérisation de la progression spontanée de l'arthrose. Cette équipe a quantifié, pour la première fois, le volume du cartilage tibial chez le cobaye. Ainsi, des signes précoces de la pathologie arthrosique (œdème du cartilage au niveau du plateau tibial, dégénération du ménisque) ont été révélés à 3 mois. A 6 mois, de petits kystes osseux apparaissent et continuent de se développer jusqu'à 9 mois. A ce stade, des fragmentations et des cavités dans le cartilage tibial médial ont été visualisées par IRM. A 12 mois, une fragmentation sévère du cartilage tibial conduit à un amincissement localisé du cartilage.

Entre 3 et 12 mois, le signal RMN en provenance du ménisque postérieur s'atténue progressivement. L'histologie a confirmé qu'il s'agissait de l'ossification du ménisque comme déjà rapporté dans la littérature [Kapadia *et coll.*, 2000]. La qualité des images IRM fut suffisante pour permettre une segmentation manuelle afin de quantifier le volume du cartilage tibial médial. Ainsi, il a été mis en évidence une diminution de 5 % du volume du cartilage tibial médial entre 9 et 10 mois, suivie d'une perte plus prononcée à 12 mois (36 %).

Une étude IRM à 4,7 T [Spandonis *et coll.*, 2004], basée sur des relevés quantitatifs en densité de protons et temps de relaxation T1 et T2, a été réalisée au niveau du condyle médial droit chez le rat ménisectomisé. Dans la région d'intérêt, les auteurs ont observé une augmentation significative des valeurs de T2 accompagnée d'un léger accroissement de la densité de protons par rapport aux animaux témoins. En revanche, pour les valeurs de T1, aucune différence significative n'a pu être démontrée entre les deux groupes. En effet, les séquences IRM se focalisant sur l'étude du temps de relaxation T1 usent généralement d'un produit de contraste tel que le gadolinium [Gillis *et coll.*, 2002; Nieminen *et coll.*, 2002b] afin de déterminer la teneur protéoglycannes de la matrice cartilagineuse.

Relativement récemment, l'équipe de Faure [Faure *et coll.*, 2003] a mis à profit l'IRM, avec une acquisition 3D sous un champ de 7 T, pour suivre l'évolution d'un modèle d'arthrite au niveau du genou chez le rat. La résolution élevée des images (105 x 105 x 145 μm) a permis aux auteurs de révéler les stades précoces de la maladie. En effet, un gonflement de la membrane synoviale, une érosion osseuse accompagnée d'une perte de cartilage 'apparente' ont été mentionnés. De plus, les perturbations observées par IRM ont précédé l'apparition de signes dégénératifs relevés en histologie, suggérant la difficulté de confronter deux méthodes d'imagerie, l'une étant réalisée *in vivo*, l'autre s'attachant à l'étude *ex vivo* de coupes fines déshydratées.

Quoiqu'il en soit, toutes ces études mettent en évidence le potentiel de l'IRM dans l'étude de pathologies ostéoarticulaires chez le petit animal, ouvrant ainsi la voie à une méthode d'investigation non invasive pour la détection des lésions, le suivi de la progression de la pathologie et l'analyse de l'efficacité de nouvelles modalités thérapeutiques.



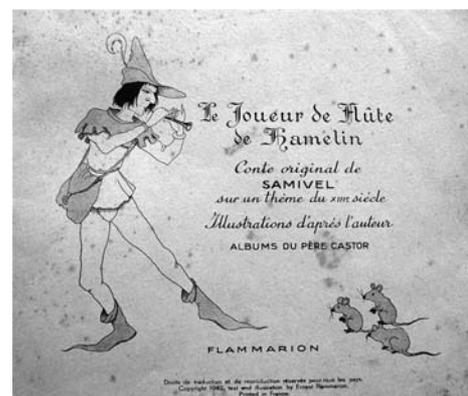
Travaux expérimentaux menés chez le petit animal à 7 Teslas

ANNÉES DU RAT :
1900 1912 1924 1936 1948
1960 1972 1984 1996 2008



Mesure in vivo par IRM quantitative à 7 Teslas du cartilage du genou chez le rat

Faisabilité et reproductibilité



1 But

Nous avons mis en place cette première étude afin de déterminer la faisabilité et la reproductibilité de l'analyse par IRM à haute résolution spatiale du volume du cartilage fémoro-tibial *in vivo* chez le petit animal. Un travail de méthodologie concernant la mise au point des séquences d'acquisition ainsi que la réalisation d'une antenne radiofréquence spécifique avait été réalisé préalablement par nos partenaires de l'équipe de l'UMR 5220 CNRS de Lyon [Beuf, 2004; Rengle *et coll.*, 2007], afin d'adapter les modalités au rat.

2 Matériels et Méthodes

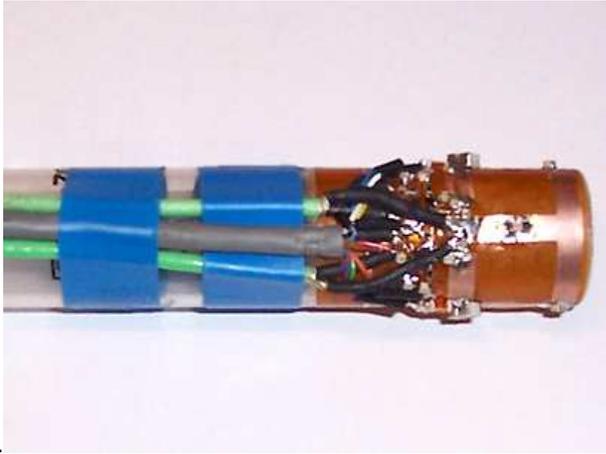
2.1 Animaux

Le protocole de notre étude a été soumis et validé par le comité d'éthique d'expérimentation animale de la région Rhône-Alpes. Nous avons volontairement limité notre étude de faisabilité en n'utilisant que 5 rats (200 g) mâles sains de race Wistar (laboratoires Charles River, France). Ceux-ci sont placés en stabulation au sein de l'animalerie dédiée de la plateforme *Animage* (Bron, France) [Sappey-Marinier *et coll.*, 2004], dans le respect des conditions préconisées par les textes règlementaires relatifs à l'expérimentation animale :

- cages de stabulation homologuées en plastique transparent avec litière de copeaux de bois,
- hygrométrie contrôlée et température de l'animalerie maintenue à 21°C,
- cycle nyctéméral de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.
- Les animaux sont alimentés avec une nourriture standardisée et ont accès à l'eau *ab libitum*.
-

Avant d'effectuer les procédures d'imagerie, les rats sont anesthésiés en utilisant un système d'inhalation approprié (équipements vétérinaires Minerve, Esternay, France). Pour la procédure d'anesthésie, nous employons un mélange gazeux : 30 % d'oxygène avec une concentration de 4 % d'isoflurane (laboratoire Belamont, Boulogne-Billancourt, France). Les rats sont placés en boîte d'induction, le flux du mélange anesthésique étant réglé à 1 litre par minute.

Après endormissement complet de l'animal, une antenne radiofréquence spécifiquement développée pour notre étude est mise en place autour du genou à explorer (figure 14.A) [Rengle *et coll.*, 2007]. La patte est disposée en extension à l'aide de ruban adhésif médical afin de limiter au maximum les mouvements risquant de produire des artefacts sur les images (figure 14.B). Les rats sont maintenus anesthésiés à l'isoflurane (2,7 % à 1 litre/min) durant toutes les procédures de préparation et d'imagerie. L'anesthésie gazeuse, contrôlée en température, est administrée à l'aide d'un masque facial. Le rat est allongé en décubitus dorsal sur un lit chauffant, celui-ci étant placé précautionneusement au centre de l'aimant. Les paramètres physiologiques de l'animal (température et rythme respiratoire) sont suivis durant toute la durée des acquisitions IRM.



A.



B.

Figure 14. A. antenne radiofréquence possédant 2 éléments réceptifs en réseau permettant un accroissement du rapport S/B, développée par l'UMR CNRS 5220 de Lyon pour l'analyse *in vivo* à 7 Teslas chez le petit animal. B. Mise en place de l'antenne autour de l'articulation à étudier, en l'occurrence le genou de rat.

Source : Rengle A. et coll., *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* (2007) 1, 3886-9.

2.2 Protocole IRM

Les 5 rats (5 genoux sains) ont été scannés *in vivo* durant 45 minutes à l'aide d'un imageur Biospec 7 Teslas (Bruker, Ettlingen, Allemagne) équipé de gradients de 400 mT/m. A la suite d'essais préliminaires [Beuf, 2004], des paramètres optimums d'acquisition furent définis :

Séquence :	3D Gradient Echo Fast Imaging (GEFI), pondération T1, suppression du signal de la graisse
Temps de Répétition (TR) :	50 ms
Temps d'Echo (TE) :	3,6 ms
Angle de bascule :	25 °
Champ de vue :	26 x 26 mm
Matrice d'acquisition :	512 x 512 pixels
Résolution dans le plan :	51 x 51 µm
Epaisseur de coupe :	94 µm
Nombre de coupes :	128 coupes jointives
Durée d'acquisition :	45 minutes

Une séquence de repérage (*Rapid Acquisition with Relaxation Enhanced (RARE)*) est préalablement réalisée afin de contrôler la position adéquate du genou au sein de l'antenne radiofréquence et pour caler les coupes 3D GEFI haute résolution orthogonalement au plan de flexion antéropostérieur du genou [Glaser *et coll.*, 2003]. Nous avons choisi une reconstruction des données dans le plan sagittal car cette orientation autorise une meilleure visualisation de l'ensemble des compartiments cartilagineux tout en diminuant les effets de volumes partiels [Bydder *et coll.*, 2007]. L'intégralité du genou est couverte par l'acquisition volumique choisie.

Immédiatement après l'acquisition, les animaux, toujours sous l'effet de l'anesthésique, sont sacrifiés par injection intracardiaque de Dolethal®. Les genoux sont disséqués puis fixés dans une solution de formol pendant 48 heures. Ceux-ci sont ensuite décalcifiés pendant 4 à 6 heures par l'emploi de décalcifiant osseux rapide (Apex, Canada). Les prélèvements sont alors déshydratés par une succession de bains d'éthanol de concentration croissante. Après inclusion des échantillons en bloc de paraffine, nous réalisons des coupes histologiques

sagittales de 5 μm d'épaisseur, orthogonales à l'axe de flexion antéropostérieur du genou. Enfin, les coupes sont appliquées sur lames de verre et colorées à l'Hématoxyline – Erythrosine – Safran (HES).

Cette coloration permet d'étudier la morphologie des cellules du cartilage articulaire : les lames sont colorées dans un bain d'hématoxyline 0,5 % pendant 5 minutes, et rincées dans de l'eau. Les lames passent alors dans l'alcool ammoniacal pendant 1 minute. L'alcool ammoniacal permet de différencier le noyau du reste de la cellule. Les coupes histologiques sont ensuite colorées dans de l'érythrosine aqueuse à 1 % pendant 5 minutes, afin de mettre en évidence les éléments acidophiles tel que le cytoplasme. Elles sont rincées, déshydratées dans de l'alcool 95° puis absolu et enfin colorées par une solution alcoolique de Safran à 1 % pendant 5 minutes. Après une ultime étape de déshydratation, les lames et lamelles sont montées avec une résine synthétique.

Les coupes histologiques sont photographiées à l'aide d'une loupe binoculaire (grossissement x 4) couplée à un système d'acquisition numérique (caméra Wv-CL350, Panasonic, Japon ; Indy, Silicon Graphics, Mountain View, Californie). Les images recueillies ont permis la constitution de références anatomiques destinées à aider les opérateurs dans les étapes de segmentation du cartilage articulaire sur les IRM (figure 15. A et B).

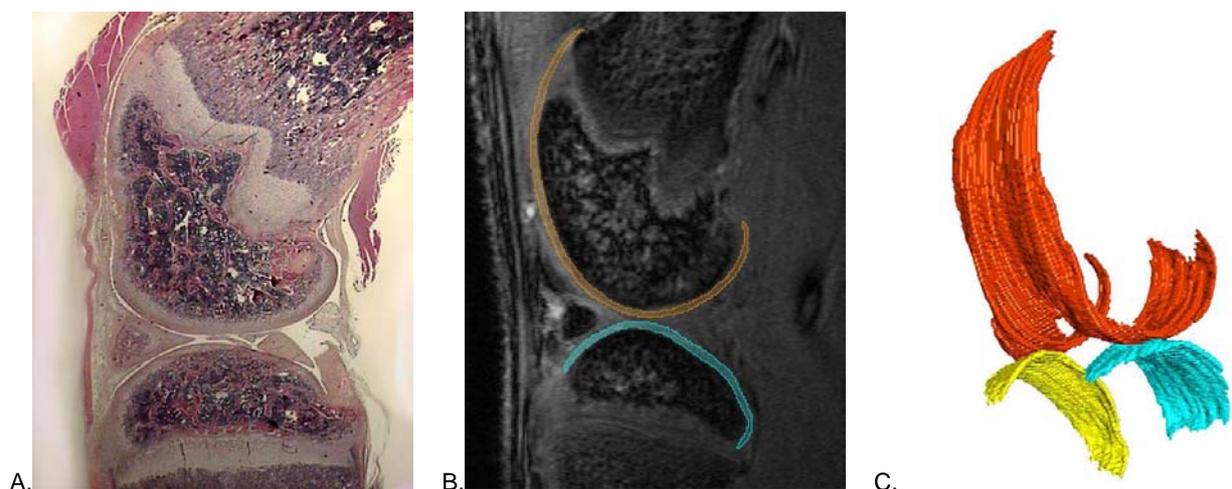


Figure 15. A. coupe histologique sagittale (coloration à l'hématoxyline - érythrosine - safran, 5 μm) dans la région portante latérale d'un genou de rat. B. IRM obtenue *in vivo* à 7 Teslas chez le rat et correspondant à la coupe histologique. La segmentation manuelle des compartiments cartilagineux est représentée en orange pour le fémur et en cyan pour le tibia. C. Représentation 3D des cartilages de l'articulation fémoro-tibiale chez le rat. Source : Goebel JC et coll., *Bio-Medical Materials and Engineering*, sous presse.

2.3 Traitement d'image

Les piles IRM 3D sont chargées dans l'environnement de développement Matlab (Mathworks Inc, Natick, MA USA) afin de procéder à la segmentation manuelle de trois compartiments cartilagineux du genou : le condyle fémoral ainsi que les plateaux tibiaux médial et latéral. La procédure est réalisée, image par image, sur les IRM où le cartilage articulaire est clairement identifiable, c'est-à-dire en excluant les coupes correspondant aux extrémités médiales et latérales du genou, ainsi que la région tibial intercondyalaire (présence des épines tibiales). Nous avons utilisé un écran tactile (PL-720, Wacom, Krefeld, Allemagne) sur lequel les opérateurs peuvent directement dessiner, à l'aide d'un stylet spécifique, les contours du

cartilage articulaire [McWalter *et coll.*, 2005]. A la suite de cette étape de segmentation, des piles 3D de masques binaires sont recueillies, sur lesquels les trois compartiments cartilagineux sont numériquement identifiés par des labels. Chaque jeu de labels est ensuite mis à profit pour obtenir les volumes cartilagineux en intégrant les voxels segmentés (figure 15.C).

2.4 Analyse statistique

La procédure de segmentation est réalisée en aveugle par 2 opérateurs entraînés. L'un d'eux répéta l'opération à deux reprises, en respectant une période de 10 mois entre les deux lectures. Comme préconisé par Glüer et coll. [Glüer *et coll.*, 1995], les reproductibilités inter- et intra-opérateurs sont déterminées en calculant la moyenne quadratique des coefficients de variations, exprimée en pourcentage.

3 Résultats

Avant d'employer l'écran tactile, les opérateurs se sont familiarisés à la lecture des IRM. Concomitamment, les images histologiques de référence ont été consultées afin de définir les limites anatomiques du cartilage articulaire et de les localiser en parallèle sur les coupes IRM. Une phase d'apprentissage du logiciel et de la procédure de segmentation manuelle, par pointage standard (souris d'ordinateur), fut initiée pendant une semaine pour les deux opérateurs. Le temps consacré à la segmentation manuelle de l'intégralité des compartiments cartilagineux était de 5 heures par genou.

L'écran tactile fut ensuite utilisé en lieu et place de la souris informatique. Les opérateurs bénéficièrent de 3 jours supplémentaires pour s'adapter à ce nouvel outil de traçage. Pour chaque opérateur, la durée de segmentation du cartilage diminua à 4 heures par genou. En effet, l'écran tactile autorise une ergonomie plus appropriée et un tracé plus naturel et précis des contours cartilagineux. De plus, la segmentation réalisée directement sur l'écran par un tracé au stylet nécessite moins de post-corrections que dans le cas du tracé par souris.

En réalisant les calculs de reproductibilité de la segmentation des piles IRM, nous avons trouvé des erreurs de précision inter-opérateur de 9,1 %, 6,2 % et 9,6 % pour le compartiment cartilagineux fémoral, tibial médial et tibial latéral respectivement. Dans le cas de la reproductibilité intra-opérateur, les moyennes quadratiques des coefficients de corrélation indiquent les valeurs suivantes : 2,1 %, 3,2 % et 2,5 %.

4 Discussion

Nos fouilles bibliographiques montrent que ce travail est la première étude *in vivo* réellement volumique du cartilage fémoro-tibial sain chez le rat. D'autres auteurs ont étudié le cartilage articulaire, à différentes intensités de champ magnétique, chez le petit animal (rat, cochon d'Inde). Mais dans ces travaux [Faure *et coll.*, 2003; Bolbos *et coll.*, 2007; Bolbos *et coll.*, 2008a], seuls l'interligne articulaire ou l'épaisseur cartilagineuse ont été mesurés. Une étude rapporte cependant des données volumiques, mais celles-ci se limitent au cartilage tibial médial [Tessier *et coll.*, 2003]. Jusqu'à présent, aucune étude ne s'est penchée sur la quantification volumique complète du cartilage de genou chez le rat. L'approche 3D nous renseigne sur la teneur

globale de cartilage, constituant ainsi un paramètre quantitatif applicable dans des études de suivi de la maladie arthrosique.

En parallèle, ce type de données issues de segmentation peut constituer une source pour d'autres types d'investigations quantitatives comme la cartographie tridimensionnelle des épaisseurs cartilagineuses [Raynauld *et coll.*, 2006], la détermination de zones de contact articulaire [Cohen *et coll.*, 1999a; DeFrate *et coll.*, 2004; Pouletaut *et coll.*, 2008], ainsi que l'analyse du rayon de courbure ou de la rugosité de la surface du cartilage [Hohe *et coll.*, 2002; Dam *et coll.*, 2007; Folkesson *et coll.*, 2008].

Les valeurs de reproductibilité intra-opérateur s'échelonnent de 2,1 à 3,2 % pour les différents compartiments cartilagineux, et ce, pour une période de 10 mois entre les 2 séances de segmentation. De telles valeurs sont comparables aux données relevées dans le contexte de l'analyse quantitative du cartilage chez l'Homme. En effet, Eckstein *et coll.* répertorient des valeurs similaires trouvées par de nombreux auteurs pour le cartilage du genou humain [Eckstein *et coll.*, 2006c]. D'un autre côté, les erreurs de précision intra-opérateurs sont relativement élevées, ceci étant probablement dû à une différence notable dans la manière de segmenter entre les deux opérateurs. Ce point particulier souligne la nécessité de formuler une méthodologie claire et non-équivoque avant de débiter les segmentations. De même, un consensus permettrait de résoudre certains problèmes rencontrés dans la délimitation du cartilage lorsque des effets de volume partiel sont rencontrés, ou encore lorsque le contraste est peu satisfaisant entre le cartilage articulaire et les structures avoisinantes.

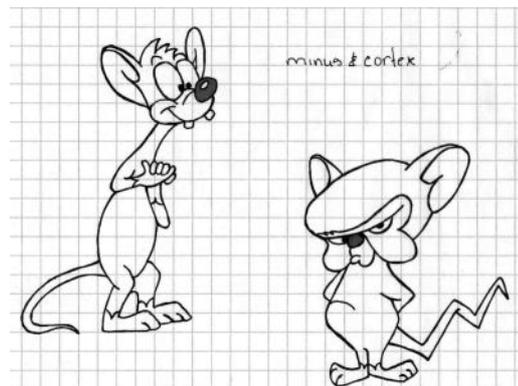
Comme préconisé par l'étude de McWalter [McWalter *et coll.*, 2005], nous avons utilisé un écran tactile afin de remplacer le pointage standard par souris. Les résultats quantitatifs découlant de ces deux outils de tracé ne sont pas significativement différents, en revanche un gain de temps de 15 % ainsi qu'une ergonomie supérieure sont avérés.

Le choix de l'espèce animale employée dans cette étude était partiellement motivé par des impératifs pratiques (taille des animaux par rapport à l'appareillage, animalerie adaptée, coûts...), mais aussi par le fait que le rat constitue un des modèles animaux fréquemment utilisés, en particulier dans les essais thérapeutiques de l'arthrose, offrant ainsi des liens de comparaison possibles entre les études.

5 Conclusion

Nos résultats suggèrent que la quantification *in vivo* du cartilage articulaire par IRM à 7 Teslas peut être réalisée chez le rat en respectant des règles strictes de segmentation. L'IRM quantitative à haute résolution spatiale de modèles de petits animaux semble pouvoir être employée dans un contexte d'étude de la maturation du cartilage articulaire, dans le cas de pathologie arthrosique afin de détecter des signes précoces d'atteintes cartilagineuses, mais aussi dans l'évaluation des effets thérapeutiques de médicaments chondroprotecteurs.

Etude in vivo par IRM à haut champ (7 Teslas) des variations liées à l'âge au niveau du cartilage fémoro-tibial chez le rat sain



1 But

Nous avons mené cette étude afin d'attester l'intérêt de l'IRM 3D à haute résolution pour caractériser, de manière quantitative, l'évolution des volumes et épaisseurs du cartilage articulaire au cours du processus de maturation / vieillissement chez des rats sains. Ces travaux nous délivrent ainsi des données qui pourront constituer des abaques de références pour d'autres études expérimentales, notamment dans le cas de suivis de modèles animaux d'arthropathie. Concomitamment, l'emploi d'animaux nous a également permis de réaliser des relevés histomorphométriques dans le but de pouvoir corrélérer et valider les variations liées à l'âge identifiées en IRM.

2 Matériels et Méthodes

2.1 Animaux

Dans le cadre de cette étude, notre choix s'est porté sur des rats mâles de souche Wistar (laboratoires Charles River, L'Arbresle, France) âgés de 4 semaines à plus de 3 mois. Les animaux ont été hébergés dans des cages en plastique transparent, sur lit de copeaux de bois. Les cages étaient entreposées au sein de l'animalerie de la plateforme *Animage* (Bron, France) dans une pièce thermo- et hygro-régulée bénéficiant d'un cycle lumière / obscurité de 12h/12h. Les rats étaient nourris avec de la nourriture standardisée et avaient accès à l'eau à volonté. Les guides de bonnes pratiques relatifs à l'expérimentation animale ont été scrupuleusement suivis, le protocole de notre étude bénéficiant par ailleurs de l'aval du comité d'éthique d'expérimentation animale de la région Rhône-Alpes. Nos travaux ont porté uniquement sur l'exploration du genou gauche, sain, des animaux.

A l'instar de l'étude précédente, les rats sont anesthésiés en utilisant un système d'inhalation approprié (équipements vétérinaires Minerve, Esternay, France) fonctionnant avec un mélange gazeux : 30 % d'oxygène avec une concentration de 4 % d'isoflurane (laboratoire Belamont, Boulogne-Billancourt, France). Les rats sont placés en boîte d'induction, le flux du mélange anesthésique étant réglé à 1 litre par minute.

Après endormissement complet de l'animal, une antenne radiofréquence spécifiquement développée par l'équipe lyonnaise partenaire (Creatis-LRMN, UMR 5220 CNRS, Villeurbanne, France) est mise en place autour du genou à explorer (figure 14 de l'étude précédente) [Rengle *et coll.*, 2007]. La patte est disposée en extension à l'aide de ruban adhésif médical afin de limiter au maximum d'éventuels artefacts de mouvements sur les IRM recueillies. Les rats sont maintenus anesthésiés à l'isoflurane (2,7 % à 1 litre/min) durant toutes les procédures de préparation et d'imagerie par l'emploi d'un masque facial. Le rat est allongé en décubitus dorsal sur un lit chauffant, celui-ci étant disposé précisément au centre de l'aimant. Les paramètres physiologiques de l'animal (température et rythme respiratoire) sont contrôlés durant toute la durée des acquisitions IRM.

Nous avons défini quatre groupes de rongeurs correspondant à quatre temps exploratoires différents, pour évaluer les modifications du cartilage liées à l'âge des animaux :

- groupe A : rats jeunes, âgés de 5 semaines (175g, n=7 genoux),
- groupe B : rats juvéniles, âgés de 7 semaines (240g, n=17 genoux),
- groupe C : rats adultes, âgés de 9 semaines (325g, n=14 genoux),
- groupe D : rats matures, âgés de 13 semaines (415g, n=14 genoux).

2.2 Protocole IRM

Chaque animal a été scanné pendant 45 minutes avec l'imageur Biospec de 7 Teslas (Bruker, Ettlingen, Allemagne) de la plateforme *Animage*. Nous avons réutilisé la séquence d'acquisition mise au point lors de nos travaux précédents :

Séquence :	3D Gradient Echo Fast Imaging (GEFI), pondération T1, suppression du signal de la graisse
Temps de Répétition (TR) :	50 ms
Temps d'Echo (TE) :	3,6 ms
Angle de bascule :	25 °
Champ de vue :	26 x 26 mm
Matrice d'acquisition :	512 x 512 pixels
Résolution dans le plan :	51 x 51 µm
Épaisseur de coupe :	94 µm
Nombre de coupes :	128 coupes jointives
Durée d'acquisition :	45 minutes

Une séquence de repérage (*Rapid Acquisition with Relaxation Enhanced (RARE)*) est préalablement réalisée afin de contrôler la position adéquate du genou au sein de l'antenne radiofréquence et pour caler les coupes 3D GEFI haute résolution orthogonalement au plan de flexion antéropostérieur du genou [Glaser *et coll.*, 2003]. Nous avons choisi une reconstruction des données dans le plan sagittal car cette orientation autorise une meilleure visualisation de l'ensemble des compartiments cartilagineux tout en diminuant les effets de volumes partiels [Bydder *et coll.*, 2007]. L'intégralité du genou est couverte par l'acquisition volumique choisie.

2.3 Analyse des IRM

2.3.1 Mesure de l'interligne articulaire

La mesure de l'interligne articulaire constitue la quantification de l'espace séparant l'os tibial de l'os fémoral. Cette distance, regroupant les épaisseurs des 2 surfaces cartilagineuses en présence, représente l'examen de référence en radiologie dans le contexte des arthropathies. Ainsi, nous avons développé une interface graphique (figure 16) au sein de l'environnement de programmation Matlab (Mathworks Inc, Natick, Massachusetts) qui permet à l'utilisateur de réaliser cette mesure d'interligne. Pour ce faire, les piles d'IRM 3D ont été reformatées dans le plan frontal afin de choisir les deux coupes sagittales correspondant au milieu des deux zones portantes de l'articulation fémoro-tibiale. Sur chacune de ces deux coupes, l'utilisateur mesure ensuite l'interligne articulaire en traçant une ligne reliant les interfaces cartilage / os sous-chondral des versants fémoral et tibial. La taille de cette ligne est ensuite multipliée par la dimension isotropique du pixel afin d'obtenir la mesure réelle de l'interligne articulaire, représentant de ce fait l'épaisseur cumulée des cartilages fémoral et tibial en zones portantes.

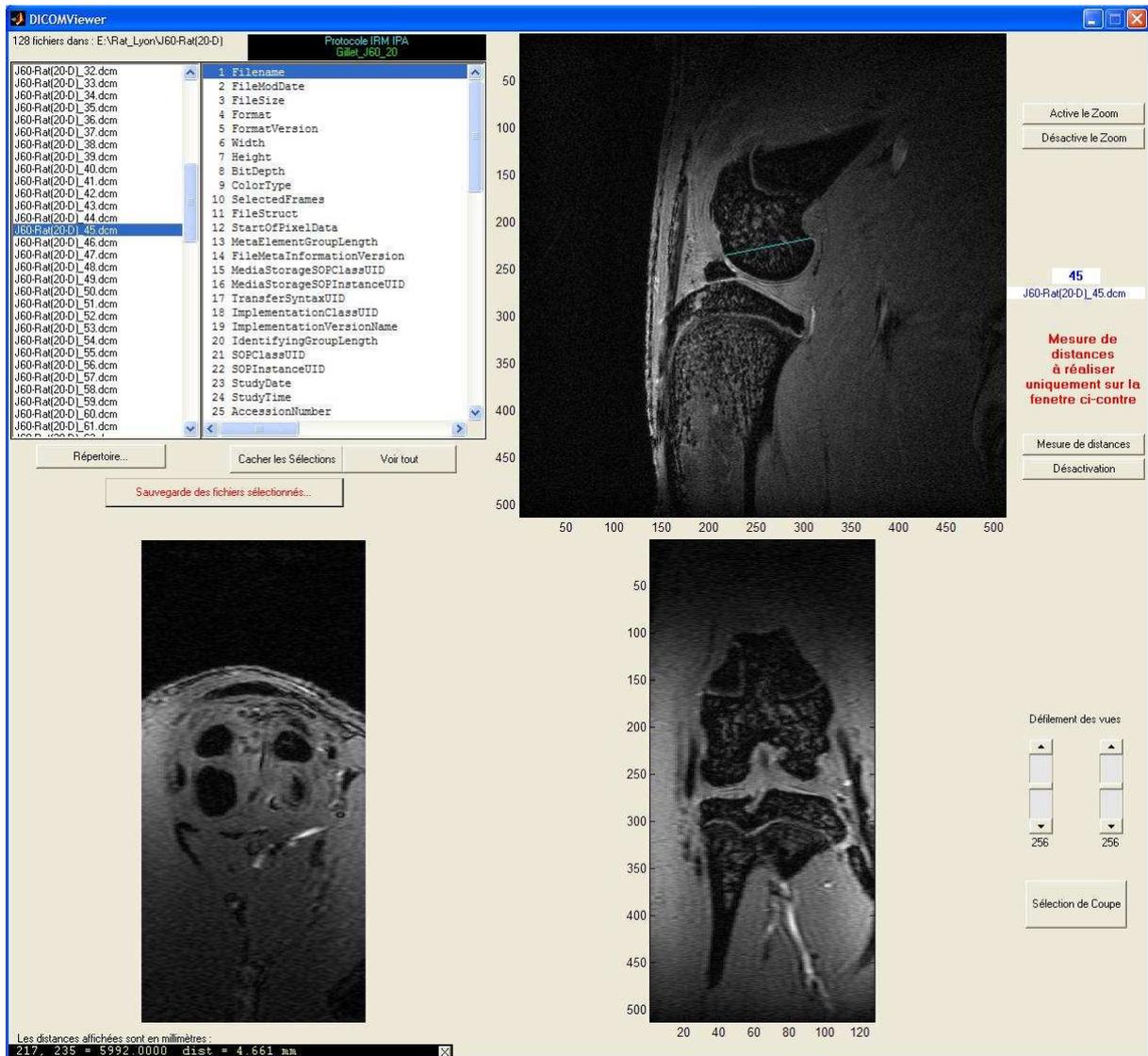


Figure 16. Capture d'écran de l'interface développée grâce à l'environnement de programmation MATLAB®. Les IRM 3D sont reformatées dans les plans axial et frontal afin de permettre la sélection des deux coupes sagittales originales passant par le milieu des zones portantes médiale et latérale du genou. Sur chacune de ces deux coupes, l'interligne articulaire est alors mesuré en traçant une ligne reliant les interfaces cartilage / os sous-chondral des compartiments fémoral et tibial.

Source : Goebel JC et coll., interface graphique développée en interne dans l'environnement MATLAB®.

2.3.2 Segmentation et calcul du volume cartilagineux fémoro-tibial

Les piles d'images recueillies après reconstruction des données IRM nous permettent de déterminer les volumes du cartilage articulaire correspondant aux compartiments fémoral (intégralité du condyle) et tibiaux (plateaux médial et latéral). Pour ce faire, nous utilisons un écran tactile de taille 1280 x 1024 pixels (Interactive Pen Display PL-720, Wacom Europe GmbH, Allemagne) [McWalter *et coll.*, 2005]. L'utilisateur segmente le cartilage articulaire en traçant directement, à l'aide d'un stylet dédié, les contours de chaque compartiment sur la surface de l'écran tactile. L'emploi du couple stylet / écran permet un tracé manuel plus naturel et plus rigoureux des contours cartilagineux, induisant ainsi une plus grande fiabilité de la segmentation. Ces étapes de tracé manuel ainsi que de traitements d'image consécutifs sont réalisées au sein du logiciel AMIRA (Amira 4.1, Mercury Computer Systems SAS, France) réputé pour son ergonomie et sa facilité d'utilisation. Ainsi, nous avons segmenté le

cartilage articulaire sur chacune des coupes IRM où les bordures du cartilage sont identifiables de manière non-équivoque. Les coupes médiales et latérales extrêmes du genou ont ainsi été volontairement omises de la procédure de segmentation puisqu'elles sont le siège d'effets de volume partiel pouvant biaiser la quantification volumique du cartilage. Chaque zone segmentée est ensuite assignée au compartiment cartilagineux correspondant en utilisant un étiquetage (*label* en anglais) codé selon une échelle de couleur.

La procédure de segmentation de l'ensemble des 52 genoux a été réalisée après une période de familiarisation et d'entraînement à la technique, et en aveugle vis-à-vis des identifiants des animaux. Le temps mis pour segmenter manuellement l'ensemble des coupes comprenant effectivement des zones de cartilage articulaire était de 4 à 5 heures par genou. Lors de nos précédents travaux [Goebel *et coll.*, in press], nous avons montré une erreur de précision inter-utilisateur de l'ordre de 6 à 9 %, alors que les données intra-utilisateur variaient de 2 à 3 % selon les compartiments cartilagineux considérés. Ces dernières valeurs sont comparables à celles retrouvées dans des études volumétriques du cartilage articulaire chez l'Homme [Eckstein *et coll.*, 2006c], et sont le gage d'une certaine rigueur de nos mesures.

A partir des masques de segmentation, une procédure d'intégration est lancée afin de comptabiliser chaque voxel labellisé, et délivrant ainsi le volume des trois compartiments cartilagineux en multipliant le nombre de voxels par leur taille réelle. Une visualisation tridimensionnelle est également possible grâce aux outils de rendu volumique du logiciel AMIRA (figure 14.C de l'étude précédente).

Enfin, de manière à limiter les modifications volumétriques liées à l'augmentation de la taille des animaux, nous déterminons le volume normalisé du cartilage articulaire en divisant le volume du cartilage par l'aire de la surface osseuse [Ding *et coll.*, 2008a; Hunter *et coll.*, 2008]. Celle-ci a été mesurée en reformatant les IRM dans le plan axial et en segmentant la zone osseuse du tibia (section diaphysaire) située juste au dessus du cartilage de conjugaison.

2.3.3 Calcul des épaisseurs moyennes du cartilage en zones portantes

Après l'étape de segmentation, les masques labellisés nous ont également servi pour le calcul des épaisseurs moyennes du cartilage articulaire en zones portantes.

Dans cette optique, nous avons développé un outil dans l'environnement de programmation Matlab® qui permet de générer, dans un premier temps, la carte des distance euclidiennes des masques de segmentation [Stammberger *et coll.*, 1999a]. La carte des distances euclidiennes est une opération numérique appliquée sur une image binaire (masque) : pour chaque pixel appartenant à un objet (le cartilage segmenté dans notre cas), la transformée des distances lui attribue une valeur numérique qui correspond à la distance du pixel considéré au pixel le plus proche n'appartenant pas à l'objet (fond du masque binaire). Dans un second temps, nous procédons à l'extraction du squelette de chaque objet du masque et réalisons alors la fusion de la carte des distances avec le squelette correspondant [Danielsson, 1980; Loncaric, 1998]. Cette opération a pour conséquence de ne conserver que les maxima locaux de la carte des distances, c'est-à-dire les épaisseurs maximales du cartilage articulaire en zones portantes. Ces valeurs obtenues sont finalement moyennées afin de délivrer une épaisseur moyenne des cartilages fémoraux et tibiaux, en zones portantes médiale et latérales (figure 17).

De la même manière, ces étapes ont été réalisées sur les masques issus de la segmentation du cartilage articulaire sur les coupes histologiques (cf. paragraphe suivant), afin de pouvoir confronter les épaisseurs moyennes relevées par IRM et en histologie. L'histologie faisant office de technique de référence, elle nous sert à valider les potentialités de l'IRM quant à la métrologie du cartilage articulaire au décours du processus de vieillissement chez le rat.

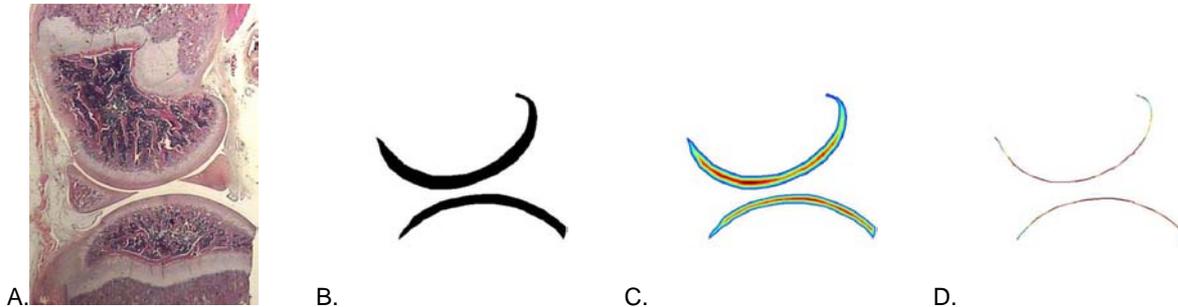


Figure 17. Processus de traitement d'image destiné à extraire les épaisseurs maximales du cartilage articulaire fémoral et tibial. A. Lame histologique sagittale de l'articulation fémoro-tibiale en zone portante (coloration HES). B. Masque binaire obtenu après segmentation des cartilages fémoral et tibial. C. Carte des distances euclidiennes réalisée à partir du masque binaire. D. Extraction des épaisseurs maximales du cartilage par fusion de la carte des distances avec le squelette du masque binaire.

Source : Goebel JC et coll., traitement d'image développé en interne dans l'environnement MATLAB®.

2.4 Analyse histologique

Immédiatement après l'examen IRM, les rats, restant sous l'effet de l'anesthésie, sont sacrifiés selon une méthode d'euthanasie reconnue (injection intracardiaque létale) et leurs genoux sont prélevés, fixés directement dans une solution de formol à 4 % pendant 48 heures, puis décalcifiés (Rapid Decalcifiant Osseux, Apex®, Canada). Les prélèvements sont ensuite automatiquement déshydratés par passages dans une série de bains alcooliques de titrage croissant pour finalement être inclus en blocs de paraffine. Deux coupes sagittales de 5 µm d'épaisseur sont réalisées au niveau des zones portantes médiale et latérale de chaque genou, puis montées sur lames de verre. Ces coupes histologiques sont localisées de manière à mettre en évidence les zones de contact articulaire fémoro-tibiales.

Afin de procéder à la mesure des épaisseurs du cartilage articulaire, les lames histologiques sont colorées à l'hématoxyline – érythrosine – safran (HES), photographiées à un grossissement x4 (loupe binoculaire couplée à une caméra numérique (WV-CL350, Panasonic, Japon)) et sauvegardées dans un format de compression d'image sans perte (.tiff, *Tagged Image File Format*) en employant une station de travail dédiée (Indy, Silicon Graphics, Mountain View, Californie). Ces images colorées en HES ont ensuite été soumises à une étape de segmentation manuelle des cartilages articulaires fémoral et tibial, à l'instar du processus appliqué pour les IRM (figure 17).

En dépit de la grande attention portée dans chacune des étapes des manipulations histologiques, nous ne pouvons pas garantir une absolue correspondance entre les lames histologiques collectées et les IRM choisies en zones portantes. Cependant, les mesures des épaisseurs moyennes du cartilage ont été réalisées dans chaque compartiment cartilagineux avec un contrôle visuel entre les images issues de l'examen IRM et les coupes histologiques afin de limiter les biais apportés par des problèmes de segmentation.

2.5 Analyse statistique

La nomenclature anatomique utilisée dans cette présente étude correspond à une adaptation des guides proposés par l'OARSI (*Osteoarthritis Research Society International*) [Eckstein *et coll.*, 2006a]. Les données de la partie *Résultats* sont exprimées par une moyenne \pm un écart-type pour chacun des compartiments cartilagineux considérés. Le degré de significativité entre deux moyennes de groupes différents est évalué par une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de Tukey-Kramer. Les liens de corrélations existant entre les données IRM et histologiques sont déterminés selon une analyse de régression linéaire suivie du test de corrélation non-paramétrique de Spearman. Nous avons définis le degré de significativité des tests statistiques à $p=0,05$ (JMP Software 6.0, Statistical Discovery®, SAS). Cependant, le calcul du niveau de corrélation renseigne sur la force de liaison entre deux variables mais non sur leur degré de concordance [Bland *et coll.*, 1986b]. Ainsi, nous avons également opté pour le calcul du coefficient de corrélation intra-classes, plus robuste quant à l'analyse de la reproductibilité d'une méthode et l'estimation des variations méthodologiques et techniques [Bland *et coll.*, 1990; Pellis *et coll.*, 2003]. Afin de réellement s'intéresser au niveau de validité des mesures obtenues en IRM par rapport à celles de l'histologie, nous avons réalisé l'analyse dite de Bland-Altman [Bland *et coll.*, 1986a] qui permet de quantifier directement les différences qui peuvent exister entre une nouvelle méthodologie (IRM) et une technique de référence (histologie).

3 Résultats

3.1 Poids des animaux

Le poids des animaux est un paramètre important puisqu'il est le reflet de leur bon développement et représente un indicateur de leur bien être. Ainsi, au début de l'expérience, les rats âgés de 5 semaines pesaient en moyenne 170 grammes. Puis leur corpulence croissait en concordance avec les abaques de poids de référence de la souche choisie. A la fin de l'étude, les rats matures, âgés de 13 semaines, pesaient 410 grammes en moyenne, ce qui représente *in fine* un gain de 141 %. Les différences de poids de chaque groupe de rats atteignaient le niveau de significativité pour chacun des quatre temps exploratoires (figure 18 A).

3.2 Mesure de l'interligne articulaire en IRM

A l'instar de ce que l'on trouve communément chez l'Homme, l'interligne articulaire médial, mesuré à partir des IRM, est significativement plus épais que le versant latéral, et ce quelque soit le groupe d'âge considéré. De plus, nous avons également observé une diminution progressive de l'interligne articulaire, les valeurs à 9 et 13 semaines étant significativement inférieures à celles correspondant au groupe des jeunes rats (5 semaines) (figure 18.B).

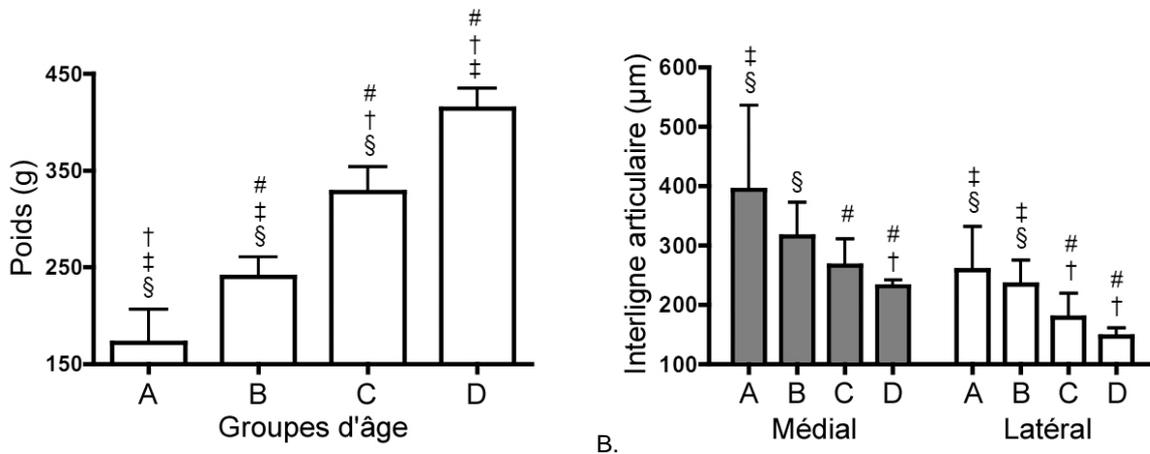


Figure 18. A. Histogramme représentant le poids moyen, exprimé en grammes, de chaque groupe d'animaux. B. Histogramme représentant l'interligne artriculaire moyen mesuré sur les IRM, au niveau des zones de contact articulaires fémoro-tibiales médiales et latérales.

Les symboles suivants indiquent un niveau de significativité à $p \leq 0,05$ par rapport aux groupes d'âge : # : groupe A, † : groupe B, ‡ : groupe C et § : groupe D.

D'autre part, en prenant en considération les données de manière individuelle, nous avons relevé une corrélation faible mais néanmoins significative entre la mesure de l'interligne artriculaire obtenue sur les IRM et la somme des épaisseurs moyennes fémorale et tibiale calculée en histologie ($r=0,24$, $p=0,01$ pour le versant médial ; $r=0,29$, $p=0,04$ pour le versant latéral). Enfin, il existe une corrélation inverse et significative ($p<0,0001$) entre la mesure de l'interligne artriculaire et le poids des animaux ($r=-0,54$ et $-0,64$ respectivement pour les versants médial et latéral).

3.3 Epaisseur du cartilage mesurée sur lames histologiques

Concernant les compartiments médiaux, les épaisseurs moyennes initiales (5 semaines) des cartilages fémoral et tibial étaient conséquentes (250 et 193 μm respectivement) et plus importantes que sur le versant latéral (241 et 178 μm respectivement). Succède alors une diminution notable d'épaisseur au décours des autres temps de l'expérience avec des pertes de 39, 49 et 58 % pour le cartilage fémoral et 29, 32 et 41 % pour le cartilage tibial respectivement pour les temps à 7, 9 et 13 semaines.

Concernant le versant latéral, le cartilage fémoral est plus touché, puisqu'il perd successivement 41, 54 et 55 % de son épaisseur au cours des temps de l'expérience, alors que le compartiment tibial s'amincit de 13 % à 7 semaines, puis se stabilise à -33 % à 9 et 13 semaines (figure 19.A).

3.4 Epaisseur du cartilage mesurée en IRM

Dans les compartiments médiaux, nous observons une diminution progressive significative de l'épaisseur du cartilage fémoral au décours de l'expérience, pour atteindre une perte de 31 % à 13 semaines. *A contrario*, l'épaisseur moyenne du plateau tibial reste, quant à elle, relativement stable quelque soit le stade de vieillissement des rats.

Sur le versant latéral, ce sont les épaisseurs des cartilages fémoral et tibial qui diminuent significativement au cours du temps. En effet, nous remarquons des pertes de 31 et 25 % à 13 semaines pour le fémur et le tibia respectivement (figure 19.B).

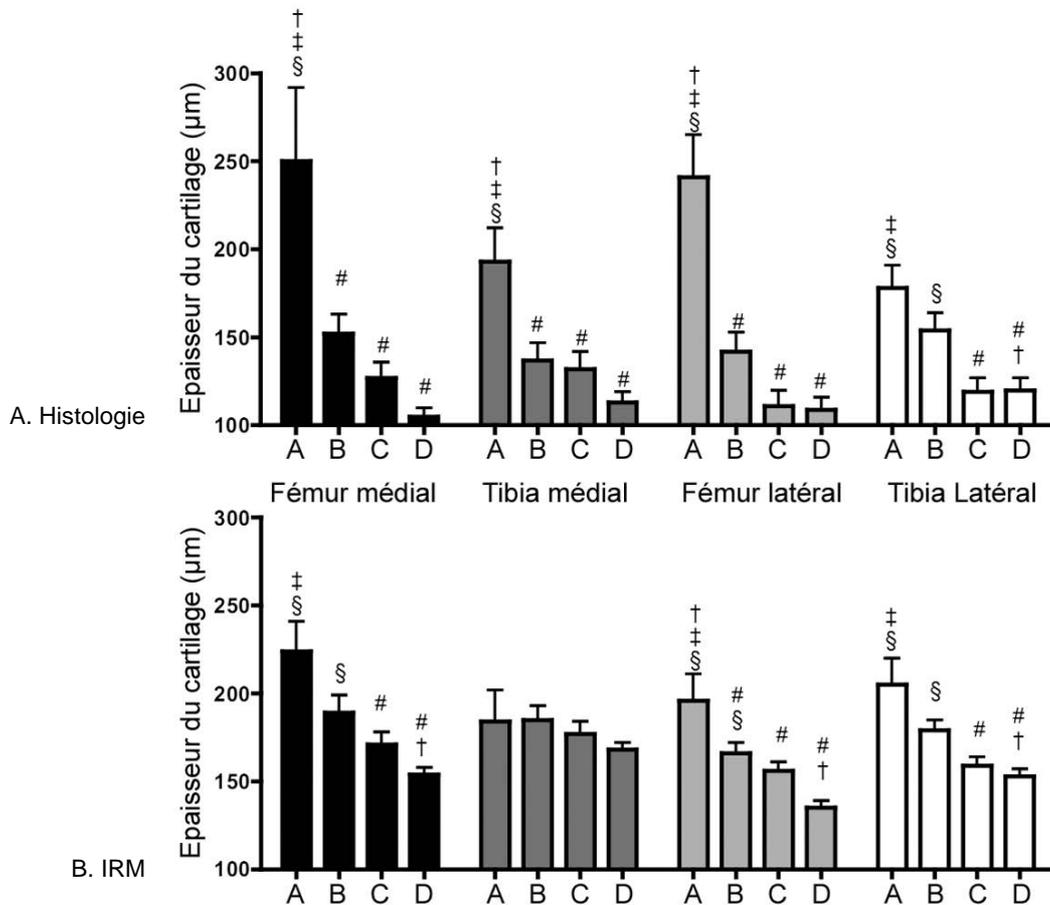


Figure 19. Histogrammes représentant les épaisseurs moyennes du cartilage artriculaire, en zones portantes médiale et latérale, mesurées en histologie (A) et en IRM (B).

Les symboles suivants indiquent un niveau de significativité à $p \leq 0,05$ par rapport aux groupes d'âge : # : groupe A, † : groupe B, ‡ : groupe C et § : groupe D.

En se focalisant sur les valeurs individuelles, sans tenir compte de la répartition selon les 4 groupes d'âge, nous observons de bons niveaux de corrélation entre les épaisseurs moyennes du cartilage mesurées en IRM ou en histologie. Ainsi, nous relevons :

- pour le fémur médial : $r=0,65$, $p<0,0001$,
- pour le tibia médial : $r=0,65$, $p=0,003$,
- pour le fémur latéral : $r=0,74$, $p=0,0001$,
- pour le tibia latéral : $r=0,48$, $p=0,003$.

Néanmoins, les meilleures corrélations sont contenues dans le groupe de rats adultes, c'est-à-dire les animaux âgés de 9 semaines, et particulièrement pour le compartiment fémoral médial. A 13 semaines, les degrés de corrélations sont moindres du fait de l'amincissement notable du cartilage (quelques pixels seulement sur les IRM) et de la difficulté pour segmenter le cartilage hyalin de l'os sous-chondral.

3.5 Concordance des mesures IRM / histologie

Du fait de l'effectif restreint de nos animaux dans chacun des groupes étudiés, nous avons choisi de rassembler toutes les mesures d'épaisseurs relevées en IRM et en histologie, ce qui nous conduit à comparer 181 paires de valeurs pour les versants médial et latéral de l'articulation fémoro-tibiale. De cette manière, nous avons pu calculer et représenter (figure 20.A) le coefficient de corrélation de Pearson qui existe entre les sources de mesures. Ce coefficient de corrélation s'avère relativement bon, puisqu'il atteint la valeur de $r=0,62$, avec un degré de significativité $p<0,0001$.

D'un autre côté, l'analyse de la concordance des deux techniques selon l'approche de Bland et Altman révèle un biais systématique entre l'IRM et l'histologie. En effet, comme les différences sont calculées de la manière suivante :

$$(Épaisseur\ moyenne\ du\ cartilage)_{IRM} - (Épaisseur\ moyenne\ du\ cartilage)_{histologie} \quad Eq. 3$$

Nous pouvons conclure que l'IRM surestime, en moyenne de $32\ \mu\text{m}$, les épaisseurs relevées par la technique histologique. Sur la représentation graphique (figure 20.B), les limites tracées en pointillés représentent la gamme de concordance (95 %) entre les deux modalités d'imagerie. Nous pouvons observer un niveau de concordance relativement acceptable, compte tenu du fait que les limites sont élargies par la présence de points extrêmes, qui sont le reflet de la difficulté de caler les coupes histologiques par rapport à celles de l'IRM pour la mesure des épaisseurs cartilagineuses.

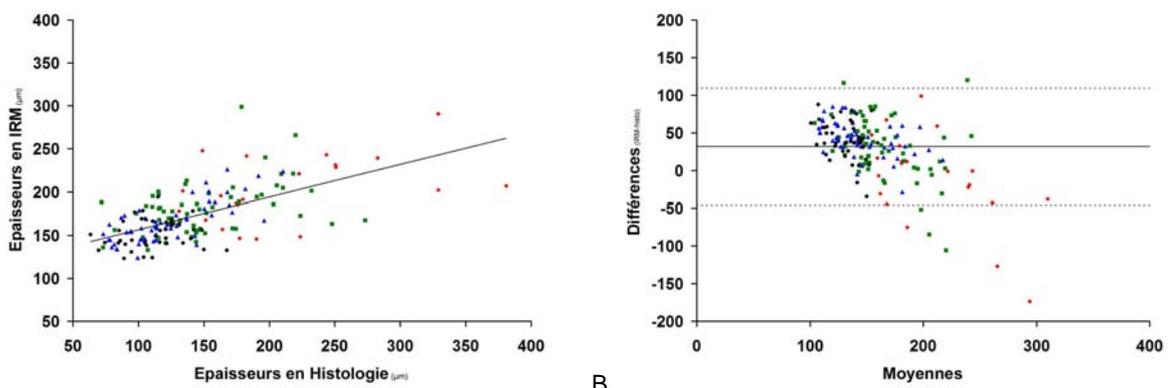


Figure 20. A. Graphe représentant la corrélation ($r=0,62$; $p<0,0001$) existant entre les mesures d'épaisseur de cartilage articulaire relevées en histologie et en IRM. B. Représentation selon la méthode Bland-Altman de la concordance des mesures histologiques / IRM : le biais (ligne continue) indique une surestimation moyenne de $32\ \mu\text{m}$ des mesures relevées en IRM par rapport à celles obtenues en histologie.

Les groupes d'âge sont codés selon le code couleur suivant :

- ◆ groupe A, ■ 07 groupe B, ▲ groupe C et ● groupe D.

3.6 Volumétrie du cartilage fémoro-tibial

L'étude volumétrique du cartilage articulaire montre une diminution légère et progressive dans chacun des trois compartiments fémoro-tibiaux (figure 21.A). Cette perte relative de substance chondrale est cependant plus prononcée et significative au niveau du fémur, puisque le déficit s'élève à 33 % à 13 semaines, alors qu'il n'est que de 18 % au niveau du compartiment tibial médial. En revanche, malgré une tendance à la diminution, aucun changement significatif du point de vue statistique n'est observé pour le cartilage tibial latéral.

La relative stabilité du volume de cartilage présent au sein de l'articulation fémoro-tibial peut s'expliquer en partie par la prise de poids, et donc l'augmentation de la taille des articulations des animaux lors du processus de maturation. En effet, nous observons des corrélations inverses et significatives entre le poids des animaux et le volume cartilagineux :

- pour le compartiment fémoral : $r=-0,42$, $p=0,002$,
- pour le compartiment tibial médial : $r=-0,32$, $p=0,004$,
- pour le compartiment tibial latéral : $r=-0,28$, $p=0,015$.

Par contre, lorsque nous normalisons le volume du cartilage tibial par l'aire osseuse correspondante (figure 21.B), nous observons une diminution significative des deux rapports tibiaux, les valeurs obtenues à 9 et 13 semaines étant significativement inférieures à celles de la 5^{ème} semaine ($p<0,05$).

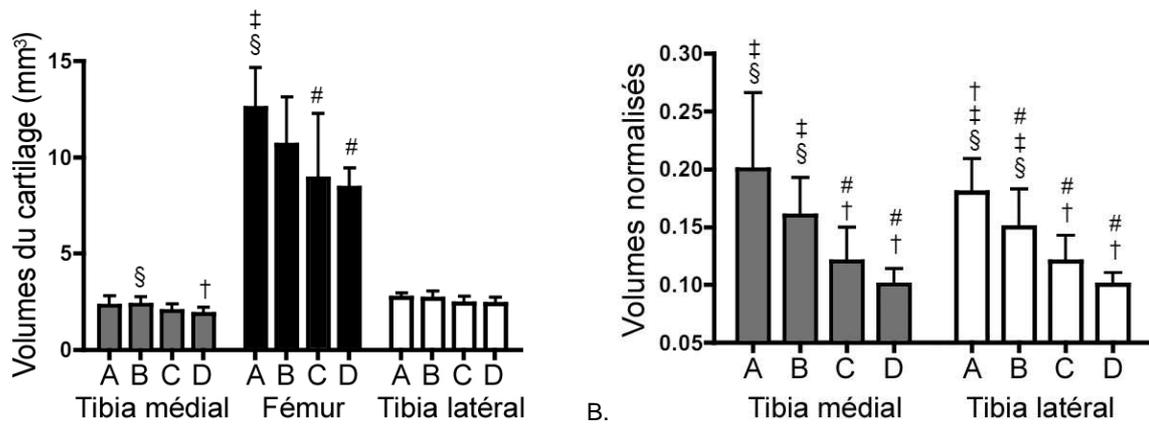


Figure 21. A. Histogramme représentant le volume de chaque compartiment cartilagineux en fonction des groupes d'animaux. B. Histogramme représentant le 'volume normalisé' des cartilages tibiaux pour chaque groupe d'âge : il s'agit en réalité des rapports (Volume cartilagineux du plateau tibial) / (Aire osseuse du plateau tibial) qui permettent de standardiser les données volumiques du cartilage par rapport à une référence interne à chaque animal.

Les symboles suivants indiquent un niveau de significativité à $p \leq 0,05$ par rapport aux groupes d'âge : # : groupe A, † : groupe B, ‡ : groupe C et § : groupe D.

4 Discussion

Gardant en mémoire que cette étude fut menée pour déterminer l'influence de l'âge sur le cartilage fémoro-tibial, et que nos travaux ultérieurs se focalisent sur l'analyse *in vivo* d'un modèle d'arthrose expérimentale, il nous a semblé opportun d'apporter quelques précisions quant au choix de l'espèce animale utilisée dans nos présents travaux.

Au vu de la multiplicité des modèles expérimentaux disponibles dans le champ d'étude des arthropathies [Ameye *et coll.*, 2006], il semble nécessaire de proposer un consensus visant à sélectionner un, voire plusieurs, modèles animaux caractéristiques de l'arthrose. Il est communément admis que d'importantes différences existent en termes de réponse thérapeutique selon l'âge des animaux, et selon le modèle expérimental choisi (modèle de pathologie spontanée, modèle induit par chirurgie). Cette réflexion suggère que tous les modèles animaux ne sont pas forcément les mieux adaptés à l'étude la pathologie arthrosique. Les modèles d'arthrose induits chirurgicalement chez le rat représentent un bon compromis pour le criblage de solutions thérapeutiques médicamenteuses, puisque leurs déroulement et reproductibilité sont plus rapides et robustes vis-à-vis des modèles d'arthrose spontanée chez la souris, le rat ou le cochon d'Inde [Ameye *et coll.*, 2006].

Dans notre étude, le choix de la souche Wistar a ainsi été motivé par les précédentes considérations, mais aussi par son prix réduit et surtout par le fait que l'animal étant de petite taille, il nécessitera une quantité moindre de produits pharmaceutiques chondroprotecteurs par rapport à de plus grands animaux. D'autre part, comme la plupart des études pharmacologiques sont réalisées sur des rats en pleine phase de croissance (175 g), notre présent travail propose précisément de caractériser, par IRM, l'influence de la maturation et du vieillissement, au niveau de l'articulation fémoro-tibiale. En effet, la maturation suivie du déclin ancillaire de l'épaisseur cartilagineuse en fonction de l'âge représentent un biais non négligeable pour les études d'arthropathies chez le rat, les mesures d'interligne articulaire et de volume cartilagineux étant, à l'heure actuelle, les méthodes de références.

L'état de l'art actuel suggère que deux nouvelles modalités peuvent être employées afin d'investiguer de manière non-invasive les dommages ostéochondraux liés à l'âge et/ou à la pathologie chez le petit rongeur. Il s'agit du micro-scanner [Roemer *et coll.*, 2005; Appleton *et coll.*, 2007] et de l'IRM haute résolution [Bolbos *et coll.*, 2007]. En dépit de leurs caractéristiques séduisantes, la tomographie de cohérence optique [Adams *et coll.*, 2006] ainsi que l'échographie ultrasonore [Saied *et coll.*, 2004] demeurent des technologies invasives par nature dans le contexte ostéochondral, nécessitant une approche arthroscopique pour l'exploration du cartilage dégénératif [Patel *et coll.*, 2005].

Bien que l'IRM et le micro-scanner se révèlent complémentaires [Proulx *et coll.*, 2007], nous avons opté, au sein de notre laboratoire, pour l'approche IRM du fait de sa pertinence clinique. En effet, de nombreuses études IRM longitudinales ont été menées en clinique afin de quantifier les variations du cartilage au cours de la maladie arthrosique, et sont à l'origine d'une multiplicité de résultats [Blumenkrantz *et coll.*, 2007]. Néanmoins, il est clairement établi, tant sur le plan clinique qu'expérimental, que la volumétrie du cartilage articulaire par IRM permet la quantification longitudinale des pertes cartilagineuses dans l'arthrose, et établit des liens entre ces pertes de substances chondrales et les changements dégénératifs ayant cours dans d'autres tissus de l'articulation.

Afin de mener à bien cette étude, plusieurs mises au point se sont révélées nécessaires, à savoir :

- la conception d'une antenne radiofréquence dédiée à la diarthrose du genou de rat [Rengle *et coll.*, 2007],
- la programmation d'une séquence d'acquisition IRM optimisée à 7 Teslas [Beuf, 2004],
- la standardisation d'une méthode de segmentation du cartilage fémoro-tibial [Goebel *et coll.*, in press].

Nous avons opté pour une séquence d'acquisition autorisant une délimitation aisée du cartilage articulaire par rapport aux tissus avoisinants, de fait, il s'agit d'une séquence en écho de gradient, en pondération T1, avec suppression du signal de la graisse. Il est cependant intéressant de noter que ce type de séquence est relativement insensible aux œdèmes pouvant siéger au sein de la moelle osseuse [Peterfy *et coll.*, 2006].

A l'heure actuelle, aucune solution technique n'offre une méthode entièrement automatisée pour la segmentation du cartilage articulaire, puisque les variations de contraste entre le cartilage et les tissus le jouxtant ne sont pas suffisamment prononcées, notamment dans le groupe des rats matures. La procédure de segmentation demeure ainsi extrêmement consommatrice en temps, puisqu'une durée de 4 à 5 heures par genou est nécessaire pour un opérateur expérimenté. Dans notre présente étude, le cartilage articulaire a été segmenté

coupe par coupe et entièrement manuellement, car les outils semi-automatiques proposés avec le logiciel Amira® ne sont pas adaptés à ce type de données. En effet, ils fournissent des résultats moins bons vis-à-vis de la segmentation manuelle en termes de concordance avec les relevés histologiques. *In fine*, le volume du cartilage articulaire est calculé en sommant la quantité de voxels des régions segmentées, et l'épaisseur cartilagineuse, quant à elle, est déterminée en utilisant la transformée euclidienne des distances [Stamberger *et coll.*, 1999a]. De cette manière, nos reproductibilités inter- et intra-observateurs sont en concordance avec les gammes retrouvées au niveau des études cliniques publiées, variant de 1 à 9 % [Eckstein *et coll.*, 2006c].

Tenant compte de ces réflexions, nos résultats confirment que l'IRM est capable de suivre les valeurs d'épaisseurs moyennes du cartilage de l'articulation fémoro-tibiale chez le rat sain âgé de 5 à 13 semaines. La maturation de l'articulation est un processus complexe puisqu'elle implique de nombreux facteurs :

- mise en place de l'organisation du réseau des fibres collagéniques,
- contrôle de la densité cellulaire,
- adaptation de l'épaisseur du cartilage face aux contraintes biomécaniques,
- régulation de la balance anabolisme / catabolisme des protéines matricielles.

La réduction du cartilage articulaire est initialement attribuée au fait que la couche profonde est partiellement remplacée par un tissu osseux, particulièrement durant la croissance (ossification enchondrale). Puis, une réduction de l'activité chondrocytaire apparaît avec l'âge [Oda *et coll.*, 2007], notamment dans la zone profonde du cartilage. De plus, il a été montré qu'une réorganisation progressive de l'architecture pluristratifiée juvénile intervient lors de la maturation du cartilage pour laisser place à l'organisation arquée caractéristique du réseau collagénique mature [Grunder, 2006]. Nous avons observé une diminution notable suivie d'une relative stabilité dans l'épaisseur du cartilage fémoro-tibial, ces résultats semblent concorder avec des travaux antérieurs réalisés *ex vivo* sur des rotules de rat [Watrin *et coll.*, 2001]. En effet, notre équipe avait montré des modifications qualitatives et quantitatives liées à l'âge selon une méthode de cartographie des valeurs de T2 du cartilage articulaire (études menées sur un IRM expérimental de 8,5 Teslas). Les épaisseurs du cartilage articulaire mesurées chez les rats jeunes et adultes sont bien corrélées avec les valeurs obtenues en histologie. La force du lien de corrélation était moindre dans le groupe des animaux mature, dans lequel les mesures obtenues en IRM surestiment les épaisseurs relevées en histologie.

L'étude de la bibliographie relative à notre présent champ disciplinaire montre que ces travaux constituent la première étude *in vivo*, réellement en trois dimensions, du cartilage fémoro-tibial sain, selon une approche volumétrique et de mesures d'épaisseur, durant le processus de maturation chez le rat. Jusqu'à présent, aucune autre étude publiée ne s'est focalisée sur la quantification volumique par IRM du cartilage chez le petit rongeur. Les précédents papiers relatifs à l'analyse IRM du genou de rat ont été réalisées *ex vivo* dans des modèles d'arthrose induite biochimiquement [Watrin-Pinzano *et coll.*, 2005] ou par méthodes chirurgicales [Spandonis *et coll.*, 2004]. De plus, quatre études IRM *in vivo* ont été réalisées chez le rat à 2 [Simon *et coll.*, 2006a; Simon *et coll.*, 2006b; Saborowski *et coll.*, 2007] et 4,7 Teslas [Beckmann *et coll.*, 2003], dans le cadre d'un modèle de mono-arthrite induite par antigène, et portant leur attention sur l'utilisation de différent agents de contraste paramagnétiques destinés évaluer le degré d'inflammation de la membrane synoviale.

Limitations de notre étude.

Confrontations IRM / histologie.

Nous avons rencontré quelques difficultés quant à la confrontation des épaisseurs du cartilage relevées en IRM avec celles obtenues en histologie. En effet, les mesures IRM, et notamment les calculs de cartographie de distances, tiennent compte de toute la pile des images et sont donc effectuées en 3D. Dans le cas des lames histologiques, l'épaisseur du cartilage est calculée sur une seule coupe sagittale, que nous avons choisie orthogonale à l'axe de flexion antéro-postérieur du genou et au centre des zones portantes. Ces mesures histologiques sont le reflet d'une cartographie de distances 2D, et l'orientation initiale de la coupe histologique peut se trouver influencée par la préparation de l'échantillon. Afin de réduire au maximum ce biais, nous avons porté une grande attention au débitage et au montage de l'échantillon. Pour ce faire, les genoux des rats ont été divisés en deux parts égales selon une coupe sagittale médiane qui tient compte de l'orientation et de la forme anatomique de chaque prélèvement. De cette manière, les correspondances entre IRM et lames histologiques se retrouvent améliorées, offrant ainsi des niveaux de corrélations satisfaisants entre les deux méthodologies.

Dans le cas de figure de mesures ponctuelles, tel l'interligne articulaire, les corrélations sont plus faibles, car un paramètre supplémentaire peut intervenir : il s'agit de l'épaisseur des coupes IRM et histologiques. En effet, les IRM font 94 μm d'épaisseur alors que les lames histologiques n'en font que 5. L'épaisseur plus élevée des IRM peut alors avoir un effet de moyennage ou lissage (effet de volume partiel) de variations focales et discrètes observables plus finement en histologie. Enfin, nous avons remarqué que l'IRM quantitatif surestimait les valeurs d'épaisseur obtenues en histologie. Cette observation peut trouver une origine dans le fait que la morphologie du cartilage peut se voir altérée par les protocoles d'histologie, notamment les étapes de déshydratation et de coupe [Cole, 1984; Faure *et coll.*, 2003], mais aussi par la procédure de segmentation. En effet, selon nos constatations, il est plus courant d'exclure la partie profonde, calcifiée, du cartilage articulaire sur les IRM que sur les lames histologiques, du fait de sa meilleure délimitation par la coloration HES. Il est cependant à noter que la surestimation des épaisseurs par l'IRM, étant de 32 μm , est inférieure à la taille isométrique des pixels (51 μm). L'emploi d'une plus forte résolution spatiale permettrait d'obtenir un nombre plus conséquent de pixels pour caractériser l'épaisseur du cartilage, mais cela ne se ferait pas sans allonger d'une manière non négligeable la durée de l'acquisition, à plus forte raison si l'on souhaite conserver un rapport S/B satisfaisant.

Maturation du cartilage.

La décroissance progressive de l'épaisseur du cartilage articulaire chez les rats jeunes (5 et 7 semaines), adultes (9 semaines) et matures (13 semaines) représente un biais protopathique dans l'évaluation expérimentale de l'arthrose, où la mesure de l'interligne articulaire constitue encore, à l'heure actuelle, l'examen de référence. D'un autre côté, le volume du cartilage reste, quant à lui, relativement stable en raison de l'augmentation concomitante de la taille des animaux. Le fait d'utiliser une méthode de normalisation du volume cartilagineux à des références internes, telle l'aire osseuse de l'hémi-articulation concernée, peut aider à augmenter le pouvoir discriminatoire de la mesure volumétrique [Glaser *et coll.*, 2003]. En effet, lorsque nous réalisons une normalisation par rapport à l'aire osseuse des plateaux tibiaux [Wluka *et coll.*, 2002], nous notons une diminution initiale brutale du volume cartilagineux des plateaux tibiaux entre les groupes de rats jeunes et juvéniles, puis ces rapports restent relativement stables dans les groupes adultes et matures. D'autre part, il serait intéressant de réaliser cette méthode de normalisation au niveau du compartiment fémoral, mais ceci

nécessite une réflexion plus approfondie pour prendre en considération la géométrie complexe du condyle osseux. Une voie pertinente serait d'obtenir le volume de l'épiphyse fémoral en se servant de la limite anatomique constituée par le cartilage de croissance, toujours présent dans un genou chez le rat. Par ailleurs, dans le contexte du suivi IRM de l'arthrose chez l'Homme, d'autres équipes ont développé des méthodes informatiques de fusion et soustraction de cartographies d'épaisseur [Boileau *et coll.*, 2008] qui permettent de suivre le déclin du cartilage, en chaque voxel, par rapport aux données initiales. De tels outils constitueraient, dans notre cas aussi, une méthode élégante de quantification et de visualisation 3D des variations du cartilage articulaire au cours du processus de maturation.

Dans l'étude morphométrique du cartilage articulaire, nous retiendrons que pour limiter le biais lié à la croissance des animaux, il est nécessaire de :

- comparer des animaux strictement semblables du point de vue de l'âge et de la taille,
- normaliser les données volumiques par rapport à des références internes (aire et/ou volume osseux...).

5 Conclusion

Cette étude pilote a montré la possibilité de quantifier par IRM haut champ (7T) à haute résolution spatiale, et ce, pour la première fois, le volume et l'épaisseur du cartilage de l'articulation fémoro-tibiale *in vivo* chez le rat en phase de croissance. A l'instar d'études cliniques menées chez l'Homme, l'IRM 3D est de bon augure pour l'identification et la quantification longitudinale *in vivo* des modifications chondrales au sein de l'articulation du genou, d'autant plus que l'acuité de l'IRM, de plus en plus proche de la résolution histologique, limitera *in fine* le recours au sacrifice d'animaux.

D'autre part, l'acquisition tridimensionnelle autorise une mesure plus adaptée à l'étude du cartilage articulaire, puisque le volume ainsi acquis est insensible au positionnement de l'articulation au sein de l'IRM. En effet, dans le cas d'études cliniques longitudinales se focalisant sur la mesure de l'interligne articulaire ou de l'épaisseur du cartilage sur coupes 2D, il est absolument nécessaire de réaliser un positionnement standardisé et précis à chaque nouvel examen.

Enfin, il nous semble intéressant d'appliquer cette méthode à l'étude séquentielle d'un modèle d'arthrose expérimentale chez le rat, afin de confirmer la capacité de l'IRM à quantifier les pertes chondrales au cours du processus pathologique, offrant ainsi un outil de choix dans l'analyse atraumatique de futures solutions thérapeutiques à visée chondrorégénératrice.

**Etude in vivo par IRM à haut champ (7 Teslas) des
modifications articulaires au cours d'un modèle
expérimental d'arthrose chez le rat**



1 But

Le but du présent chapitre est de montrer l'intérêt de l'IRM quantitative *in vivo* dans le suivi séquentiel d'un modèle expérimental de gonarthrose chez le rat. Cette étude fait suite aux travaux d'investigation de la maturation physiologique du cartilage articulaire chez le petit animal. De la même manière, des relevés histologiques ont été réalisés afin de confronter les deux méthodologies d'imagerie.

2 Matériels et Méthodes

2.1 Animaux

2.1.1 Stabulation

Comme dans le cas de l'étude précédente, nous avons choisi 40 rats de la souche Wistar (laboratoires Charles River, L'Arbresle, France) pesant, en moyenne, 200 g au début de l'expérience. Les animaux sont hébergés au sein de cages en plastique transparent, sur lit de copeaux de bois. Les cages sont entreposées au sein de l'animalerie de la plateforme *Animage* (Bron, France) dans une pièce thermo- et hygro-régulée bénéficiant d'un cycle lumière / obscurité de 12h/12h. Les rats ont été nourris avec de la nourriture standardisée et avaient accès à l'eau à volonté. Les guides de bonnes pratiques relatifs à l'expérimentation animale ont été scrupuleusement suivis, le protocole de notre étude bénéficiant par ailleurs de l'aval du comité d'éthique d'expérimentation animale de la région Rhône-Alpes.

2.1.2 Section du ligament croisé antérieur

Notre étude portant sur le suivi séquentiel de l'arthrose du genou, nous avons opté pour la pratique d'un modèle d'arthrose mécanique induite par la section du ligament croisé antérieur. Ce modèle consiste en la création d'une anomalie de stabilité de l'articulation du genou qui, par friction lors de mouvements, engendre des forces mécaniques délétères pour le cartilage induisant ainsi la symptomatologie arthrosique.

La section du ligament croisé antérieur est une opération de chirurgie légère qui nécessite l'anesthésie des animaux. Celle-ci a été réalisée par l'emploi d'un dispositif d'inhalation homologué et adapté aux petits rongeurs (équipements vétérinaires Minerve, Esternay, France) fonctionnant avec un mélange gazeux : 30 % d'oxygène avec une concentration de 4 % d'isoflurane (laboratoire Belamont, Boulogne-Billancourt, France). Dans un premier temps, les rats sont placés en boîte d'induction, le flux du mélange anesthésique étant réglé à 1 L/min, afin d'endormir rapidement les animaux. Dans un second temps, les animaux sont placés, chacun à leur tour, sur un champ de chirurgie stérile en décubitus dorsal, tout en poursuivant l'anesthésie gazeuse par l'emploi d'un masque facial (isoflurane à 2,7 % à 1 L/min).

La procédure chirurgicale a été réalisée par un personnel formé et autorisé à de tels gestes. Seul le genou droit a été opéré, le genou gauche constituant le contrôle interne à chaque

animal. Les étapes nécessaires à la section du ligament croisé antérieur (sLCA) sont listées chronologiquement ci-dessous :

- légère épilation sur la face antérieure du genou,
- désinfection de la zone à opérer,
- ouverture du genou par incision médiane verticale,
- dégagement de la zone rotulienne,
- luxation de la rotule en la basculant précautionneusement sur son versant médial afin de permettre l'accès à l'articulation fémoro-tibiale,
- flexion du genou et mise en évidence du ligament croisé antérieur,
- section franche du ligament,
- vérification de la section par la présence d'un tiroir antéro-postérieur du genou,
- remise en place de la rotule, suture bi-plan, nettoyage de la plaie,
- réveil des animaux.

Après l'opération, les animaux sont replacés dans leur cage et contrôlés pendant 72 heures, le temps que les tissus cicatrisent. Le bien-être des animaux est suivi (fièvre, alimentation et prise de poids, récupération de la fonction de marche) jusqu'au retour à un état considéré comme étant le rétablissement complet. Afin de suivre le déroulement du processus arthrosique, nous avons choisi d'imager les animaux de manière séquentielle. Ainsi, nous avons formé 5 groupes d'animaux correspondant à 5 temps exploratoires, définis en nombre de jours écoulés depuis la sLCA :

- groupe A : 7 jours (n=8 rats, soit 8 genoux opérés et 8 genoux contrôles)
- groupe B : 14 jours (n=8 rats)
- groupe C : 28 jours (n=8 rats)
- groupe D : 42 jours (n=8 rats)
- groupe E : 56 jours (n=8 rats)

2.2 IRM quantitative et métrologie du cartilage

Les animaux sont explorés séquentiellement aux 5 temps exploratoires explicités précédemment. L'intégralité du protocole établi lors de nos précédents travaux a été reproduite pour chacune des acquisitions. Brièvement, nous plaçons l'antenne radiofréquence dédiée à l'imagerie du genou de rat alors que l'animal est anesthésié à l'isoflurane (2,7 % à 1 L/min) et placé en décubitus dorsal sur un lit chauffant. Les constantes physiologiques (température, rythme ventilatoire) de l'animal, reflet de son bien-être, sont monitorées tout au long des 45 minutes d'acquisition. Les paramètres implémentés sur l'interface de pilotage de l'imageur Biospec 7T (Bruker, Ettlingen, Allemagne) sont récapitulés ci-dessous :

	Séquence :	3D Gradient Echo Fast Imaging (GEFI), pondération T1, suppression du signal de la graisse
Temps de Répétition (TR) :		50 ms
Temps d'Echo (TE) :		3,6 ms
Angle de bascule :		25 °
Champ de vue :		26 x 26 mm
Matrice d'acquisition :		512 x 512 pixels
Résolution dans le plan :		51 x 51 µm
Épaisseur de coupe :		94 µm
Nombre de coupes :		128 coupes jointives
Durée d'acquisition :		45 minutes

Une séquence de repérage (RARE) est également réalisée afin de contrôler la position adéquate du genou au sein de l'antenne radiofréquence et pour paramétrer les coupes 3D GEFI haute résolution orthogonalement au plan de flexion antéropostérieur du genou [Glaser *et coll.*, 2003]. Nous avons également conservé la reconstruction des images dans le plan sagittal, puisque cette orientation nous permet une visualisation satisfaisante des compartiments cartilagineux fémoro-tibiaux [Bydder *et coll.*, 2007]. Enfin, il est à noter que nous avons imagé les genoux de chaque animal de manière consécutive.

Concernant les mesures quantitatives effectuées sur les IRM des 80 genoux, elles ont été les mêmes que dans notre précédent travail, à savoir :

- la mesure de l'interligne articulaire sur les versants médial et latéral de chaque genou,
- la segmentation et le calcul du volume de chaque compartiment cartilagineux de l'articulation fémoro-tibiale,
- la mesure de l'aire osseuse de chaque plateau tibial, destinée à la normalisation du volume des cartilages tibiaux ;
- le calcul des épaisseurs moyennes du cartilage articulaire en zone portante.

2.3 Procédures histologiques

2.3.1 Prélèvement des échantillons

Aussitôt l'examen IRM réalisé, les rats, toujours anesthésiés, sont sacrifiés selon une méthode d'euthanasie reconnue (injection intracardiaque létale), leurs genoux sont prélevés et fixés directement dans une solution de formol à 4 % pendant 48 heures, puis décalcifiés (Rapid Decalcifiant Osseux, Apex®, Canada). Les prélèvements sont ensuite automatiquement déshydratés par passages dans une série de bains alcooliques de titrage croissant pour finalement être inclus en blocs de paraffine. Des coupes sagittales de 5 µm d'épaisseur sont réalisées au niveau des zones portantes médiale et latérale de chaque genou, puis montées sur lames de verre afin de procéder à 3 colorations explicitées plus bas. Ces coupes histologiques sont localisées de manière à mesurer l'épaisseur moyenne du cartilage des zones de contact articulaire fémoro-tibial.

2.3.2 Colorations des lames

2.3.2.a *Hématoxyline – érythrosine – safran (HES)*

L'HES est une coloration qui permet d'étudier la morphologie des cellules du cartilage articulaire et de la membrane synoviale. Les lames sont colorées dans de l'hématoxyline 0,5 % pendant 5 minutes puis rincées dans l'eau. Les lames sont alors passées dans de l'alcool ammoniacal pendant 1 minute. L'alcool ammoniacal permet la différenciation chromatique du noyau par rapport au reste de la cellule. Les lames histologiques sont ensuite colorées dans un bain d'érythrosine aqueuse à 1 % pendant 5 minutes, afin de mettre en évidence les éléments acidophiles tel que le cytoplasme. Elles sont rincées, déshydratées par l'alcool 95° puis l'alcool absolu et enfin colorées dans une solution alcoolique de Safran à 1 % pendant 5

minutes. Les lames sont à nouveau déshydratées avant le montage des lamelles réalisé avec une résine synthétique.

Ce sont ces lames, colorées à l'HES, qui sont utilisées pour la mesure des épaisseurs du cartilage articulaire en zones portantes, et qui permettront la confrontation avec les données issues de l'IRM.

2.3.2.b *Bleu de Toluidine (BT)*

Le bleu de Toluidine est une coloration métachromatique utilisée pour la mise en évidence des glycosaminoglycannes sulfatés de la matrice du cartilage. La coloration au BT nécessite une incubation de 5 minutes dans une solution à 1 %. Les lames sont ensuite successivement plongées dans l'acétone et l'alcool absolu, puis déshydratées. Le montage des lames est réalisé avec une résine synthétique.

2.3.2.c *Rouge Sirius (RS)*

Le rouge Sirius est un colorant anionique du collagène. La réaction se produit entre les groupements sulfoniques du colorant et les groupements basiques présents sur les molécules de collagène [Constantine *et coll.*, 1968a]. La coloration RS est réalisée avec une solution saturée en acide picrique à 0,1 % [Junqueira *et coll.*, 1979]. Les lames sont alors rincées dans un bain d'acide chlorhydrique 0,01N pendant 2 minutes puis dans les alcools 95° et absolu pendant 2 minutes. Elles sont finalement déshydratées et montées avec une résine synthétique. Les lames colorées au RS sont, dans un premier temps, observées en lumière classique, puis en lumière polarisée (utilisation de filtres de polarisation spécifiques). En effet, la lumière polarisée permet la visualisation de l'architecture du réseau collagénique de la matrice cartilagineuse [Constantine *et coll.*, 1968b].

2.3.3 Scores histologiques et mesures d'épaisseur

L'ensemble des lames colorées est observé au microscope à différents grossissements (x10, x40) afin de qualifier le degré d'atteinte arthrosique de l'articulation fémoro-tibiale. Les lames colorées par l'HES sont également numérisées à un grossissement x4, les images résultantes étant ensuite soumises à la segmentation manuelle des cartilages articulaires fémoral et tibial, afin d'en déterminer les épaisseurs moyennes (cf. paragraphe 2.3.3 de l'étude précédente). L'analyse des variations et lésions de l'articulation du genou a été effectuée grâce à l'emploi d'une grille de score. Ce score est adapté des critères de Mankin [Mankin, 1982], tout en y ajoutant une partie spécifique au degré d'inflammation de la membrane synoviale [Rooney *et coll.*, 1989; Krenn *et coll.*, 2006]. Ci-dessous sont répertoriés les différents items du score utilisé :

- Cartilage articulaire :
 - structure de la surface et de la matrice (irrégularités de surface, fissures...)
 - répartition et aspect des cellules
 - état des chondrocytes hypertrophique (couche proliférative)
 - intégrité et architecture du réseau collagénique

- Membrane synoviale :
 - Nombre d'assises cellulaires
 - Sévérité de la fibrose et présence de dépôts de fibrine

- Hyperplasie de la membrane synoviale
- Angiogenèse
- Remaniements osseux :
 - Ostéoïdes, chondroïdes
 - Ostéolyse

2.3.4 Relevés effectués à partir des IRM

A partir des piles IRM et à l'instar de l'étude précédente, nous avons mesuré les interlignes articulaires médial et latéral, puis segmenté manuellement le cartilage de l'articulation fémoro-tibiale pour en déduire les épaisseurs moyennes en zones portantes, ainsi que les données volumiques.

2.4 Analyse statistique

Les données de la partie *Résultats* sont exprimées par une moyenne \pm un écart-type pour chacun des compartiments cartilagineux considérés. Le degré de significativité entre deux moyennes de groupes différents est évalué par une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test t de Student pour valeurs appariées. Les liens de corrélations existant entre les données IRM et histologiques sont déterminés selon une analyse de régression linéaire suivie du test de corrélation non-paramétrique de Spearman ; nous avons également effectué l'analyse Bland-Altman pour évaluer le degré de concordance des deux modalités. Concernant les scores histologiques, nous avons déterminé les différences existant entre les genoux contrôles et les genoux opérés, pour chaque temps de l'expérience. Nous avons définis le degré de significativité des tests statistiques à $p=0,05$ (JMP Software 6.0, Statistical Discovery®, SAS).

3 Résultats

3.1 Poids des animaux

Les courbes de poids des animaux utilisés lors de cette expérience sont similaires à celles observées lors de nos précédents travaux portant sur les rats sains, exception faite du poids initial moyen de 220 grammes, qui représente le délai entre l'induction de la pathologie (J0) et la date du premier examen IRM (J7). Au dernier temps exploratoire (J60), les animaux ont atteint un poids moyen de 423 grammes.

3.2 Symptomatologie et interligne articulaire

Lorsque nous nous intéressons à l'analyse visuelle des IRM (figure 22), celle-ci montre une effusion intense de la membrane synoviale et la présence d'un panus à 7 et 14 jours après la section du ligament croisé antérieur. Les temps tardifs (J40 et J60) révèlent, quant à eux, plutôt des répercussions osseuses, telles des remodelages épiphysaires. Néanmoins, aucune

hétérogénéité du signal RMN n'est observée, quelques soient les temps de l'expérience, au sein de l'os sous-chondral.

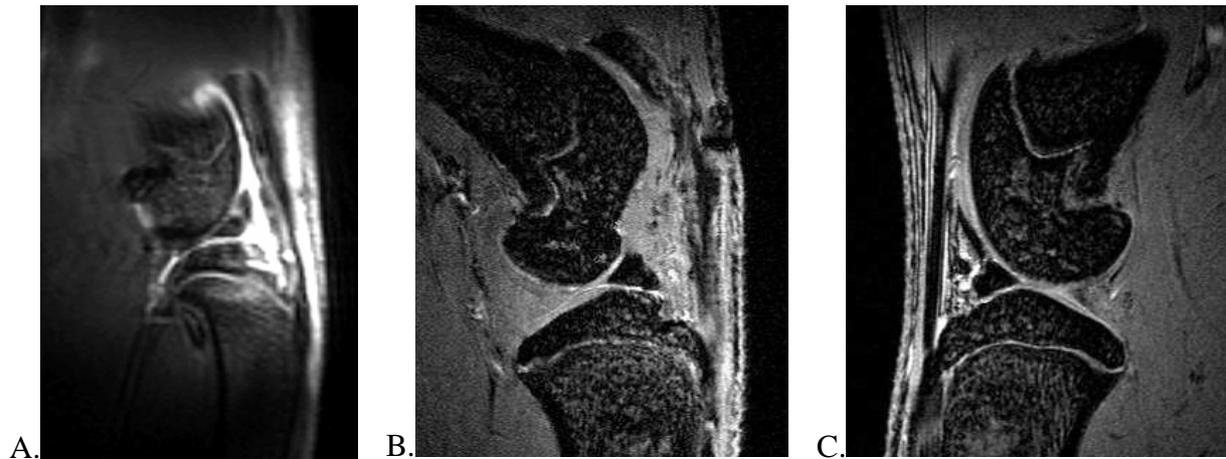


Figure 22. A. IRM sagittal en pondération T2 d'un genou de rat ayant subi la section du ligament croisé antérieur. Nous remarquons un hypersignal franc correspondant aux tissus fortement hydratés, et en particulier à la membrane synoviale inflammatoire. B. IRM sagittal en pondération T1 représentant un genou opéré. Nous pouvons observer la présence d'un panus avec dégradation du cartilage fémoral et atteinte de l'os sous-chondral ; le compartiment tibial semble intact. C. IRM correspondant au genou controlatéral contrôlé.

Dans le cas des genoux arthrosiques, nous avons observé une augmentation progressive des interlignes articulaires, tant sur le versant médial que latéral (figure 23), les valeurs étant significativement plus élevées 28 jours après l'induction par sLCA. D'autre part, nous avons également noté, pour les genoux sains et arthrosiques, une corrélation faible mais significative entre l'interligne articulaire relevé en IRM et la somme des épaisseurs moyennes des cartilages (fémoral + tibial) obtenues en histologie :

- $r=0,30$; $p=0,05$ dans le cas des genoux contrôlés
- $r=0,33$; $p=0,005$ dans les genoux opérés.

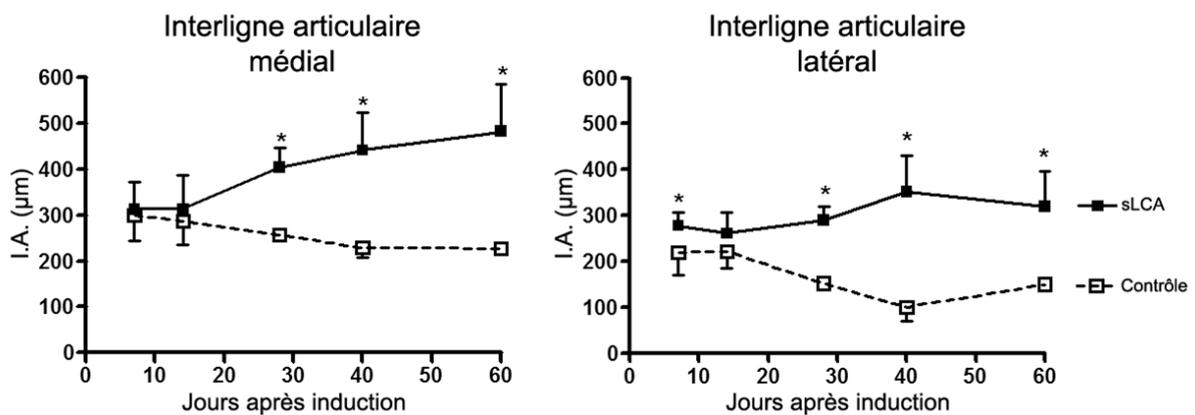


Figure 23. Graphiques représentant les interlignes articulaires mesurés sur les IRM des genoux sains et arthrosiques pour chaque temps de l'expérience. Ces interlignes sont significativement plus épais lorsque les genoux ont subi la section du ligament croisé antérieur (le signe * indique une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux groupes de genoux).

3.3 Epaisseur du cartilage articulaire

3.3.1 Épaisseurs moyennes en zones portantes

Au sein du compartiment médial, comme révélé par le premier graphe de la figure 24, nous trouvons une perte d'épaisseur du cartilage fémoral similaire dans les genoux contrôles et les genoux arthrosiques. La confrontation histologique ne se révèle cependant concordante que pour les genoux sains. *A contrario*, nous observons un épaissement progressif du cartilage tibial, ce gain d'épaisseur étant significatif entre les genoux sains et opérés de J28 à J60. En prenant en considération le versant latéral des genoux, nous relevons une érosion non significative mais progressive du cartilage fémoral ($p=0,66$ à J60). Inversement, le cartilage tibial est le siège d'un épaissement significatif de J28 à J60, ce phénomène traduisant l'apparition d'un œdème au sein du cartilage (figure 24).

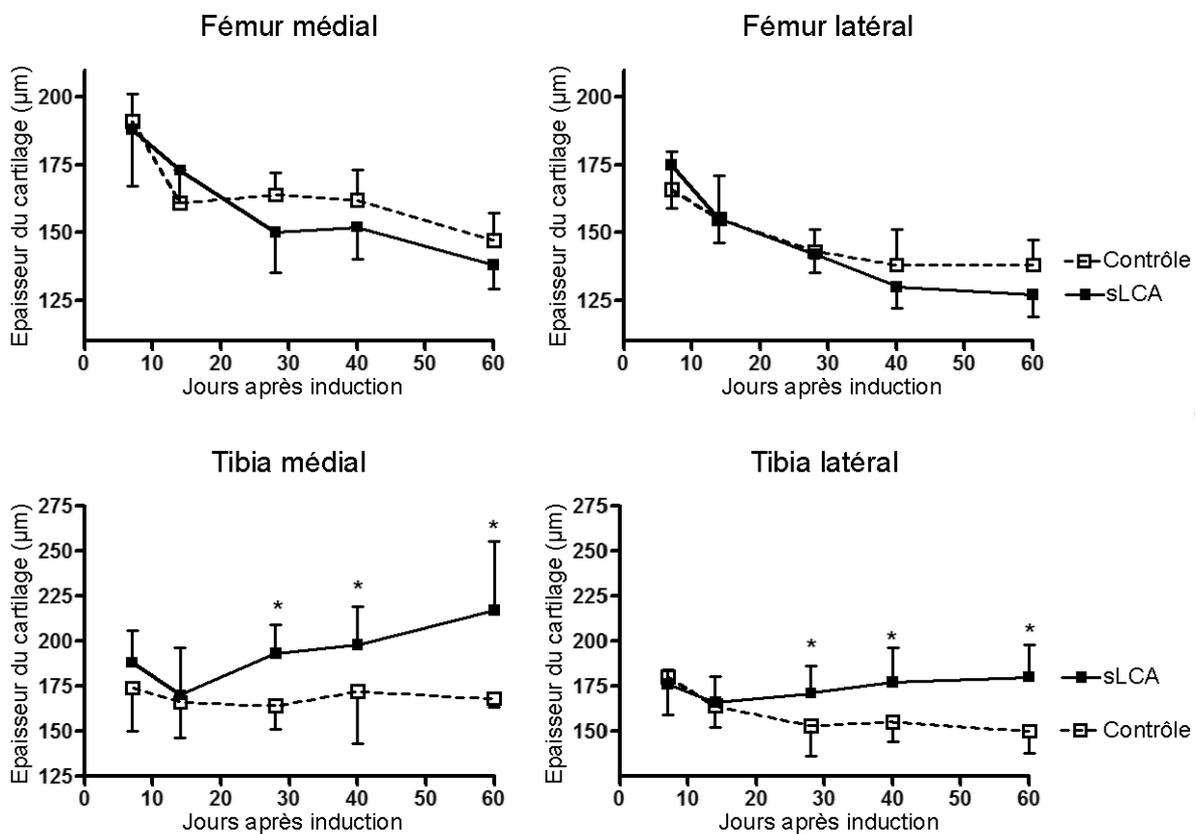


Figure 24. Graphiques représentant l'évolution des épaisseurs moyennes du cartilage articulaire (fémoral et tibial) calculées en zones portantes médiale et latérale sur les IRM. Le signe * indique une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux groupes de genoux.

3.3.2 Confrontations des données IRM et histologiques

Dans cette étude, le niveau global de corrélation entre les épaisseurs moyennes recueillies en IRM et en histologie, pour les 4 compartiments considérés, est non significatif et très faible de surcroît ($r=0,07$). En appliquant la méthode de Bland-Altman, nous observons un biais de $31,98 \mu\text{m}$ entre les deux modalités (la concordance à 95 % s'échelonnant de $-64,81$ à $99,66 \mu\text{m}$). Cependant les corrélations se révèlent sensiblement meilleures dans le cas des

genoux sains pris isolément : $r=0,34$; $p<0,001$; biais : $37,52 \mu\text{m}$ (-24, 61 à $99,66 \mu\text{m}$). Pour information, les données concernant les genoux arthrosiques sont : $r=-0,09$; non significatif ; biais : $28,87$ (-92,67 à $146,4$).

3.4 Volume du cartilage articulaire

Comme nous pouvons le constater sur les rendus volumiques de la figure 25, le processus arthrosique est responsable d'une érosion progressive du cartilage fémoral, majoritairement sur le versant médial. Paradoxalement, la quantification volumétrique ne démontre une diminution significative qu'à J28 par rapport aux genoux contrôles (figure 26.A). Ceci peut être expliqué par l'effet compensateur d'œdèmes chondraux périphériques. Concernant le tibia, nous relevons un épaissement du cartilage sur le versant médial. Cet épaissement apparaît, de manière significative, à J28 par rapport aux genoux sains et est d'autant plus flagrant à J60 ($p=0,009$) que ce soit pour les volumes bruts ou les données normalisées par rapport à la taille de l'os tibial (figure 26.B et C.). Pour le versant latéral, les modifications volumiques du cartilage tibial arthrosique sont moins marquées : nous ne remarquons qu'une différence significative à J28 pour le volume brut entre les deux groupes de genoux (figure 26.B).

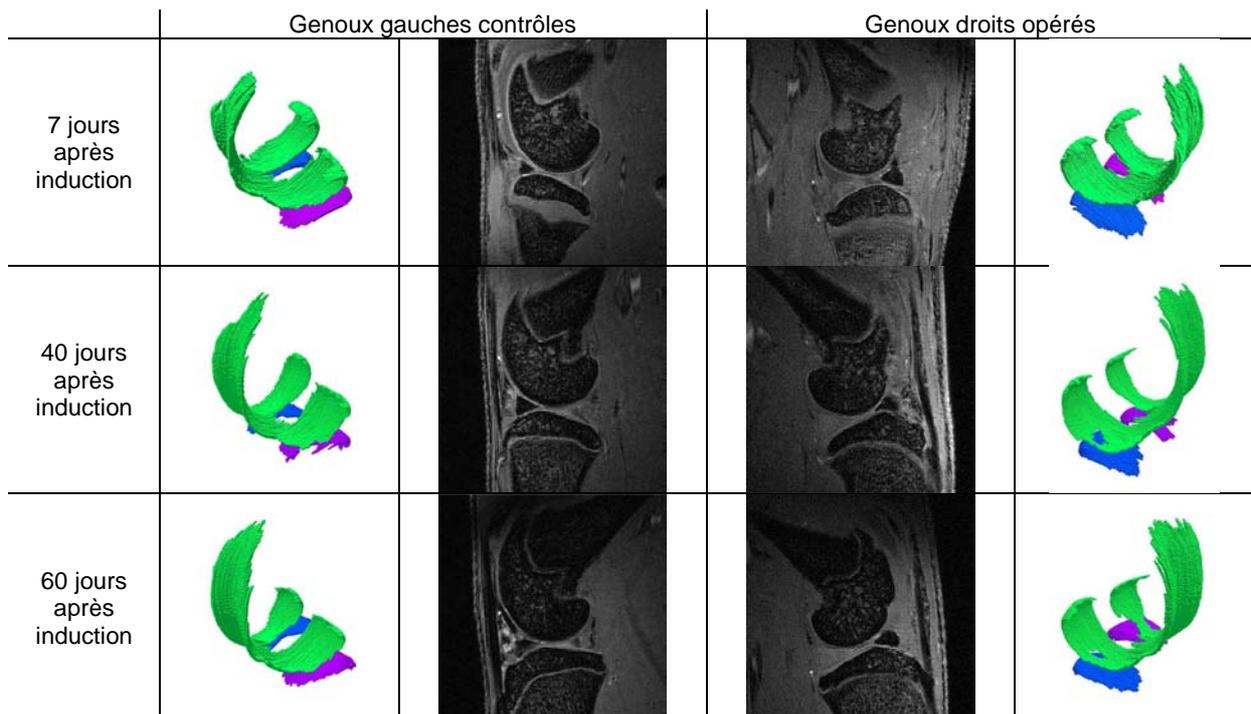


Figure 25. IRM et rendus volumiques correspondants des genoux de rats normaux et arthrosiques. Le cartilage fémoral est représenté en vert, les compartiments tibiaux sont codés en bleu pour le versant médial et en magenta pour le versant latéral. Une forte inflammation de la membrane synoviale est observable 7 jours après induction (section du ligament croisé antérieur). Aux temps tardifs (J40 et J60), nous remarquons la dégradation du cartilage fémoral (notez l'apparition de trous) ainsi que la présence d'atteintes de l'os sous-chondral.

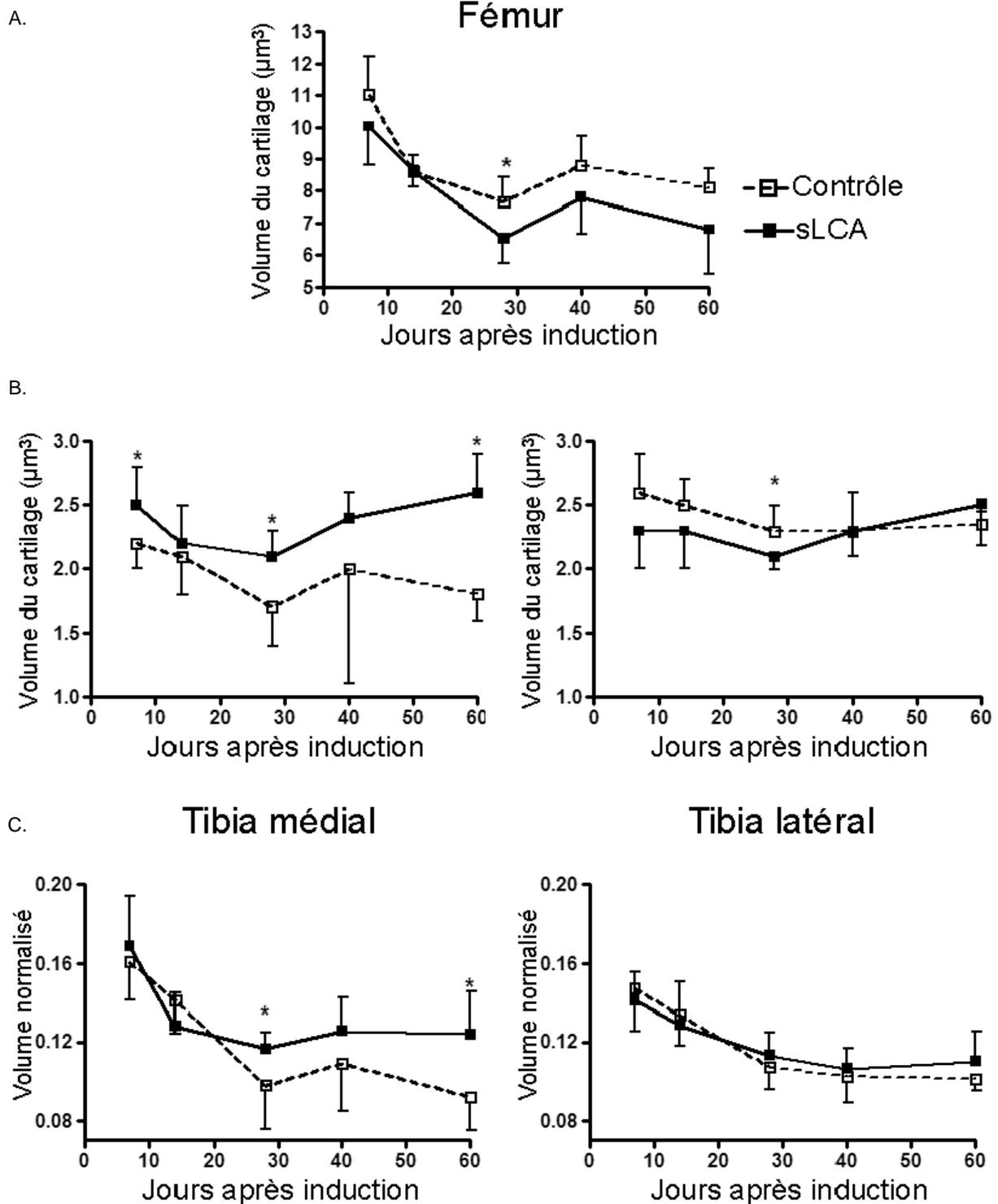


Figure 26. Graphiques représentant l'évolution (A.B.) des volumes du cartilage articulaire (compartiments fémoral et tibiaux) ainsi que (C.) des volumes normalisés du cartilage des plateaux tibiaux. Le signe * indique une différence significative ($p < 0,05$) entre les deux groupes de genoux.

3.5 Scores histologiques

La lecture des lames histologiques (figure 27) a permis de relever des évolutions différentes pour chaque groupe de genoux. En effet, bien que les degrés d'atteinte entre les 5 temps

exploratoires soient relativement stables, il existe une nette différenciation des genoux opérés par rapport à leur homologues contrôles ($p < 0,0001$). Cette différence s'observe aussi bien pour le score histologique dédié aux atteintes du cartilage que celui s'intéressant à l'inflammation de la membrane synoviale.

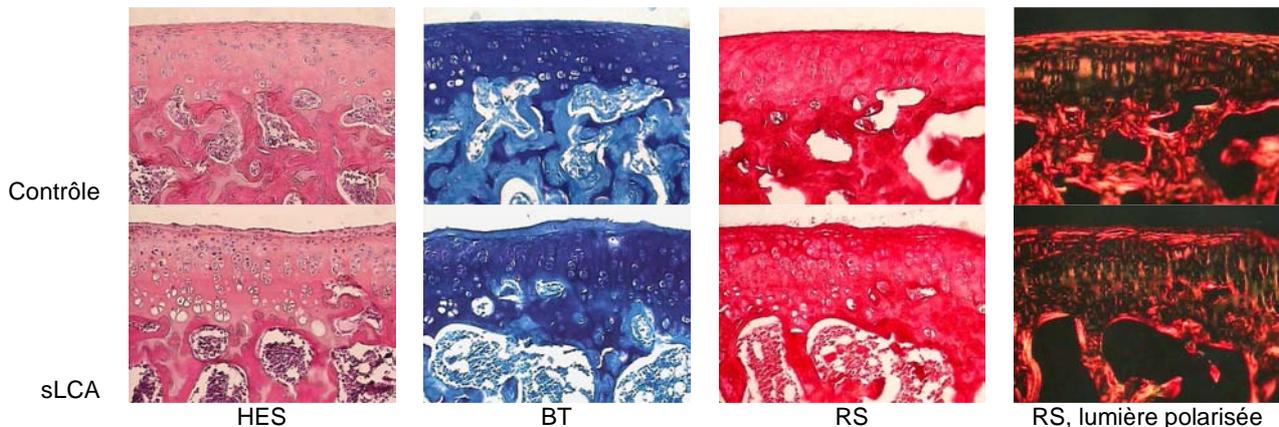


Figure 27. Représentation des 3 colorations (+ une en lumière polarisée) utilisées pour l'analyse des prélèvements et l'établissement des scores histologiques, grossissement x10.

4 Discussion

Au cours de cette étude, nous avons pu observer une diminution du volume et de l'épaisseur (en zone portante) du cartilage fémoral. Ce phénomène a lieu au niveau des genoux arthrosiques comme au niveau des genoux contrôles. Cependant, les pertes de substances chondrales deviennent plus marquées pour les genoux pathologiques. Concernant le tibia, les variations morphologiques du cartilage articulaire évoluent de manière surprenante puisque celles-ci augmentent au cours du temps. Ceci peut s'expliquer par la formation d'œdèmes au sein de la matrice du cartilage qui 'gonflent' artificiellement le tissu chondral. Une approche intéressante serait de pouvoir normaliser les données des genoux arthrosiques par rapport à leur homologue contrôle afin de s'affranchir des modifications liées à l'âge des animaux, et ne se consacrer ainsi qu'à l'analyse des valeurs relatives à l'évolution de la pathologie.

Choix du modèle animal

Malgré le fait que le modèle de section du ligament croisé antérieur soit pleinement validé [Bendele, 2002; Batiste *et coll.*, 2004; Appleton *et coll.*, 2007] et corresponde à la symptomatologie humaine [Meyer *et coll.*, 2008], une interrogation peut survenir quant au recours de ce modèle expérimental pour induire une arthrose dans notre étude. En effet, nous avons pu observer une forte inflammation du genou dans les temps précoces de l'expérience. Ce phénomène inflammatoire peut accentuer la cascade des réactions conduisant à la maladie arthrosique [Samuels *et coll.*, 2008] et engendrer des lésions ailleurs qu'en site articulaire porteur. Les variations du volume du cartilage peuvent ainsi s'en trouver biaisées par rapport à un modèle purement mécanique. L'impact de l'inflammation aurait pu être évalué par la constitution d'un groupe d'animaux 'Sham' (ouverture du genou sans section du ligament). En revanche, les scores histologiques ne laissent aucun doute sur l'efficacité du modèle puisqu'ils révèlent clairement une différence entre les deux types de genoux.

Une autre remarque que nous pouvons formuler quant à l'espèce choisie est le fait que le rat soit quadrupède et ne dispose pas de la même géométrie articulaire que l'Homme. Les forces biomécaniques appliquées lors de la marche à quatre pattes ne sont donc pas les mêmes que

celles retrouvées chez les bipèdes. Ainsi, nous pouvons penser qu'un même modèle aurait pu avoir davantage de conséquences si le modèle avait été bipède, du fait d'une répartition moins divisée des charges. Il est à noter que pour limiter ce problème, certains auteurs emploient des méthodes destinées à forcer la marche des rongeurs [Pap *et coll.*, 1998; Appleton *et coll.*, 2007; Appleton *et coll.*, 2008]. D'un autre côté, la position des genoux au sein de l'antenne IRM ne correspond pas à la posture physiologique du rat éveillé. Néanmoins, l'analyse volumique ne tient pas compte de cette disposition pour évaluer les modifications volumétriques du cartilage. De la même manière, les épaisseurs moyennes en zones portantes ont été réalisées en segmentant l'ensemble du cartilage articulaire, et non pas en se limitant aux seules zones en contact réel lors de l'acquisition.

Confrontations des résultats

Concernant l'étude du cartilage arthrosique, notre travail révèle de piètres niveaux de concordance entre les mesures issues de l'IRM et de l'histologie. Ceci peut s'expliquer par plusieurs facteurs :

- Paramètres intrinsèques (inflammation)

Les faibles niveaux de corrélation observés entre les deux modalités d'imagerie sont dus en partie aux difficultés rencontrées lors de la segmentation du cartilage articulaire, tant au niveau de l'IRM que de l'histologie. En effet, la présence d'une synovite importante couplée à un pannus directement en contact du cartilage rend la délimitation des tissus compliquée. Sur les lames histologiques, nous pouvons nous rendre compte des remaniements importants que subissent l'ensemble des tissus en présence (cartilage, os, membrane synoviale). En certains endroits, nous ne distinguons qu'avec difficulté le cartilage articulaire. Ces modifications, dues au processus arthrosique couplé à l'inflammation, sont relativement moins prononcées sur les IRM en pondération T1, cependant, la similitude de contraste observable entre les tissus inflammés et le cartilage articulaire rend, là aussi, les délimitations ardues.

- Biais dus à la préparation des échantillons

D'autre part, tout comme dans notre précédente étude concernant la maturation du cartilage, il est difficile de faire correspondre exactement les lames histologiques avec les IRM. En effet, les lames histologiques sont tributaires de l'orientation imposée au bloc de paraffine lors de l'inclusion. La présence d'une véritable 'gangué inflammatoire' lors de la préparation de l'échantillon rend la détermination des structures anatomiques plus compliquée et explique les éventuels 'défauts de devers' lorsque le genou est divisé en deux parties selon le plan sagittal médial avant leur inclusion en paraffine. De plus, il est établi que les échantillons peuvent être altérés aux décours des processus de découpe et de déshydratation [Faure *et coll.*, 2003]. En effet, le processus arthrosique est responsable, comme nous avons pu le constater et comme montré par d'autres auteurs [Chou *et coll.*, 2008], d'un phénomène d'hydratation (œdème) au sein du cartilage articulaire. Lors de la déshydratation des échantillons, processus nécessaire à l'inclusion en paraffine, le contenu hydrique interstitiel et intra-matriciel est éliminé. Il est clair que ce phénomène conduise *in fine* à une différence notable des observations histologiques (échantillons 'secs') par rapport à celles obtenues en IRM (tissus physiologiquement hydratés).

- Différence de résolution

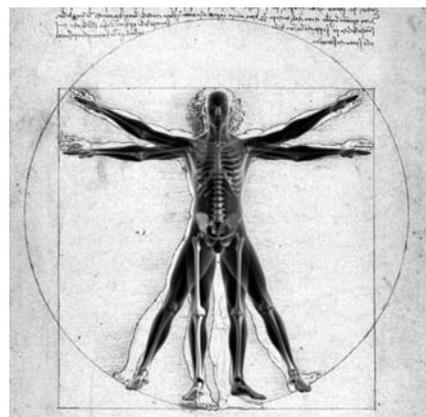
Enfin, il est à noter que l'épaisseur des lames histologiques est de 5 μm , alors qu'elle est de 94 μm pour les coupes IRM. Le fait que les coupes IRM soient plus épaisses peut induire un phénomène de 'moyennage' selon la profondeur des voxels, phénomène que l'on peut alors qualifier 'd'artéfact de volume partiel' [Bydder *et coll.*, 2007]. De ce fait, ce moyennage peut être

responsable d'un masquage ou 'lissage' de défauts locaux observables plus finement en histologie.

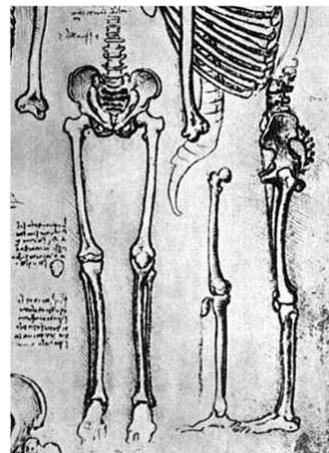
5 Conclusion

Cette étude répertorie pour la première fois des données morphologiques (volume et épaisseurs) du cartilage articulaire dans un modèle d'arthrose expérimental chez le rongeur. Au delà de l'avancée technologique, cette étude permet de visualiser et quantifier les conséquences d'un tel modèle *in vivo*. Les mesures réalisées attestent de l'acuité de l'IRM à haute résolution spatiale dans le suivi quantitatif des pertes chondrales. Ces données suggèrent que la technique pourra être utilisée ultérieurement pour évaluer l'efficacité de nouveaux traitements chondroprotecteurs ainsi que les solutions chondro-régénératrices issues de l'ingénierie tissulaire.

Travaux menés chez l'Homme à 1,5 Tesla



Cartographie T2 du cartilage rotulien à 1,5 Tesla : étude clinique d'une cohorte de volontaires sains âgés de 10 à 65 ans



1 But

Dans ce travail, nous avons voulu déterminer l'influence des paramètres anthropométriques (âge, sexe, indice de masse corporelle) sur le cartilage articulaire rotulien au sein d'une population humaine saine. Notre étude porte sur le calcul du temps de relaxation transversal (T2) du signal RMN. En effet, ce paramètre physique est intimement lié aux caractéristiques intrinsèques du tissu biologique étudié. Le niveau d'organisation architecturale de la matrice extracellulaire du cartilage ainsi que son degré d'hydratation peuvent être explorés par la technique de cartographie des valeurs de T2. Nous avons opté pour cette « biopsie virtuelle » afin de démontrer son intérêt dans la quantification des variations biochimiques, liées aux paramètres anthropométriques, du cartilage rotulien.

2 Matériels et méthodes

2.1 Recrutement des volontaires sains

Une soixantaine de volontaires a répondu favorablement à notre demande de participation à l'étude. Cependant, nous avons choisi de n'incorporer que des personnes strictement saines aux regards de leur cartilage articulaire rotulien. Ainsi, suite à la sélection de ces volontaires selon quatre closes définies plus bas, nous avons pu réaliser notre exploration IRM sur une cohorte de 41 personnes saines âgées de 10 à 65 ans. Pour chaque individu, leurs caractéristiques démographiques sont recueillies : âge, sexe, taille et poids. L'indice de Quételet, ou indice de masse corporelle (IMC), a été déterminé (poids (kg) divisé par la taille (m) élevée au carré), bien que le nombre d'individus avec un BMI élevé (≥ 25) se soit révélé *in fine* trop faible pour en évaluer l'influence sur les caractéristiques IRM (valeurs de T2) du cartilage articulaire. Le protocole de l'étude est expliqué aux volontaires et leur consentement éclairé recueilli avant la poursuite des investigations.

Six classes sont créées afin de répartir, selon l'âge, l'échantillon de la population :

- groupe A : 10 à 15 ans, n=6 (n : nombre d'individus par groupe),
- groupe B : 16 à 25 ans, n=9,
- groupe C : 26 à 35 ans, n=6,
- groupe D : 36 à 45 ans, n=7,
- groupe E : 46 à 55 ans, n=6,
- groupe F : 56 à 65 ans, n=7.

Notre cohorte est constituée de 19 hommes pour 22 femmes, cette parité étant bien conservée pour l'ensemble des groupes.

Nous avons défini 4 critères afin d'inclure uniquement des personnes ayant un cartilage articulaire sain :

- absence de traumatisme du genou,
- pas de pratique de sport intensif et violent,
- absence de souffrance ou douleur ressentie au niveau du genou,
- aspect laminaire normal et homogène du cartilage articulaire sur une séquence IRM préliminaire (Fast Spin Echo (FSE) pondérée T2).

De plus, les contre-indications habituelles à l'examen IRM constitueront des causes inaliénables d'exclusion de notre étude : claustrophobie, éclats ou implants métalliques dans des parties sensibles du corps humain, femme enceinte. Enfin, nous demandons aux

volontaires incorporés dans le protocole de rester allongés, immobiles, pendant une période de 30 minutes avant les examens IRM. Cette période d'inactivité motrice est destinée à limiter les variations du contenu hydrique intra-cartilagineux liées aux forces de compression [Eckstein *et coll.*, 1999].

2.2 Protocole d'acquisition IRM

Chaque volontaire est positionné en décubitus dorsal au sein d'un imageur clinique de 1,5 Tesla (Signa Echospeed, General Electric Medical System, Milwaukee, WI), équipé de gradients de 33 mT/m. Le genou choisi pour l'étude est placé en position neutre dans une antenne émettrice / réceptrice spécifique au genou (General Electric Medical System, Milwaukee, WI). La surface articulaire de la rotule se retrouve alors orientée parallèlement au champ magnétique B_0 , de façon à limiter les effets indésirables de l'angle magique [Xia *et coll.*, 2002; Grunder, 2006]. Les IRM du genou sont obtenues selon des acquisitions axiales, dont les paramètres intrinsèques sont listés ci-dessous :

Séquences :	écho de spin à 4 temps d'échos, pondération T2
Temps de Répétition (TR) :	3500 ms
Temps d'Echo (TE) :	4 TE différents : 16, 32, 48 et 64 ms
Champ de vue :	12 x 12 cm
Matrice d'acquisition :	256 x 192 pixels
Résolution dans le plan :	0,47 x 0,47 mm
Epaisseur de coupe :	5 mm
Espace inter-coupes (GAP) :	0,5 mm
Nombre d'excitations :	2
Nombre de coupes :	48
Durée d'acquisition :	25 minutes

2.3 Traitement numérique des IRM

L'intégralité du traitement des images a été réalisée sur ordinateur de type PC à l'aide d'un outil spécifique développé dans l'environnement de programmation Matlab® (Mathworks Inc, Natick, MA) par l'unité de recherche IADI (*Imagerie Adaptative, Diagnostique et Interventionnelle*, Nancy) du Professeur Jacques FELBLINGER. L'interface graphique permet de sélectionner 4 coupes axiales couvrant l'intégrité de la rotule, et de segmenter le cartilage articulaire ainsi que l'os sous-chondral. Ce logiciel gère ensuite le calcul des cartographies des temps de relaxation transversaux (T2) ainsi que l'interpolation délivrant les profils des valeurs de T2 en fonction de la profondeur du cartilage.

La procédure de segmentation consiste en un contourage manuel des limites anatomiques des structures d'intérêt (cartilage articulaire et os sous-chondral rotuliens). Le contraste marqué existant sur les IRM à TE court (16 ms) permet une segmentation aisée de l'interface inférieure (cartilage / os sous-chondral). En revanche, la surface articulaire du cartilage est segmentée sur les IRM à TE long (64 ms) car la limite cartilage / fluide synovial y est davantage contrastée. L'os sous-chondral rotulien est segmenté automatiquement en regard des délimitations tracées pour le cartilage articulaire.

2.4 Création des ROIs et calcul du T2

Afin d'obtenir une échelle d'analyse plus fine pour l'étude du cartilage, nous avons divisé la rotule en 8 régions d'intérêt (ROI) (figure 28). Les IRM axiales, dont l'épaisseur cumulée couvre l'intégralité de la rotule, nous permettent de diviser la rotule en 4 tranches régulières : proximale, médiane-supérieure, médiane-inférieure et distale. Chacune de ces tranches est ensuite sub-divisée en 2 parties selon les versants anatomiques médial et latéral de la rotule constituant ainsi les 8 ROI suivantes : proximales médiale (PM) et latérale (PL), médio-supérieures médiale (MSM) et latérale (MSL), médio-inférieures médiale (MIM) et latérale (MIL), ainsi que distales médiale (DM) et latérale (DL).

La première image axiale sur laquelle le cartilage rotulien est identifié de façon non équivoque est considérée comme étant la tranche proximale. Les coupes IRM suivantes constituent les 3 autres tranches (la hauteur de la rotule au sein de notre cohorte étant en moyenne de 4 coupes).

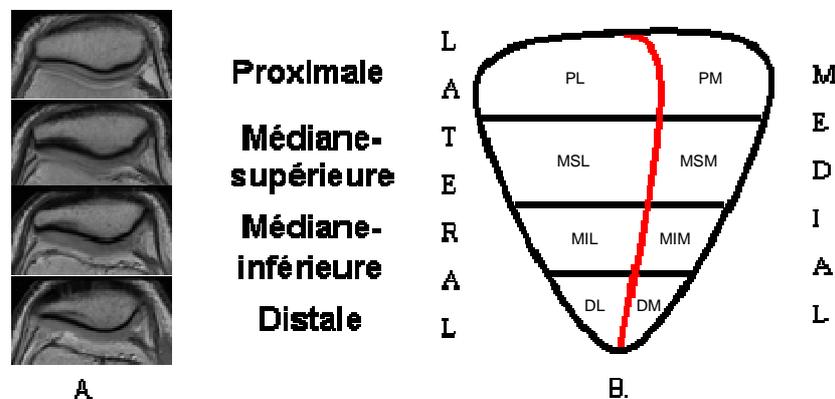


Figure 28. Représentation des 8 régions d'intérêt de la rotule à partir des 4 coupes axiales (A) et selon la séparation anatomique en versants latéral et médial (B).

De cette manière, nous pouvons étudier sur la rotule entière ou sur les 8 ROIs indépendamment :

- le T2 moyen cartilagineux global, $T2g$ (épaisseur totale du cartilage), superficiel, $T2s$ (surface articulaire uniquement) et profond, $T2p$ (interface cartilage / os sous-chondral)
- le T2 moyen de l'os sous-chondral rotulien, $T2o$.

Le calcul des valeurs de T2 a été réalisé selon un algorithme précédemment validé par d'autres auteurs [Dardzinski *et coll.*, 1997]. D'une manière générale, les IRM découlant des 4 temps d'écho différents reflètent la décroissance de l'intensité $S(t)$ du signal RMN. L'expression mathématique de ce déclin s'exprime selon une loi mono-exponentielle décroissante explicitée ci-dessous :

$$S(t) = S_0 \times \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \quad \text{Eq. 4}$$

où S_0 est l'intensité du signal au temps $t=0$, et T_2 étant le temps de relaxation transversal. Les valeurs de T2 sont ainsi obtenues par interpolation de courbe selon la méthode des moindres carrés (Matlab® Curve Fitting Toolbox) et les cartes T2 générées pixel par pixel (figure 29).

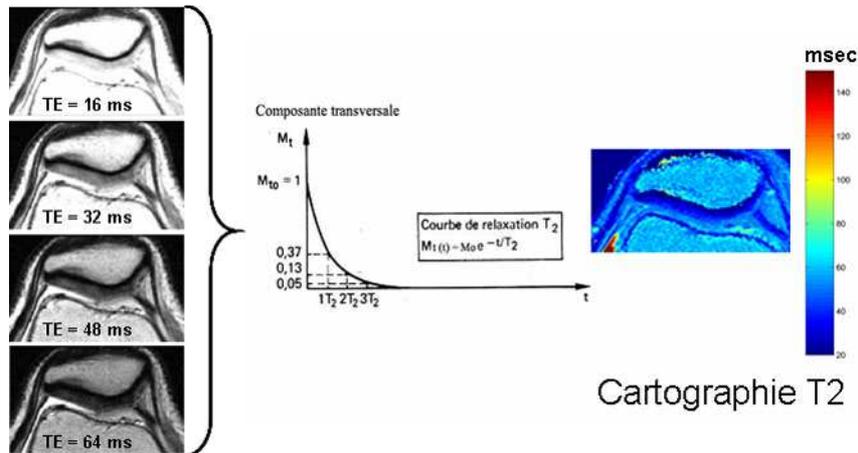


Figure 29. Représentation du calcul des cartes T2 : à partir de la séquence IRM pondérée T2 à 4 temps d'échos (TE) différents, l'algorithme va déterminer, pixel par pixel, la décroissance du signal RMN puis extraire la valeur de T2 correspondante.

2.5 Profils de valeurs de T2

Afin d'évaluer les variations topographiques (selon la profondeur des couches cartilagineuses) des valeurs de T2, nous avons réalisé des profils de T2 selon la manière suivante :

au sein du tissu cartilagineux et orthogonalement à l'interface cartilage / os sous-chondral, un lot de segments est automatiquement généré, couvrant l'intégralité du cartilage articulaire. Chaque pixel de la carte des valeurs de T2 appartenant à l'un des segments peut alors exprimer une valeur de T2 en fonction de sa distance par rapport à l'os sous-chondral. Pour permettre une comparaison entre des individus dont l'épaisseur du cartilage articulaire est différente, la longueur des segments est normalisée en proportion de l'épaisseur cartilagineuse. De ce fait, la longueur de chaque segment est définie à '1', la profondeur des pixels pouvant ainsi être comprise entre '0' (niveau de la surface articulaire) et '1' (profondeur correspondant à l'interface cartilage / os sous-chondral). Enfin, nous réalisons une interpolation de manière à obtenir un ré-échantillonnage de 10 valeurs de T2 équitablement répartis le long de chaque segment (seuls les segments ayant une longueur réelle de plus de 3 pixels sont pris en compte dans cette étape).

Finalement, nous obtenons 10 valeurs topographiques de T2 en fonction de la profondeur du cartilage, renseignant ainsi sur les gradients de T2 de la surface articulaire jusqu'à l'interface avec l'os sous-chondral (figure 30).

2.6 Analyse statistique

L'ensemble de nos résultats a été traité par analyse de la variance (ANOVA), qui, lorsque ses conclusions se sont révélées significatives, a été suivie du test de Student. D'autre part, nous avons également réalisé des calculs de corrélation de Pearson. Nous avons utilisé le seuil de significativité classiquement admis ($p=0,05$). Tous les calculs statistiques ont été réalisés avec le logiciel GraphPad Prism 5 © (GraphPad Software Inc).

3 Résultats

3.1 Reproductibilité intra- et inter-opérateur

Deux opérateurs entraînés et n'ayant pas connaissance des données démographiques de la population étudiée ont lu et segmenté les IRM de façon autonome. Chaque opérateur a répété les opérations à deux reprises. La reproductibilité intra-opérateur est de 0,92, 0,84 et 0,91 pour le T2g, T2s et T2p respectivement. Au niveau de la reproductibilité inter-opérateur, les valeurs sont de 0,86, 0,75 et 0,90.

3.2 T2 sur rotule entière

Lorsque l'on considère l'ensemble du cartilage rotulien, les valeurs de T2g, T2s et T2p sont respectivement de $29,35 \pm 2,64$ ms, $34,21 \pm 3,18$ ms et $23,05 \pm 2,79$ ms. Nous n'avons observé aucune différence significative entre les hommes et les femmes, que se soit pour les valeurs de T2 globales, superficielles et profondes. L'analyse de la variance (ANOVA) ne révèle pas de différence entre les 6 groupes d'âge concernant le T2 global et le T2 superficiel. En revanche, dans le cas du T2 profond, nous avons relevé des différences significatives entre :

- le groupe A par rapport aux groupes B ($p=0,0008$), C ($p=0,0108$) et D ($p=0,0011$),
- le groupe F par rapport aux groupes B ($p=0,0397$) et D ($p=0,0457$).

Néanmoins, nous avons établi un lien de corrélation faible mais significatif entre l'âge des volontaires et le T2 global ($r=0,35$; $p=0,02$) ainsi que pour le T2 superficiel ($r=0,40$; $p=0,01$), corrélation que l'on ne retrouve pas dans le cas du T2 profond. Concernant l'os sous-chondral, nous n'avons noté aucune différence significative entre les groupes d'âge, ni de variation selon la profondeur. La valeur moyenne de T2 de l'os sous-chondral est de : $T2o = 58,64 \pm 0,14$ ms.

3.3 Analyse du T2 selon les 8 ROI

Bien que le processus de vieillissement n'ait que relativement peu d'influence sur le cartilage considéré dans son ensemble, l'analyse du T2 à une échelle régionale révèle des modifications plus intéressantes, comme le montre les trois paragraphes suivants.

3.3.1 Disparité du T2 selon les 8 ROI

Sans tenir compte, dans un premier temps, de l'âge des volontaires, nous avons relevé des disparités de valeurs de T2 au niveau régional au sein du cartilage rotulien. En effet, l'ANOVA a permis de montrer qu'il existe des différences prépondérantes dans les valeurs de T2 pour les ROI PM et PL ainsi que DM et DL en comparant chacune des ROI les unes aux autres. Ce phénomène est rencontré pour les valeurs de T2g, T2s mais aussi T2p, comme le montre le tableau 3.

Tableau 3. Tableau regroupant les valeurs de T2 pour chaque région d'intérêt (ROI) et pour l'ensemble du cartilage rotulien. Les valeurs sont données pour l'épaisseur globale du cartilage (T2g), la zone superficielle (T2s) ainsi que pour la zone profonde (T2p), et ce, pour chacun des 6 groupes d'âge. La comparaison statistique des différences inter-ROI est représentée de la manière suivante : lorsque l'on considère une ROI en particulier (en gras dans le tableau), les ROI statistiquement différentes (p<0,05) de cette dernière sont surlignées en gris.

Age	ROI										Rotule entière
	PM	MSM	MIM	DM	PI	MSI	MII	DI			
T2g (ms)	A	27.37 (1.98)	28.26 (3.10)	29.23 (4.82)	33.48 (4.13)	26.48 (2.61)	27.98 (2.13)	28.59 (5.45)	33.90 (3.70)	29.32 (1.73)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	B	30.32 (3.48)	25.97 (2.92)	25.41 (2.13)	29.39 (6.35)	30.35 (3.30)	27.08 (3.28)	27.38 (2.55)	31.03 (2.63)	28.39 (2.00)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	C	28.33 (4.92)	27.43 (4.44)	27.22 (3.31)	31.40 (4.38)	30.25 (4.24)	28.21 (3.01)	27.61 (2.25)	37.07 (3.87)	29.13 (2.43)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	D	29.39 (3.18)	29.33 (3.59)	26.14 (3.48)	29.31 (3.39)	26.62 (4.51)	26.51 (4.06)	24.90 (2.43)	30.80 (4.07)	27.77 (3.02)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	E	34.54 (6.08)	29.31 (4.92)	28.34 (4.75)	28.28 (4.07)	35.23 (6.44)	30.08 (5.11)	28.25 (5.10)	28.14 (4.94)	30.41 (3.54)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	F	31.96 (4.11)	30.98 (1.82)	30.55 (3.32)	31.95 (2.53)	31.30 (3.14)	30.23 (4.22)	31.73 (2.81)	33.72 (6.24)	31.45 (1.89)	
		PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL									
	T2s (ms)	A	31.38 (3.26)	31.73 (5.14)	32.13 (2.92)	37.33 (4.98)	29.76 (2.88)	31.95 (2.43)	30.51 (5.03)	38.22 (4.66)	32.80 (1.61)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		B	34.20 (2.45)	30.37 (3.32)	29.28 (3.26)	36.13 (11.28)	35.48 (4.00)	32.63 (5.35)	32.85 (3.61)	37.75 (3.83)	33.75 (2.79)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		C	32.55 (4.66)	32.62 (3.44)	30.84 (2.96)	34.82 (4.10)	35.79 (4.40)	33.15 (2.77)	31.63 (2.78)	41.13 (4.96)	33.84 (2.65)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		D	34.36 (2.97)	34.00 (5.33)	32.42 (4.62)	34.93 (2.66)	30.46 (4.92)	32.37 (4.22)	28.79 (2.61)	37.29 (4.65)	32.72 (3.38)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		E	37.76 (6.15)	32.58 (5.59)	33.96 (6.28)	36.00 (8.31)	40.79 (9.77)	36.11 (5.34)	33.66 (5.90)	33.78 (4.41)	35.98 (4.02)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		F	36.88 (5.84)	35.04 (2.92)	34.71 (2.03)	35.85 (1.84)	36.02 (3.39)	35.33 (5.92)	36.61 (2.12)	38.83 (8.89)	36.29 (3.29)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
T2p (ms)		A	24.05 (3.56)	23.95 (6.04)	25.45 (5.20)	29.28 (6.04)	24.42 (5.92)	25.13 (4.84)	26.17 (5.09)	29.67 (5.20)	26.13 (3.37)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		B	24.58 (4.51)	20.22 (2.36)	20.01 (1.76)	23.18 (7.55)	22.81 (3.55)	19.13 (2.60)	20.59 (2.65)	22.61 (2.57)	21.48 (1.48)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		C	21.46 (4.06)	20.19 (2.41)	21.44 (3.22)	24.92 (6.47)	22.83 (3.11)	20.09 (1.82)	21.49 (0.77)	30.57 (5.46)	22.41 (1.31)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		D	24.25 (4.07)	22.38 (2.81)	19.55 (2.51)	23.34 (4.41)	21.78 (2.73)	18.84 (3.54)	19.18 (1.68)	22.80 (3.47)	21.41 (2.40)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		E	29.34 (6.60)	23.04 (3.63)	21.72 (3.44)	22.63 (3.98)	28.59 (5.18)	22.47 (3.97)	20.90 (3.30)	20.71 (3.86)	23.73 (2.98)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								
		F	26.80 (4.98)	24.15 (1.45)	24.74 (4.95)	22.60 (2.49)	24.65 (3.56)	21.92 (2.20)	23.21 (3.84)	25.50 (2.88)	24.06 (2.53)
			PM PL MSM MSL MIM MIL DM DL								

3.3.2 Variations régionales liées à l'âge

Dans un second temps, l'analyse de la variance, à l'échelle régionale, a également permis de montrer des modifications significatives de T2 en fonction de l'âge des volontaires, pour certaines ROI :

- T2g :
 - o PM ($p=0,04$) entre le groupe E et les groupes A, C et D.
 - o PL ($p=0,007$) entre le groupe E et les groupes A, B, C et D, ainsi qu'entre le groupe F et les groupes A et D.
 - o MIL ($p=0,03$) entre le groupe F et les groupes B, C et D.
- T2s :
 - o PL ($p=0,008$) entre le groupe A et les groupes B, E et F, ainsi qu'entre les groupes D et E.
 - o MIL ($p=0,01$) entre le groupe F et les groupes A, C et D, ainsi qu'entre le groupe D et les groupes B et E.
- T2p :
 - o MSL ($p=0,01$) entre le groupe A et les groupes B, C et D.
 - o MIM ($p=0,02$) entre le groupe A et les groupes B et D, ainsi qu'entre le groupe F et les groupes B et D.
 - o MIL ($p=0,006$) entre le groupe A et les groupes B, C, D et E, ainsi qu'entre les groupes D et F.
 - o DL ($p=0,001$) entre le groupe A et les groupes B, D et E, ainsi qu'entre le groupe C et les groupes B, D, E et F.

En résumé, bien que les ROI PM, PL, MSL, MIM et DL soient affectées par le processus de vieillissement, nous remarquons que la ROI MIL est le siège préférentiel des variations de T2 liées à l'âge, puisqu'elle est touchée aussi bien au niveau T2g, T2s et T2p.

3.3.3 Profils des valeurs de T2 selon la profondeur du cartilage

Notre étude confirme la présence d'un gradient des valeurs de T2 de la superficie à la profondeur du cartilage articulaire (figure 30). Aussi, afin de déterminer si le processus de vieillissement agit sur ce gradient, nous avons procédé à l'analyse des profils de T2 de chaque groupe d'âge. D'après les tracés des profils, il nous est apparu pertinent de modéliser ces profils selon une fonction affine ($y=a.x+b$). En effet, le coefficient de détermination est $0,94 < R^2 < 0,99$ selon les groupes d'âge. Ainsi, il nous est possible d'obtenir, pour chaque profil, une valeur de pente (a) et d'ordonnée à l'origine (b). La pente nous renseigne sur la rapidité de la chute de T2 selon la profondeur du cartilage, c'est-à-dire l'amplitude du gradient de T2 entre la superficie et la profondeur. Quant à l'ordonnée à l'origine, elle nous renseigne sur la valeur de T2 superficielle dont va aussi dépendre le restant du profil.

Se faisant, l'analyse de la variance nous révèle des différences significatives dans :

- les valeurs de pente entre le groupe A et les groupes B, C, D, E et F ($p < 0,0002$), ce qui traduit une décroissance différente, et notamment plus lente, du groupe A vis-à-vis des autres groupes,
- les ordonnées à l'origine entre les groupes :
 - A versus E et F ($p < 0,01$)
 - B versus F ($p < 0,01$)
 - D versus E et F ($p < 0,03$),

ce qui traduit une augmentation du T2 superficiel chez les personnes âgées de plus de 45 ans, ainsi qu'un retentissement sur l'ensemble de leur T2, puisque les pentes, elles, ne sont pas différentes des groupes plus jeunes (mis à part le groupe A).

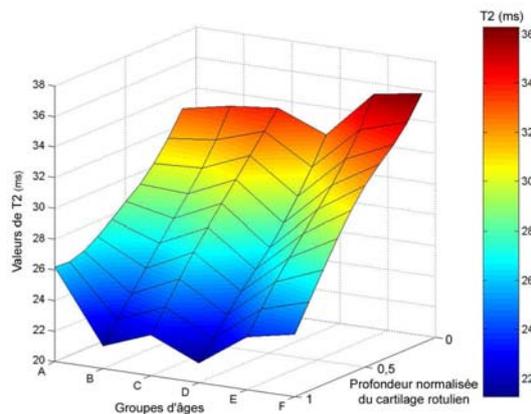


Figure 30. Représentation des profils, pour les six groupes d'âge, des valeurs de T2 pour le cartilage de la rotule entière exprimées selon la profondeur normalisée du cartilage.

4 Discussion

A notre connaissance, il s'agit de la première étude présentant les valeurs de temps de relaxation transversal (T2) de l'os sous-chondral et du cartilage rotulien chez l'Homme sain durant la maturation et le processus de vieillissement. Nous avons apporté un soin particulier dans la sélection des volontaires afin de n'incorporer que des personnes présentant un cartilage rotulien tout à fait sain, afin de ne pas biaiser l'étude par des phénomènes pathologique. Ce type d'expérience est important, puisqu'il y est pertinent d'évaluer d'éventuelles variations ayant cours au sein d'un cartilage normal sous l'effet du vieillissement avant de s'atteler à l'étude des atteintes pathologiques.

La cartographie T2 offre la possibilité de sonder indirectement la composition et l'architecture de la matrice extracellulaire du cartilage. De nombreuses études se sont penchées sur les dépendances du T2 vis-à-vis du contenu hydrique, de la concentration en protéoglycannes (PG) et en collagènes, de l'intégrité du réseau collagénique et de l'anisotropie de son architecture. Ainsi, l'équipe de Lusse [Lusse *et coll.*, 1995; Lusse *et coll.*, 2000] a démontré une relation linéaire inverse entre le contenu en eau et le temps de relaxation transverse du cartilage. De même, l'influence des protéoglycannes a été évaluée en employant des modèles de dégradation enzymatique ou des spécimens arthrosiques. Dans ce domaine, des résultats discordants ont été obtenus par différents auteurs : en effet les travaux de l'équipe de Regatte n'ont pas montré de différences significatives du T2 dans un cartilage ayant subi une dégradation des PG, et les auteurs ont conclu à l'insensibilité de la cartographie T2 par

rapport aux pertes en PG [Regatte *et coll.*, 2002]. En revanche, l'équipe de Wayne [Wayne *et coll.*, 2003] montre un effet sensible de l'extraction des PG sur les valeurs de T2. Les travaux menés par le passé dans notre laboratoire ont cependant révélé un impact du degré de déplétion en PG puisque ayant pour effet une augmentation du T2 global [Watrín-Pinzano *et coll.*, 2005]. Ces modifications de T2 semblent correspondre à des changements de la mobilité des protons au sein d'une matrice extracellulaire appauvrie en PG.

De la même façon, de précédentes études menées sur le cartilage rotulien chez le rat montrent des variations de T2 engendrées par les protéines collagéniques du cartilage [Watrín *et coll.*, 2001]. De plus, le contenu en collagènes semble être un paramètre plus déterminant encore que la concentration en PG. En effet, aucune différence de T2 n'a été observée dans un cartilage normal ou déplété en PG, alors qu'un T2 augmenté est relevé dans des sites cartilagineux ayant subi des dommages au niveau du réseau collagénique [Trattnig *et coll.*, 1999]. L'équipe de notre laboratoire a également souligné l'importance de l'organisation et l'intégrité du réseau de collagène vis-à-vis des variations spatiales du T2 au sein du cartilage articulaire [Watrín *et coll.*, 2001]. Ainsi, la cartographie semble préférentiellement être liée à l'architecture des fibres de collagène et, dans une moindre mesure, sensible aux variations du contenu en PG du cartilage.

Pourquoi la rotule ?

Dans le domaine de l'IRM ostéoarticulaire, il n'est pas rare que les travaux se focalisent en premier lieu sur l'étude du genou. Plusieurs facteurs argumentent ce choix :

- la maladie arthrosique est fréquemment retrouvée au niveau du genou et constitue un haut degré d'invalidité, notamment chez les populations âgées. La gonarthrose possède la prévalence la plus élevée en ce qui concerne ce type de pathologie chez l'Homme.
- Le genou, articulation portante, possède les cartilages les plus épais du corps humain, est rend ainsi leur examen plus aisé.

Notre présente étude exploratoire se limite à l'examen du cartilage articulaire de la rotule. Ce choix se justifie, lui aussi, par l'épaisseur conséquente du cartilage rotulien et par sa forme relativement planaire, ce qui en facilite la délimitation. D'autre part, l'équipe de Smith [Smith *et coll.*, 2001] décrit un comportement similaire (profil de T2) entre la rotule et les cartilages tibiaux et fémoral. Seule une différence de l'amplitude du profil est observable, puisque celui-ci est plus étendu dans le cas de la rotule.

Afin d'obtenir une échelle d'analyse plus résolutive des variations du temps de relaxation T2 au sein du cartilage rotulien, nous avons choisi de découper celui-ci en 8 régions d'intérêt. Pour ce faire, nous avons divisé la rotule en un versant médial et un versant latéral suivant la ligne verticale anatomique séparant les deux facettes rotuliennes. De même, chacune des facettes a été subdivisée en 4 régions selon la hauteur des 4 coupes IRM axiales imageant la rotule. Cette division arbitraire tient compte des deux facettes anatomiques de la rotule, et la subdivision en 4 tranches est, quant à elle, tributaire de l'épaisseur de coupe paramétrée lors que l'acquisition. Cette épaisseur de coupe a été réglée à 5 mm afin d'obtenir une durée d'acquisition compatible avec un examen IRM effectué sur des volontaires sains vigiles.

Le choix de ces 8 ROIs a permis une première approche régionale des valeurs de T2 du cartilage articulaire rotulien. Nous avons ainsi pu mettre en évidence des différences entre ces différentes régions, ainsi que des variations de T2 au sein d'une même ROI selon les différents groupes d'âge étudiés. Ainsi, nous avons pu remarquer que la ROI médio-inférieure latérale (MIL) est majoritairement touchée par les modifications de T2 liées à l'âge.

Comparativement, des études ont montré que cette région est en contact du fémur lors du mouvement [Eckstein *et coll.*, 2006d] et qu'elle est le siège prépondérant des sollicitations biomécaniques [Lammentausta *et coll.*, 2006].

Profils des valeurs de T2

Le cartilage articulaire est un tissu hautement spécialisé dont la matrice extracellulaire présente la particularité d'être orientée afin de remplir son rôle biomécanique. Il est bien établi que le cartilage articulaire révèle des variations de compositions histologiques et biochimiques de la surface articulaire à l'interface avec l'os sous-chondral. Ainsi, trois couches sont communément décrites :

- la couche superficielle, composée de fibres de collagène parallèles à la surface articulaire,
- la couche transitionnelle où les fibres sont arquées.
- La couche profonde comporte des fibres radicalement anisotropes puisqu'elles sont orientées perpendiculairement à la surface articulaire. Cette couche est également riche en protéoglycannes et eau.

Pour de nombreux auteurs [Mlynarik *et coll.*, 1996; Fragonas *et coll.*, 1998; Nieminen *et coll.*, 2001; Grunder, 2006], cette organisation matricielle est responsable de l'aspect 'laminaire' du cartilage observable avec les séquences IRM pondérées T2. Ainsi, la cartographie T2 a été développée afin de quantifier cette particularité architecturale. Pour réellement suivre l'évolution du temps de relaxation transversal selon la profondeur du cartilage, Mosher et Dardzinski [Dardzinski *et coll.*, 1997; Mosher *et coll.*, 2004a; Mosher *et coll.*, 2004b] ont proposé l'étude du T2 selon une approche 'profil de T2'. Ces auteurs font état d'une diminution du T2 de la superficie à la profondeur du cartilage et confortent ainsi nos propres observations.

Néanmoins, une divergence d'opinion existe quant à l'effet de l'angle magique (modification du signal RMN lorsque les fibres sont orientées à 55° par rapport au champ magnétique B_0). Pour Xia et ses collaborateurs [Xia, 2000; Xia *et coll.*, 2002], les valeurs de T2 sont extrêmement liées à l'orientation des fibres au sein de l'aimant, par contre Mosher [Mosher *et coll.*, 2001] minimise cet effet d'angle magique et suggère que les contenus hydrique et en PG sont les responsables majeurs des variations de T2 selon la profondeur du cartilage. L'équipe de Menezes [Menezes *et coll.*, 2004] penche, elle aussi, pour l'importance des interactions des molécules d'eau avec les fibres collagéniques et protéoglycanniques pour expliquer les variations spatiales du T2. De même, les travaux réalisés précédemment au sein de notre laboratoire [Watin-Pinzano *et coll.*, 2005], dans un modèle de déplétion en PG chez le rat, confortent cette hypothèse.

Limitations de l'étude

L'une des limitations principales de notre étude concerne le faible effectif étudié. En effet, du fait des critères de sélection strictes, il nous a été relativement ardu de constituer une cohorte de volontaires strictement sains. Une autre difficulté rencontrée est la durée de l'acquisition IRM. En effet, celle-ci était de 25 minutes, ce qui peut aisément devenir une source d'artéfacts de mouvements, les volontaires étant éveillés pendant toute la durée de l'examen. Le cas échéant, l'examen était soit renouvelé, soit purement et simplement éliminé de l'étude lorsqu'une nouvelle acquisition se révélait impossible. L'emploi de séquences rapides (Fast Spin Echo) auraient pu réduire ce problème mais l'utilisation de 4 'vrais' temps d'échos différent garantissent une interpolation plus fiable de la décroissance du signal RMN afin d'en déduire le T2.

5 Conclusion

Notre étude présente pour la première fois les valeurs du temps de relaxation transversal du cartilage et de l'os rotuliens chez l'Homme au cours du vieillissement asymptomatique. Ces travaux confirment l'existence d'un gradient des valeurs de T2 de la surface à la profondeur du cartilage articulaire. De plus, lié au phénomène de vieillissement, certaines régions de la rotule (notamment la région médio-inférieure latérale) subissent des variations plus importantes du T2. Nous émettons l'hypothèse que cette région est le siège préférentiel du développement ultérieur de pathologies chondrales. Cette étude délivre des valeurs de référence du cartilage articulaire sain afin de caractériser les modifications de T2 rencontrées dans un contexte pathologique ou pour utiliser la cartographie T2 pour évaluer le degré de réparation d'un cartilage traité (médicaments et ingénierie tissulaire à visée chondro-régénératrice).

Volumétrie par IRM à 1,5 T du cartilage rotulien sain chez l'Homme

Etude préliminaire

Euh... Sésame, ouvre-toi...?
Ah, zut...
Rotule, révèle-toi !



1 But

Cette étude préliminaire est destinée à estimer la faisabilité d'une méthode de quantification du volume du cartilage articulaire rotulien au sein d'une population de volontaires sains. D'autre part, nous avons couplé nos résultats volumétriques à une analyse de l'organisation matricielle du cartilage en utilisant la technique de cartographie du temps de relaxation (T2). De ce fait, nous recueillons des informations morphologiques et biochimiques complémentaires pour l'évaluation par IRM du cartilage articulaire chez l'Homme.

2 Matériels et méthodes

2.1 Recrutement des volontaires

Trente volontaires sains (11 femmes et 19 hommes) ont été sélectionnés après avoir satisfait à un questionnaire relatif aux contre-indications connues d'un examen IRM : stimulateur cardiaque, clip anévrysmal cérébral, implant cochléaire, présence de pièces métalliques dans des endroits sensibles (œil...), claustrophobie, incapacité de coopérer au protocole. Après avoir explicité le protocole aux volontaires, leur consentement éclairé est colligé. De plus, notre étude se limite à une population d'adultes (> 18 ans) sains, inclus dans le protocole uniquement s'ils ne pratiquent pas de sports violents, ne souffrent pas du genou étudié, ni n'ont eu un passé traumatique au niveau de ce genou. Un examen IRM préalable (séquence Echo de Spin pondérée T2) montrant strictement un aspect laminaire normal du cartilage articulaire est réalisé pour confirmer le caractère sain de l'articulation.

L'échantillon de la population étudiée a été stratifié en 5 classes selon l'âge des volontaires :

- groupe A : 18-25 ans, n=6
- groupe B : 26-35 ans, n=7
- groupe C : 36-45 ans, n=7
- groupe D : 46-55 ans, n=5
- groupe E : 56-65 ans, n=5.

Des données démographiques, telles la taille et le poids, ont été enregistrées au moment de l'examen IRM. De même, l'Indice de Masse Corporelle (IMC) a été calculé en divisant le poids (kg) des sujets par leur taille élevée au carré (m²).

2.2 Protocole IRM

La rotule des volontaires est examinée dans le plan axial à l'aide d'un appareil IRM corps entier de 1,5 Tesla (Signa Advantage HiSpeed, General Electric Medical System, Milwaukee, WI) et d'une antenne standard dédiée à l'étude du genou. Deux types de séquence sont paramétrés :

- Séquence destinée à la génération des cartographies de valeurs de T2 :

Séquences : écho de spin à 4 temps d'échos, pondération T2
 Temps de Répétition (TR) : 3500 ms
 Temps d'Echo (TE) : 16, 32, 48 et 64 ms
 Champ de vue : 16 x 16 cm
 Matrice d'acquisition : 256 x 192 pixels
 Résolution dans le plan : 0,47 x 0,47 mm
 Epaisseur de coupe : 5 mm
 Espace inter-coupes (GAP) : 0,5 mm
 Nombre de coupes : 48
 Durée d'acquisition : 25 minutes

Les valeurs du temps de relaxation transversale (T2) ont été calculées, pixel par pixel, à partir des quatre échos en utilisant un algorithme d'ajustement de courbe employant un modèle mono-exponentiel décroissant du signal T2. Les valeurs de T2 calculées pour chaque pixel ont été moyennées selon la profondeur du cartilage, offrant ainsi une valeur de T2 pour de la globalité du cartilage étudié : le T2 global (T2g).

- Séquence destinée à l'analyse volumétrique du cartilage articulaire :

Séquence : Echo de gradient 3D, pondération T1, suppression du signal de la graisse
 Temps de Répétition (TR) : 17,7 ms
 Temps d'Echo (TE) : 6,5 ms
 Angle de bascule : 15°
 Champ de vue : 12 x 12 cm
 Matrice d'acquisition : 320 x 320 pixels
 Résolution dans le plan : 0,47 x 0,47 mm
 Epaisseur de coupe : 2 mm
 Nombre d'excitations : 1,5
 Nombre de coupes : 60 coupes jointives
 Durée d'acquisition : 10 minutes

A partir de ces coupes volumiques axiales, le cartilage rotulien est segmenté manuellement à l'aide du logiciel Photoshop© (Adobe Photoshop 6.0.1, Adobe Systems Incorporated) et de son outil de segmentation semi-automatique 'lasso magnétique' [Mortensen *et coll.*, 1998; Falcao *et coll.*, 2000b]. Le volume cartilagineux est déterminé en intégrant l'ensemble des voxels segmentés. De la même manière, le volume global de l'os rotulien a été calculé.

La rotule a été numériquement divisée en 8 régions d'intérêt (ROI) : les facettes médiale et latérale étant subdivisée en 4 coupes axiales d'égale hauteur. Cette étape nous a permis d'étudier les valeurs de T2g ainsi que le volume cartilagineux pour l'ensemble de la rotule, mais aussi pour chacune des 8 ROIs.

3 Résultats

En utilisant le protocole IRM concernant la séquence d'acquisition volumique et la méthode de segmentation choisie, nous avons quantifié le volume de différents fantômes-tests afin de

déterminer le degré d'exactitude que nous pouvions atteindre dans notre configuration. Pour déterminer le degré d'exactitude, nous avons calculé l'erreur de justesse J (erreur globale résultant de toutes les causes pour chacun des résultats de mesure pris isolément, Eq. 5) ainsi que l'erreur limite de fidélité F (erreur définissant la dispersion des résultats Eq. 6).

$$J = \bar{v} - V$$

avec J : erreur de justesse Eq. 5
 \bar{v} : moyenne arithmétique des mesures
 V : volume du fantôme-test, considéré comme référence.

$$F = \pm \frac{V_{\max} - V_{\min}}{2}$$

avec F : erreur limite de fidélité Eq. 6
 V_{\max} : volume mesuré maximal pour un fantôme-test donné
 V_{\min} : volume mesuré minimal pour un fantôme-test donné.

Ainsi, nous obtenons une erreur de justesse de -1,085 mL (soit 0,1 %), et une valeur de $\pm 8,565$ mL (soit 0,9 %) pour l'erreur limite de fidélité, définissant une exactitude de la méthode tout à fait acceptable aux vues des précisions relevées en IRM par d'autres auteurs pour la quantification volumique du cartilage articulaire [Peterfy *et coll.*, 1994b; Peterfy *et coll.*, 1995].

Concernant les données relatives aux volontaires participant à l'étude, aucune différence significative n'a été relevée au niveau de l'IMC et du volume osseux entre les 5 groupes de volontaires. Sans atteindre le niveau de significativité, nous avons noté une tendance de réduction du volume cartilagineux avec l'âge ($r = -0,25$). Dans le même temps, une corrélation modérée mais significative est relevée entre le T2 global et l'âge ($r = 0,46$, $p = 0,01$).

D'un autre côté, l'IMC ($r = 0,52$, $p = 0,0028$) et le volume osseux ($r = 0,69$, $p < 0,0001$) se révèlent corrélés de manière significative au volume cartilagineux global.

L'étude des ROIs montre un volume cartilagineux plus abondant au centre de la rotule, et plus particulièrement sur la facette latérale. De même, les variations de T2 liées à l'âge sont plus prononcées dans cette zone rotulienne centrale. Cependant, la faible corrélation entre la perte de volume cartilagineux et l'âge des volontaires reste non significative.

4 Discussion et conclusion

Notre étude révèle des variations des valeurs de T2 du cartilage liées à l'âge, au niveau de la rotule de sujets sains. Ces résultats sont conformes à d'autres études menées par l'équipe de Mosher [Mosher *et coll.*, 2000; Mosher *et coll.*, 2004b]. Paradoxalement, aucune réelle perte de volume cartilagineux ne fut révélée. Le temps de relaxation T2 du cartilage articulaire est en relation avec le contenu hydrique du tissu [Liess *et coll.*, 2002]. Afin de mesurer ce temps de relaxation avec précision, la technique IRM doit être adaptée : usuellement, une acquisition écho de spin multi-écho est réalisée, puis le niveau de signal est ajusté selon un modèle exponentiel décroissant.

Le temps de relaxation T2 du cartilage articulaire caractérise les interactions existant entre les liquides (eau) de la matrice extracellulaire et la composante solide (réseau collagénique et contenu en protéoglycannes [Watrino-Pinzano *et coll.*, 2005]). Dans ce tissu biologique, il existe

plusieurs pools distincts de molécules d'eau : les molécules associées aux fibrilles de collagène, les molécules liées par attractions électrostatiques aux chaînes de protéoglycannes, ainsi que les molécules d'eau libre dans la matrice. C'est ce dernier pool qui est majoritairement responsable de l'intensité du signal relevé en IRM pour le cartilage articulaire, puisqu'il reflète le degré de liberté qu'a l'eau à se mouvoir au sein de la matrice du cartilage. Ce degré de liberté est lié au niveau d'organisation de la matrice et à la teneur en macromolécules (collagènes, protéoglycannes) du cartilage articulaire.

Par l'emploi de la technique de cartographie, nous obtenons des images codées en couleurs où chaque valeur de pixel correspond un temps de relaxation T2 [Mosher *et coll.*, 2004a]. Certains auteurs ont menés des études cliniques afin de mesurer la distribution spatiale du T2 au sein du cartilage articulaire. Ainsi, chez l'Homme, il apparaît que le vieillissement est associé à une augmentation des temps de relaxation T2 dans la zone transitionnelle du cartilage rotulien [Mosher *et coll.*, 2000]. De plus, dans un contexte pathologique, des augmentations focales de T2 au sein du cartilage sont associées à des dommages matriciels, notamment en terme de dégradation du réseau collagénique [Goodwin *et coll.*, 1998].

Concernant notre présente étude, nous pouvons postuler que les modifications de T2 observées sont le reflet d'un processus « physiologique » de dénaturation matricielle liée à l'âge, et non pas à un phénomène pathologique de type arthrosique, puisque les volontaires ont été inclus selon des critères strictes de normalité de leur cartilage articulaire. Toujours d'après nos résultats, nous pouvons préciser que dans le cas de volontaires sains, l'augmentation du T2 liée à l'âge est plus sensible et site-dépendante que l'analyse des variations volumiques. Ceci nous laisse à penser que le temps de relaxation T2 reflète des remaniements asymptomatiques précoces du cartilage articulaire (variations du contenu hydrique, modifications du réseau collagénique et des protéoglycannes) bien avant l'apparition d'impacts volumiques (pertes de cartilage).

En conclusion, additionnellement à l'analyse volumétrique du cartilage articulaire [Eckstein *et coll.*, 2004a; Raynauld *et coll.*, 2004; Amin *et coll.*, 2005; Cicuttini *et coll.*, 2005], la cartographie T2 permet d'améliorer le suivi du vieillissement du cartilage [Mosher *et coll.*, 2004b] et semble se placer comme méthode de choix dans l'évaluation de l'efficacité de nouvelles modalités thérapeutiques (produits pharmacologiques à visée chondro-régénératrice, ingénierie cellulaire et tissulaire du cartilage). Enfin, cette étude préliminaire montre la possibilité technique de l'analyse volumétrique du cartilage articulaire, puisque le couplage acquisition IRM / segmentation manuelle offre une bonne exactitude des mesures.

**Etude de l'architecture matricielle et de la morphologie du
cartilage rotulien sain chez l'Homme**

Confrontations T2 / Volume lors du vieillissement



1 But

Le but de cette étude est de mettre à profit les potentialités de l'IRM pour évaluer et sonder le cartilage articulaire rotulien. Ce présent travail est focalisé sur une population saine afin de quantifier les valeurs morphologiques (volume) et biochimiques (temps de relaxation transversal T2) dans des conditions physiologiques, au cours du processus de vieillissement chez l'Homme. A notre connaissance, cette étude est la première à conjuguer relevés volumétriques et biochimiques du cartilage rotulien au niveau d'une population saine âgée de 18 à 65 ans.

2 Matériels et méthodes

2.1 Constitution de la cohorte des volontaires sains

Notre étude a bénéficié de l'approbation de la Commission de Recherche Clinique de Nancy. De même, le consentement éclairé des volontaires a été recueilli avant leur incorporation au sein de la cohorte. Les sujets présentant les contre-indications usuelles vis-à-vis des procédures IRM (stimulateur cardiaque, implants métalliques, claustrophobie...) sont exclus de l'étude. De plus, nous avons écartés les sujets souffrant de gonalgies ou ayant un passé traumatique du genou (pratique de sport violent, fortes sollicitations articulaires professionnelles...). Les données démographiques telles l'âge, le sexe, la taille et le poids sont colligées, et l'indice de masse corporelle (IMC en kg/m²) est calculé pour chaque sujet (tableau 4).

Dans le cadre de ces travaux portant uniquement sur une population saine, les volontaires sont également inclus dans l'étude selon l'aspect laminaire et régulier de leur cartilage patellaire visualisé sur une IRM préliminaire (séquence Spin Echo pondérée T2 (T2-wSE)). Seuls les sujets présentant strictement une couche cartilagineuse supérieure régulière et en hyposignal (absence de fibrillations cartilagineuses de surface), ainsi qu'une couche interne sans anomalies structurales, sont retenus pour les investigations RMN. Ainsi, 30 volontaires sains ont subi un examen IRM de leur genou asymptomatique, et sont répartis en 5 catégories selon leur âge : A: 16-25 ans (n=6), B: 26-35 ans (n=7), C: 36-45 ans (n=7), D: 46-55 ans (n=5), E: 56-65 ans (n=5).

2.2 Protocoles IRM

Avant chaque examen IRM, les volontaires respectent une période de 30 minutes de repos en position assise de façon à limiter les influences biomécaniques de compression au niveau du cartilage articulaire [Eckstein *et coll.*, 1998b; Eckstein *et coll.*, 1999]. Le sujet est ensuite placé en décubitus dorsal, et une antenne émettrice / réceptrice spécifique est placée au niveau du genou.

L'acquisition IRM du genou est effectuée dans le plan axial avec un scanner clinique corps entier de 1,5 Tesla (Signa Excite, GE Medical Systems, Milwaukee, WIS).

Deux types de séquences d'acquisition ont été paramétrés afin de mener à bien cette étude :

2.2.1 Séquences destinées à la génération de cartographie T2 :

Quatre séquences Spin Echo en pondération T2 (T2-wSE) successives sont réalisées avec un temps de répétition constant à 3500 ms et les quatre temps d'écho suivants : 16, 32, 48 et 64 ms. Le champ de vue est de 16 cm², la matrice d'acquisition est fixée à 256 par 192 pixels, la résolution dans le plan est de 0,47 par 0,47 mm, l'épaisseur de coupe choisie est de 5 mm avec un GAP de 0,5 mm. Un total de 48 coupes est réalisé, induisant une durée totale d'acquisition de 25 minutes.

Ces séquences T2-wSE ont une double finalité :

- premièrement, elles permettent de contrôler l'aspect du cartilage rotulien, afin d'inclure ou exclure les volontaires selon les critères asymptomatiques mentionnés précédemment,
- dans un second temps, les données issues de ces quatre séquences vont permettre la constitution ultérieure de cartographies de valeurs de T2.

2.2.2 Séquence volumique :

Une séquence volumique Echo de Gradient en pondération T1 (T1-w GE) est effectuée pour obtenir un rendu tridimensionnel du genou scanné. Les paramètres de cette séquence sont adaptés de travaux répertoriés dans la revue de la littérature faite par Eckstein et coll. [Eckstein et coll., 2004a] :

Temps de Répétition :	17,7 ms
Temps d'Echo :	6,5 ms
Angle de bascule :	15°
Champ de vue :	12 par 12 cm
Taille de la matrice d'acquisition :	320 par 320 pixels
Résolution dans le plan :	0,23 par 0,23 mm
Epaisseur de coupe :	2 mm
Nombre de coupe :	60 coupes axiales jointives

De plus, nous avons opté pour le choix de la suppression du signal de la graisse [Imhof et coll., 2002], qui permet d'obtenir un meilleur contraste entre le cartilage et les autres constituants articulaires, notamment l'os et le liquide synovial. Enfin, le nombre d'excitation fut établi à 1,5 de manière à accroître le rapport signal sur bruit des IRM. La durée de l'acquisition était de 9 minutes.

2.3 **Valeurs T2 du cartilage rotulien**

Pour la génération des cartographies des valeurs de T2, nous avons sélectionné 4 coupes axiales, couvrant l'intégrité de la hauteur rotulienne. Nous avons choisi de nommer ces 4 coupes selon leur position anatomique : proximale, médio-supérieure, médio-inférieure et distale.

A l'aide d'une interface graphique développée sous Matlab® (Mathworks Inc, Natick, MA), le cartilage articulaire rotulien est segmenté manuellement sur chacune des 4 coupes (figure 28 du chapitre concernant la cartographie T2).

Rappelons que pour chaque coupe, nous disposons de quatre temps d'écho, offrant ainsi quatre contrastes différents par coupe. En sélectionnant le premier écho (TE = 16 ms), nous observons un contraste marqué entre le cartilage articulaire et l'os sous-chondral. Cette particularité permet une bonne délimitation de la partie profonde du cartilage. Sur le quatrième écho (TE = 64 ms), le fort contraste existant entre le fluide synovial (hypersignal) et le cartilage rotulien permet de tracer aisément la limite cartilagineuse supérieure. Par fusion automatique des deux tracés, nous obtenons alors la délimitation du cartilage. Consécutivement, sur chacune des quatre coupes, le cartilage segmenté est subdivisé en deux parties (latérale et médiale) selon une droite perpendiculaire à la surface osseuse et passant par le point d'inflexion de la rotule. Grâce à cette étape de segmentation, nous récupérons *in fine* des masques binaires correspondant au cartilage articulaire total, ainsi qu'à huit régions d'intérêt (ROI) couvrant l'ensemble de la rotule (figure 31.A).

A l'instar d'une précédente étude, nous avons procédé au calcul des cartographies T2 du cartilage articulaire. Dans le contexte du traitement numérique de l'image et en optant pour un modèle mono-exponentiel décroissant [Dardzinski *et coll.*, 1997], l'intensité $S_{(t)}$ du signal RMN peut être exprimée selon la relation :

$$S_{i,j}(t) = S_{0i,j} \times \exp\left(-\frac{t}{T_{2i,j}}\right) \quad \text{Eq. 7}$$

où $S_{0i,j}$ est l'intensité du signal au temps $t=0$ pour le pixel (i,j) , et $T_{2i,j}$ étant le temps de relaxation transversal pour le pixel (i,j) .

Grâce à cette relation mathématique, il nous est possible de réaliser, pixel à pixel, une interpolation des valeurs de signal obtenues pour chaque TE, et ainsi déduire la valeur T2 pour chaque voxel du cartilage. Enfin, nous calculons les valeurs de T2 global (T2g, *in extenso* les valeurs de T2 moyennées selon la profondeur du cartilage) pour le cartilage rotulien entier (T2g) ainsi que pour chacune des huit ROIs pré-établies (figure 32).

2.4 Volume cartilagineux (VC) et osseux (VO) de la rotule

La première étape nécessaire à l'obtention du volume cartilagineux rotulien (VCg) consiste en une segmentation de ce dernier. Le choix de la technique employée est motivée par la nécessité d'une reproductibilité importante et de diminuer le temps imparti à cette tâche (40 coupes à segmenter). Après une phase de test de différentes méthodes de segmentation, notre choix s'est porté vers une solution '*live-wire*', méthode reprise dans l'outil '*lasso magnétique*' du logiciel Photoshop© (Adobe Photoshop 6.0.1, Adobe Systems Incorporated).

Cette technique de segmentation semi-automatique, dite de '*ciseaux intelligents*' [Mortensen *et coll.*, 1998; Falcao *et coll.*, 2000b; Gougoutas *et coll.*, 2004b] est basée sur le calcul des gradients de l'image. Brièvement, les valeurs de gradients renseignent sur les variations de contraste existant entre les pixels de l'image. Ainsi, dans les zones de l'image où les nuances de gris sont fortement différentes (interface os-cartilage, cartilage-synovie) les valeurs de gradients sont élevées. D'autre part, une table de coûts est générée, octroyant un coût en termes de distance en pixel entre différentes valeurs maximales de gradients. Le coût des déplacements inter-pixels est d'autant plus grand que la distance entre deux forts gradients est importante. L'utilisateur trace un contour rapide sur l'image originale et l'ordinateur optimise ce tracé en minimisant les déplacements en termes de coûts et en le plaquant sur les valeurs crêtes des

gradients locaux (figure 31.B). Ainsi, le tracé manuel de l'utilisateur se voit littéralement attiré par le gradient le plus fort et le moins coûteux (*in extenso* le plus proche).

Le cartilage articulaire est segmenté, coupe par coupe, dans le plan axial. Le volume cartilagineux global est ensuite obtenu par intégration de chaque voxel segmenté (en tenant compte de ses dimensions réelles). De la même manière, nous calculons le volume global de l'os rotulien (VO) (figure 31.C et D). De plus, les huit ROIs établies dans le paragraphe précédent sont réutilisées engendrant huit volumes régionaux du cartilage rotulien.

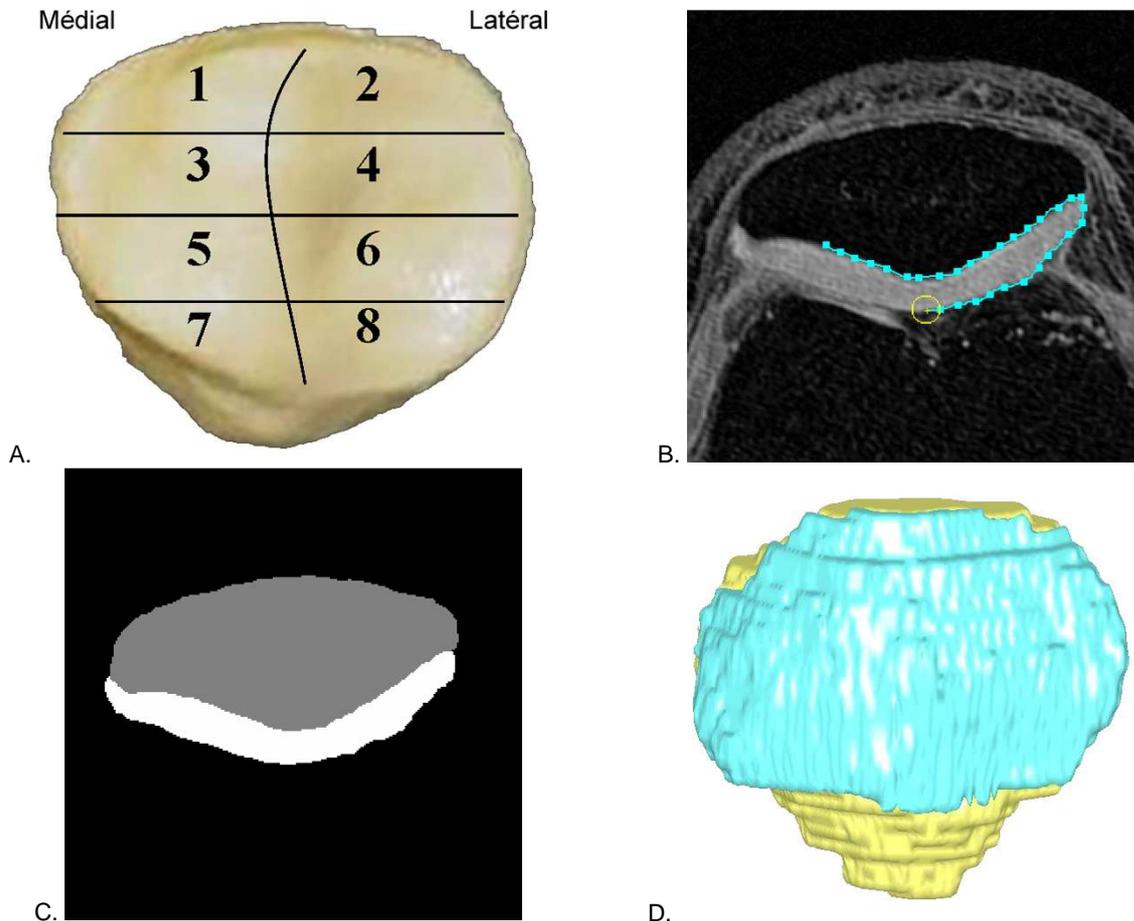


Figure 31. A. Face postérieure d'une rotule droite sur laquelle sont représentées les 8 régions d'intérêts permettant l'analyse régionale du volume et du T2 du cartilage articulaire. B. 'Ciseau intelligent' (lasso magnétique) d'Adobe Photoshop permettant la segmentation semi-automatisée du cartilage et de l'os rotulien sur les IRM axiales. C. Représentation, dans le plan axial, du cartilage (blanc) et de l'os (gris) rotuliens après l'étape de segmentation. D. Reconstruction 3D du cartilage (cyan) et de l'os (jaune) rotulien après segmentation de l'ensemble des coupes axiales couvrant la rotule.

2.5 Analyse statistique

Après une période d'apprentissage de lecture et de segmentation, les IRM sont segmentées à deux reprises afin de déterminer la reproductibilité intra-lecteur. Les coefficients de variation [Guer *et coll.*, 1995] sont de 1,38 et 1,08 % respectivement pour les volumes osseux et cartilagineux. Pour information, la reproductibilité des valeurs de T2 est comparable à celle obtenue lors d'une étude précédente, et est de l'ordre de 92 %. Nous avons utilisé les tests statistiques de corrélation de Spearman, l'ANOVA ainsi que le test t de Student pour l'analyse de nos résultats. Le seuil de significativité des tests est fixé à 5 %. L'ensemble des opérations statistiques a été réalisé avec le logiciel *Statistical Analysis System* (version 9.1, SAS Institute, NC).

3 Résultats :

3.1 Influences anthropométriques

Nous n'avons constaté aucune influence du sexe, ni pour les valeurs de T2 régionales, ni pour les valeurs globales. Cependant, les hommes possèdent un volume cartilagineux plus important que les femmes ($p=0,002$). Cette différence reste vraie pour l'analyse volumique régionale : ROIs 1 à 6 ($0,001 < p < 0,03$).

Les personnes en surpoids ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) ont un volume cartilagineux global plus important ($p=0,04$), mais aucune répercussion n'est décelée au niveau des valeurs de T2 du cartilage. Pour l'analyse des ROIs, aucune influence significative des forts IMC n'est notée, que ce soit pour les volumes ou les valeurs de T2.

Néanmoins, nous avons noté une corrélation modérée mais significative ($r=0,48$, $p=0,04$) entre l'IMC et le volume osseux patellaire.

Groupe	n	IMC (kg/m ²)	T2g (ms)	VC (mL)	VO (mL)	Coupe IRM	T2g régional (ms)		VC régional (mm ³)	
							Médial	Latéral	Médial	Latéral
A	6	24.37 (3.01)	27.82 (1.63)	3.68 (0.83)	20.65 (4.17)	proximale	27.53 (3.25)	29.64 (3.63)	207.60 (88.87)	347.21 (129.33)
						médio-supérieure	26.77 (2.70)	28.22 (2.61)	508.68 (192.00)	735.35 (237.86)
						médio-inférieure	25.35 (2.31)	27.16 (2.76)	570.12 (119.83)	785.40 (215.53)
						distale	27.35 (2.36)	29.68 (3.06)	228.10 (98.96)	324.68 (118.74)
B	7	25.10 (5.72)	30.16 (2.13)	3.39 (1.01)	16.80 (4.02)	proximale	29.04 (4.00)	29.95 (5.08)	252.02 (110.84)	333.32 (123.49)
						médio-supérieure	28.83 (4.64)	29.59 (3.63)	524.21 (240.90)	710.13 (331.68)
						médio-inférieure	28.02 (3.48)	28.40 (2.28)	515.04 (172.12)	667.30 (189.87)
						distale	34.24 (6.52)	35.42 (3.98)	217.83 (45.22)	240.36 (38.85)
C	7	22.72 (2.59)	27.21 (2.60)	3.00 (0.68)	15.29 (1.88)	proximale	28.02 (2.95)	25.65 (3.54)	161.67 (75.25)	320.60 (81.55)
						médio-supérieure	28.01 (3.53)	25.40 (3.66)	461.52 (183.11)	628.09 (211.04)
						médio-inférieure	25.32 (2.94)	24.86 (2.35)	457.97 (130.80)	567.07 (158.35)
						distale	29.80 (3.73)	31.00 (4.17)	211.62 (112.20)	261.97 (120.89)
D	5	23.21 (2.74)	30.47 (4.06)	3.18 (0.89)	17.74 (7.07)	proximale	32.75 (4.71)	33.27 (4.81)	162.69 (72.45)	307.03 (146.85)
						médio-supérieure	30.59 (4.24)	30.90 (5.24)	435.91 (144.44)	610.01 (222.66)
						médio-inférieure	29.06 (4.92)	29.27 (4.98)	479.39 (121.59)	608.77 (166.27)
						distale	28.11 (3.54)	28.02 (4.28)	214.89 (53.81)	362.47 (103.12)
E	5	25.86 (4.01)	31.93 (2.06)	2.90 (0.30)	17.43 (1.96)	proximale	33.78 (3.11)	32.65 (2.49)	172.85 (26.74)	259.98 (46.30)
						médio-supérieure	31.72 (1.53)	30.23 (4.28)	399.57 (68.93)	514.49 (102.32)
						médio-inférieure	31.52 (3.51)	32.62 (2.75)	434.16 (63.92)	615.34 (195.88)
						distale	31.94 (2.72)	32.54 (6.64)	179.11 (129.47)	328.14 (80.95)
Tous	30	24.21 (3.79)	29.35 (2.96)	3.24 (0.79)	17.48 (4.23)	proximale	29.91 (4.18)	29.89 (4.68)	193.97 (85.13)	316.53 (107.33)
						médio-supérieure	29.00 (3.75)	28.67 (4.13)	470.98 (175.85)	646.74 (236.51)
						médio-inférieure	27.61 (3.95)	28.17 (3.81)	493.32 (130.46)	649.12 (189.17)
						distale	30.31 (4.61)	31.41 (4.87)	211.26 (87.76)	300.54 (101.29)

Tableau 4 : résumé des données démographiques ainsi que des valeurs volumiques et de T2 de la population saine étudiée. Les valeurs sont exprimées en termes de moyennes et d'écart-types.

3.2 Valeurs T2 moyennes du cartilage patellaire

L'analyse ANOVA révèle des différences significatives entre les 5 groupes d'âge, aussi bien dans les valeurs de T2 globales (rotule entière, $p=0,02$) que dans les régions d'intérêt suivantes : ROI 1 et ROI 2 ($p=0,04$), ROI 5 ($p=0,03$) et ROI 6 ($p=0,01$). Les valeurs régionales de T2 sont reproduites selon une échelle de couleurs sur la figure 32. Des coefficients de corrélation significatifs existent entre l'âge et le T2 global ($r=0,46$, $p=0,01$) ainsi que le T2 régional de différentes ROIs (ROI 1: $r=0,52$, $p=0,003$; ROI 3: $r=0,52$, $p=0,003$; ROI 5: $r=0,49$, $p=0,006$; ROI 6: $r=0,43$, $p=0,017$). Aucune corrélation significative n'est notée, ni entre les T2 globaux ou régionaux et l'IMC, ni avec le volume patellaire osseux.

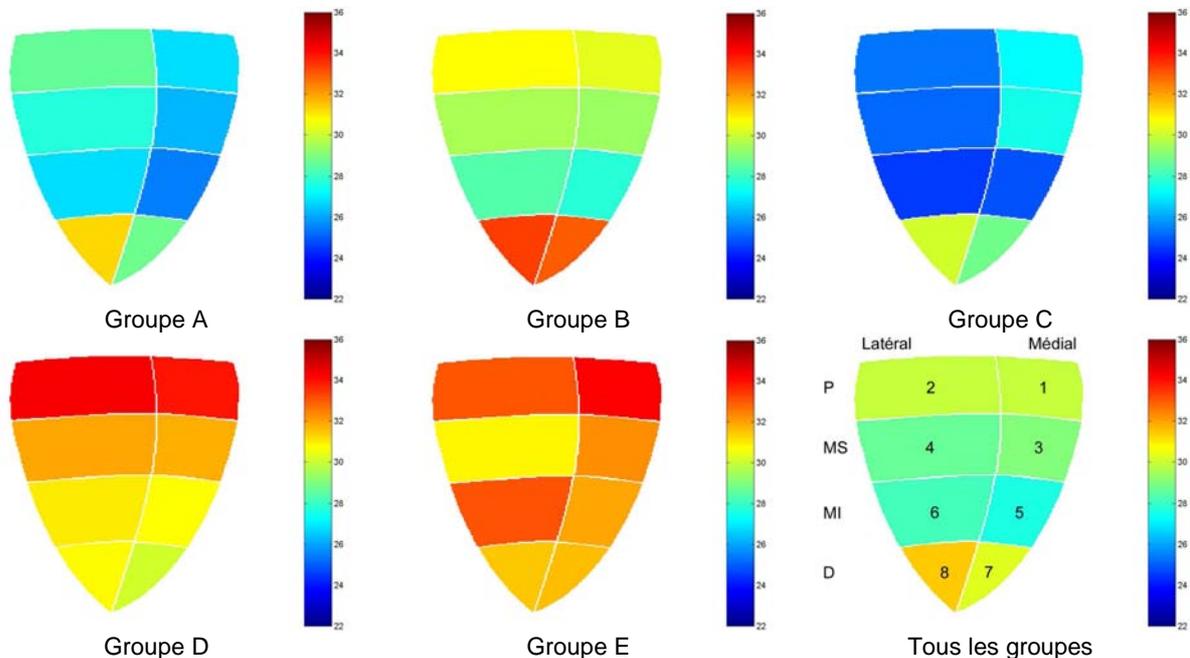


Figure 32. Représentation de l'évolution du temps de relaxation T2 du cartilage rotulien selon les 8 régions d'intérêts en fonction de l'âge des volontaires. Les valeurs de T2 sont codées selon une échelle allant de 22 (bleu) à 36 ms (rouge).

3.3 Volume du cartilage rotulien

Aucune différence significative n'est révélée par l'analyse ANOVA pour les volumes globaux et régionaux entre les cinq groupes d'âge. Cependant, des corrélations importantes sont observées entre le volume osseux patellaire et les volumes cartilagineux globaux ($r=0,7$, $p<0,0001$) et régionaux (ROI 1: $r=0,56$, $p=0,001$; ROI 2: $r=0,73$, $p<0,0001$; ROI 3: $r=0,72$, $p<0,0001$; ROI 4: $r=0,71$, $p<0,0001$; ROI 5: $r=0,51$, $p=0,004$, ROI 6: $r=0,46$, $p=0,01$). Nous avons également relevé des corrélations significatives entre IMC et volumes cartilagineux global ($r=0,54$, $p=0,002$) et régionaux (ROI 1: $r=0,58$, $p=0,001$; ROI 2: $r=0,47$, $p=0,009$; ROI 3: $r=0,49$, $p=0,006$; ROI 4: $r=0,53$, $p=0,002$; ROI 5: $r=0,46$, $p=0,01$). Enfin, une faible perte volumique en fonction de l'âge est notée en ROI 5 ($r=-0,36$, $p=0,05$).

4 Discussion :

Effectif de l'étude

A notre connaissance, ce présent travail constitue la première étude combinant l'analyse volumétrique et la cartographie des temps de relaxation T2 au niveau du cartilage rotulien, chez une population humaine saine, âgée de 16 à 65 ans. L'une des difficultés majeures rencontrées lors de cette étude était précisément le fait de n'inclure que des personnes strictement saines sur le plan ostéoarticulaire. En effet, nous avons pu observer que bon nombre de volontaires présentaient un signal IRM anormal de leur cartilage rotulien lors de l'acquisition T2-wSE. Cette observation était d'autant plus surprenante que les volontaires ne se plaignaient jamais d'aucune douleur ni ne présentaient de gêne à la marche. D'autre part, nous avons exclus de l'étude les données IRM pour lesquelles un doute persistait quant au statut strictement sain du cartilage patellaire (irrégularités de signal dans l'aspect laminaire du cartilage). Ainsi, ce critère sévère de sélection ne nous a permis de n'inclure qu'une trentaine de volontaires d'âges différents pour les relevés IRM volumiques et 'biochimiques'.

Choix des séquences

- Cartographie T2 :

Concernant la séquence IRM destinée à la génération des cartographies T2, nous avons opté pour une acquisition *Spin Echo* à 4 temps d'échos différents. Ces 4 TE ont été mis à profit pour calculer les temps de relaxation transversaux en employant un modèle mono-exponentiel décroissant classiquement utilisé dans le domaine de l'imagerie T2 du cartilage articulaire [Dardzinski *et coll.*, 1997]. En effet, le choix de 4 TE permet une interpolation satisfaisante de la courbe de décroissance signal RMN, tout en procurant une durée totale de la séquence compatible avec une acquisition réalisée sur des volontaires vigiles. Il pourrait sembler judicieux d'employer un nombre de TE supérieur, mais ceci risquerait d'engendrer, *in fine*, des artefacts de mouvement du fait de la durée de l'acquisition. Une autre alternative intéressante serait d'utiliser des séquences plus rapides (*fast spin echo*) ou multi-coupes multi-échos qui autorisent l'acquisition à nombre plus élevé de TE, tout en diminuant considérablement la durée de l'examen IRM. Cependant, les données IRM comptabilisées dans cette étude s'échelonnent sur plusieurs années, et à l'époque, de telles séquences n'étaient pas encore pleinement opérationnelles. Nous avons donc choisi de conserver le même protocole IRM pour l'ensemble de nos travaux. De plus, l'utilisation de séquences multi-coupes multi-échos peuvent engendrer une incertitude dans le calcul du T2 [Maier *et coll.*, 2003; Mendlik *et coll.*, 2004].

- Volume :

La séquence IRM employée pour obtenir le volume du cartilage et de l'os rotuliens a été calquée sur les travaux d'Eckstein [Eckstein *et coll.*, 2004a]. De part ses paramètres, cette séquence 3D en écho de gradient est particulièrement adaptée à la visualisation du cartilage articulaire et en autorise une segmentation facilitée. En effet, les images recueillies montrent un excellent niveau de contraste et le fait d'avoir utilisé un nombre d'excitation (NEX) de 2 garantit un bon rapport signal sur bruit. Enfin, l'emploi de la saturation des signaux issus de la graisse maximise la différenciation du cartilage vis-à-vis d'autres constituants tissulaires de l'articulation (muscles, interface cartilage/os...).

Sur un autre versant, le choix d'une reconstruction des données dans le plan axial, tant pour la cartographie T2 que pour le volume, permet de réduire les problèmes de volumes partiels et limite ainsi les biais pouvant survenir lors de la segmentation des tissus d'intérêts.

Choix de la méthode de segmentation pour le calcul volumique

L'acquisition 3D T1-w GE employée pour obtenir le volume de l'os et du cartilage de la rotule nécessite le recours à des coupes fines (2 mm). Ceci engendre un nombre d'images relativement conséquent pour couvrir l'intégralité de la hauteur de la patella. Afin de réduire le temps consacré à l'étape de segmentation, tout en conservant un haut niveau de reproductibilité, nous avons opté pour une méthode semi-automatique. Pour ce faire, nous avons tout d'abord testé des méthodes couramment employées (seuillages adaptatifs, contours actifs et 'snakes', croissance de région... [Stammberger *et coll.*, 1999c; Ghosh *et coll.*, 2000; Eckstein *et coll.*, 2004b; Liang *et coll.*, 2006b]) et les avons comparées à la segmentation manuelle. Cependant, malgré la qualité et le haut contraste des images, ces méthodes ne convenaient guère puisqu'elles nécessitaient de nombreuses post-corrections de la part de l'utilisateur. C'est alors que nous nous sommes intéressés à la technique dite de 'live-wire', méthode développée par Falcao et Mortensen [Mortensen *et coll.*, 1998; Falcao *et coll.*, 2000a; Falcao *et coll.*, 2000b]. Un tel outil est disponible dans le logiciel grand public Adobe Photoshop, sous la désignation de 'lasso magnétique'. Ce 'ciseau intelligent' permet de tracer intuitivement, en direct et sans recours à de fastidieuses post-corrections, les contours des objets au contraste marqué, comme ce fut le cas du cartilage et de l'os sur nos images. Le bon niveau de reproductibilité de nos mesures volumiques sont, par ailleurs, le gage de la qualité de cet outil, tout comme le montrent aussi les travaux de l'équipe de Gougoutas [Gougoutas *et coll.*, 2004a] et la revue d'Eckstein [Eckstein *et coll.*, 2006b].

A propos des résultats

Les gammes de valeurs issues de ces travaux, tant sur le versant de la cartographie T2 que les données volumiques, sont en concordance des valeurs retrouvées dans la littérature [Eckstein *et coll.*, 2006c]. Notre présente étude ne révèle pas de variations claires du volume cartilagineux entre les différents groupes d'âge. Seule une tendance à la réduction, à la limite de la significativité, est notée au niveau de la ROI 5 du cartilage rotulien. Contrastant avec ces résultats, d'autres études ont cependant révélé une perte de cartilage liée à l'âge [Ding *et coll.*, 2005a; Hanna *et coll.*, 2005]. Le phénomène rencontré dans notre étude peut s'expliquer par l'utilisation de critères stricts d'inclusion, en éliminant systématiquement les volontaires asymptomatiques mais présentant un signal IRM anormal de leur cartilage ou ceux pour lesquels un doute persistait quant au statut sain de leur cartilage.

Influence des paramètres anthropométriques

A l'instar de ce que montrent d'autres travaux [Cicuttini *et coll.*, 1999a; Faber *et coll.*, 2001a], les hommes présentent un volume cartilagineux significativement plus élevé que les femmes. En revanche, aucune différence entre les deux sexes n'est observée pour les valeurs de T2, que ce soit pour les valeurs globales ou régionales. Cependant les temps de relaxation T2 du cartilage rotulien sont variables selon l'âge des volontaires, comme nous avons déjà pu le constater en partie dans une précédente étude. La cartographie T2 est sensible à la qualité et l'organisation de la matrice extracellulaire du cartilage [Mosher *et coll.*, 2000; Mosher *et coll.*, 2004b; Rauscher *et coll.*, 2008]. En considérant l'ensemble de ces données, nous pouvons postuler que, même si les femmes présentent un cartilage rotulien moins abondant, celui-ci conserve une matrice organisée et totalement fonctionnelle durant le processus physiologique du vieillissement. Néanmoins, du fait de ce pool cartilagineux initial 'réduit', des pertes pathologiques de cartilage pourront se révéler délétères plus rapidement que pour les hommes. Ce phénomène est par ailleurs décrit dans des études portant sur des populations arthrosiques, d'où il ressort que le sexe féminin [Cicuttini *et coll.*, 1999b; Ding *et coll.*, 2008b], en association avec une activité physique réduite [Hinterwimmer *et coll.*, 2004; Eckstein *et coll.*, 2006d; Racunica *et coll.*, 2007] et un IMC élevé [Ding *et coll.*, 2008c], sont des facteurs prédictifs de l'arthrose.

Dans notre échantillon de population, nous n'avons pas observé d'influence de l'IMC sur le T2, seules un IMC ≥ 25 kg/m² est sensiblement lié à un volume cartilagineux global et à un volume osseux plus élevé. D'autres travaux [Cicuttini *et coll.*, 2002a; Ding *et coll.*, 2005b; Teichtahl *et coll.*, 2008] ont cependant démontré une influence notable du BMI sur le cartilage articulaire : des pertes chondrales accélérées ont été observées Ceci a lieu préférentiellement au sein d'une population déjà atteinte par la maladie arthrosique, ce qui n'est pas le cas dans nos travaux. Là encore, il semble que le cartilage articulaire ne soit pas altéré par un IMC élevé, tant qu'aucun processus pathologique ne s'est enclenché. Par contre, si une arthrose débutante se profile, l'indice de Quételet sera d'autant plus néfaste au cartilage qu'il est élevé. Afin de valider cette hypothèse, il serait intéressant de proposer le même type d'étude avec un nombre de personnes ayant un IMC ≥ 25 kg/m² plus conséquent (10 personnes sur 30 pour nos présents travaux).

Enfin, de manière intéressante, le volume osseux est bien corrélé au volume du cartilage patellaire, et semble se positionner comme un paramètre de normalisation utilisable pour comparer les données volumiques inter-individus en éluant ainsi les disparités de taille et corpulence des individus.

La zone critique

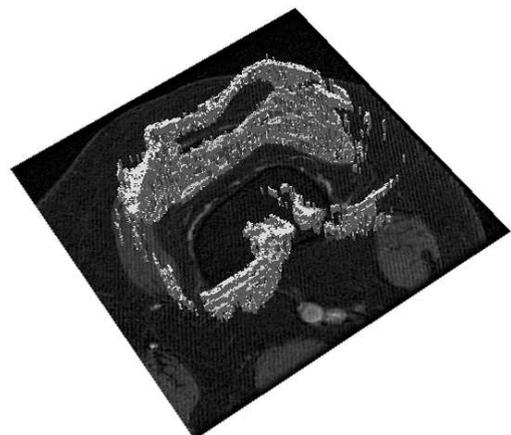
En dernier lieu, nous constatons que, mises à part les ROIs 1 et 2, seules les ROIs 5 et 6 sont concernées par des différences significatives entre les âges pour les valeurs de T2. De même, l'unique ROI touchée par une variation de volume est la ROI 5 (figure 31.A). Ces observations laissent à penser que les ROIs 5 et 6 constituent les zones préférentiellement et précocement touchées par des atteintes pouvant devenir pathologiques. Ces régions du cartilage se révèlent par ailleurs être les zones de contact de l'articulation fémoro-patellaire [Cohen *et coll.*, 1999b; Cohen *et coll.*, 1999a; Herberhold *et coll.*, 1999; Hinterwimmer *et coll.*, 2005; Eckstein *et coll.*, 2006e].

5 Conclusion :

Cette étude a permis de montrer les effets du vieillissement sur le cartilage articulaire rotulien au sein d'une population humaine exempte de signes pathologiques. Nous retiendrons que la cartographie T2 est une méthode sensible aux variations matricielles du cartilage articulaire et semble constituer un paramètre quantitatif prédictif de modifications structurales intra-cartilagineuses en amont d'éventuelles pertes volumiques ultérieures liées à l'âge. Il sera intéressant d'appliquer ce même type d'étude aux autres compartiments cartilagineux du genou (fémur et tibia), et d'étendre le champ exploratoire à des cas pathologiques ou à des populations ayant un risque plus élevé de développer une gonarthrose (IMC élevé...).

Etude de la membrane synoviale inflammatoire

Volumétrie et cartographie de rehaussement du signal RMN



1 But

Le but de ce travail est d'évaluer l'inflammation de la membrane synoviale en IRM au cours de la gonarthrose suivant 3 approches : une méthode de scores semi-quantitatifs, des mesures volumiques et, de façon innovante, une analyse de la dynamique de rehaussement du signal de la membrane synoviale inflammatoire. Les résultats obtenus sont ensuite confrontés aux données cliniques ainsi que biologiques macroscopiques et microscopiques.

2 Patients et Méthodes

2.1 Recrutement des patients

Nous avons recruté 15 patients (9 femmes et 6 hommes) satisfaisant les critères de gonarthrose selon les critères établis par le Collège Américain de Rhumatologie [Altman *et coll.*, 1986]. Les patients ont été inclus dans le cadre d'actes de soin (lavage articulaire), en raison de douleurs persistantes et d'une effusion articulaire chronique en dépit d'injections de corticostéroïdes et d'un traitement général. Les malades présentant de façon non-équivoque une pathologie liée à la formation de cristaux, à des lésions traumatiques ou à des troubles inflammatoires actifs ont été exclus de l'étude. L'âge des patients s'échelonne de 40 à 76 ans, pour une médiane de 58 ans. Avant le début de l'étude, le consentement éclairé des malades fut colligé.

Les données démographiques ont été enregistrées avant le début de l'étude. L'incapacité fonctionnelle et le niveau de douleur sont gradés selon l'index fonctionnel de Lequesne [Lequesne *et coll.*, 1987] et l'échelle visuelle analogue de la douleur (EVA). Des tests sanguins comprenant le dosage de la protéine C-réactive dans le sérum ainsi que la vitesse de sédimentation érythrocytaire ont été réalisés juste avant l'examen arthroscopique. Enfin, nous avons gradé les radiographies des patients selon la méthode de Kellgren et Lawrence [Kellgren *et coll.*, 1957].

2.2 Protocole et évaluations par IRM

2.2.1 Paramètres d'acquisition

Les 15 patients ont subi l'examen IRM au maximum 7 jours avant l'examen arthroscopique. Les acquisitions ont été réalisées avec un imageur de 1,5 T (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI) à l'aide d'une antenne émettrice-réceptrice adaptée à l'étude du genou, afin d'obtenir une uniformité du signal satisfaisante, le genou étant placé dans une position neutre au centre de l'aimant.

Nous avons choisi d'explorer par IRM la membrane synoviale selon une séquence d'acquisition écho de gradient 3D pondérée T1 (*fast multiplanar spoiled gradient recalled in the steady state*). Les paramètres de la séquence sont synthétisés dans le tableau ci-après. La première salve d'acquisition a été réalisée dans le plan axial sans injection de produit de contraste. Consécutivement, le patient restant allongé dans la même position, une dose de 0,1 mmol/kg de Gadolinium-diéthylènetriamine penta-acetic acid (Gd-DTPA, Guerbet, Aulnay,

France) est administrée via la veine cubitale et la même séquence d'acquisition est alors répétée. La durée totale de l'examen IRM (2 séquences et injection) est de 6 minutes et 12 secondes.

Temps de Répétition : 180 ms
 Temps d'Echo : 4,2 ms
 Angle de bascule : 90°
 Champ de vue : 12 par 12 cm
 Taille de la matrice d'acquisition : 256 par 256 pixels
 Résolution dans le plan : 0,23 par 0,23 mm
 Epaisseur de coupe : 3 mm
 Nombre de coupe : 14 coupes axiales jointives

2.2.2 Evaluation de la membrane synoviale par IRM

Nous avons étudié l'inflammation de la membrane synoviale selon 3 approches différentes à partir des images IRM obtenues : d'une part, nous avons utilisé un score semi-quantitatif validé pour la mesure de la synovite au cours de l'arthrose et d'autre part, nous avons quantifié le volume de la membrane synoviale inflammatoire (VMS). Enfin, nous apportons une originalité en effectuant, pour la première fois dans l'inflammation du genou arthrosique, des mesures quantitatives de vitesses de rehaussement de signal de la synovite. Trois seuils de vitesse ont été définis (rehaussement lent (LVMS), rehaussement intermédiaire (IVMS) et rehaussement rapide (RVMS)) qui ont ainsi permis de mesurer le volume de synovite correspondant à chacune de ces 3 valeurs de vitesse de rehaussement de signal, 186 secondes^{††} après l'injection du produit de contraste (Gd-DTPA).

2.2.2.a *Evaluation semi-quantitative : score IRM synovitique*

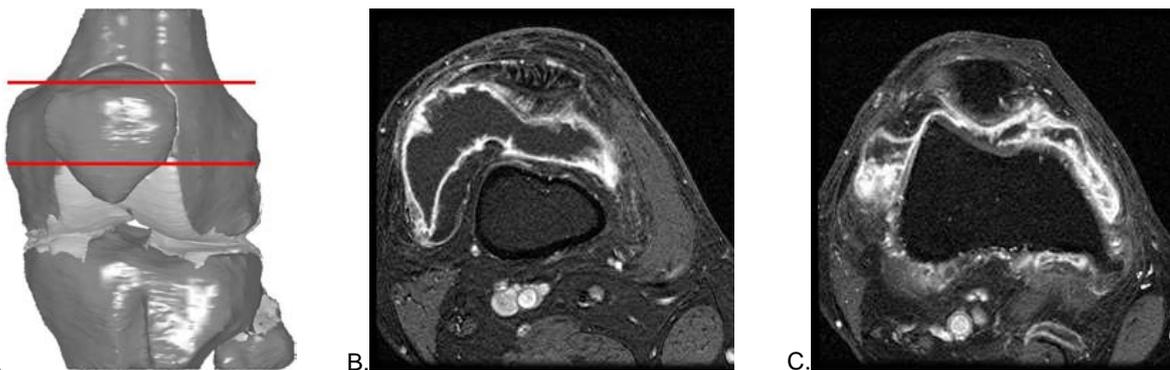


Figure 33. A. Représentation tridimensionnelle de l'articulation du genou. Les deux traits rouges horizontaux correspondent aux coupes IRM axiales supérieure (B) et inférieure (C) de la rotule choisies pour y déterminer le score de la membrane synoviale inflammatoire (en hypersignal sur les coupes). Ce sont également ces deux coupes qui constituent les limites anatomiques haute et basse dans l'analyse volumique de la membrane synoviale.

Nous avons choisis 2 coupes IRM sur lesquelles l'inflammation de la membrane synoviale a été scorée, il s'agit de la première et de la dernière coupe où la rotule est clairement identifiable (figure 33). La gradation de la sévérité de la synovite a été effectuée sur les

^{††} cf. paragraphe *Erratum*, page 160.

images issues de la séquence IRM post-injection suivant la méthode décrite par Loeuille et ses collaborateurs [Loeuille *et coll.*, 2005]. Sommairement, l'épaississement de la membrane synoviale inflammatoire est déterminé au niveau de 5 régions d'intérêt (ROIs) et gradé selon une échelle à 4 niveaux. Le score IRM synovitique peut ainsi varier de '0' (tissu synovial normal) à '15' (synovite diffuse la plus sévère).

2.2.2.b Mesure du volume de la membrane synoviale inflammatoire (VMS)

Dans le cadre de cette étude, nous avons été amenés à développer une interface informatique permettant le calcul du volume et des vitesses de rehaussement de la membrane synoviale inflammatoire. Le programme de traitement d'image a été implémenté en utilisant l'environnement de développement Matlab® (Mathworks Inc, Natick, MA).

Afin de délimiter une zone anatomique identifiable entre les différents patients, seules les coupes IRM sur lesquelles la rotule est visible furent conservées pour les calculs volumiques (figure 34.A et B.). Dans un premier temps, nous procédons à une étape de segmentation de la membrane synoviale.

Pour ce faire, un seuillage d'histogramme est appliqué sur les IRM issues de la séquence injectée afin d'obtenir les masques binaires comprenant uniquement les voxels à fort niveau de signal. Le seuil a été défini à 45 % de l'amplitude maximale de l'échelle de gris [Ostergaard, 1997], correspondant à la frontière moyenne entre les intensités des zones rehaussées par le produit de contraste et les autres tissus environnants. Les masques binaires générés sont ensuite corrigés manuellement de manière à éliminer chaque zone n'étant pas la membrane synoviale (veines, artérioles) en comparaison des IRM rehaussées (figure 34.C).

Dans un second temps, le volume de la membrane synoviale (VMS) est calculé en intégrant l'aire A de chaque masque binaire multipliée par l'épaisseur ST des coupes IRM, selon l'équation reportée ci-dessous :

$$V = \sum(A \times ST) \quad \text{Eq. 8}$$

2.2.2.c Calcul des vitesses de rehaussement et des volumes correspondant

Pour obtenir les valeurs de vitesse de rehaussement du signal entre les deux séquences IRM, nous avons implémenté un calcul pixel à pixel entre les deux piles d'images. Le principe de cette 'cartographie de rehaussement' (E) est basé sur la relation suivante :

$$E_{(i,j)} = \frac{(It_{186(i,j)} - It_{0(i,j)}) \times 100}{It_{0(i,j)} \times t} \quad \text{Eq. 9}$$

avec $It_{186(i,j)}$ et $It_{0(i,j)}$ correspondant respectivement aux intensités du pixel (i,j) sur les images rehaussée et non rehaussée, et t correspondant au délai temporel existant entre les deux acquisitions IRM (186 secondes^{††}).

^{††} cf. paragraphe *Erratum*, page 160.

Les valeurs E , pour chaque pixel (i,j) , ont ensuite été classées en 3 catégories et codées selon une échelle de couleur (labels) définie par les seuils mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Vitesse de rehaussement :	Couleur du label :	Volume de synovite :
$E_{(i,j)} < 0,3$	pixel bleu	LVMS
$0,3 \leq E_{(i,j)} < 1$	pixel vert	IVMS
$1 \leq E_{(i,j)}$	pixel rouge	RVMS

Chaque cartographie de rehaussement est ensuite fusionnée avec le masque binaire correspondant afin de ne conserver que les voxels labellisés appartenant à la membrane synoviale inflammatoire (figure 34.D). Enfin les volumes LVMS, IVMS et RVMS de chacun des labels sont calculés selon l'équation Eq. 8, où A correspond à l'aire du label (bleu, vert ou rouge) sur chacune des coupes IRM, et ST correspond à l'épaisseur de la coupe. Une reconstruction tridimensionnelle des voxels labellisés a été générée afin de visualiser l'importance du volume synovitique et du degré de rehaussement du signal (figure 34.E).

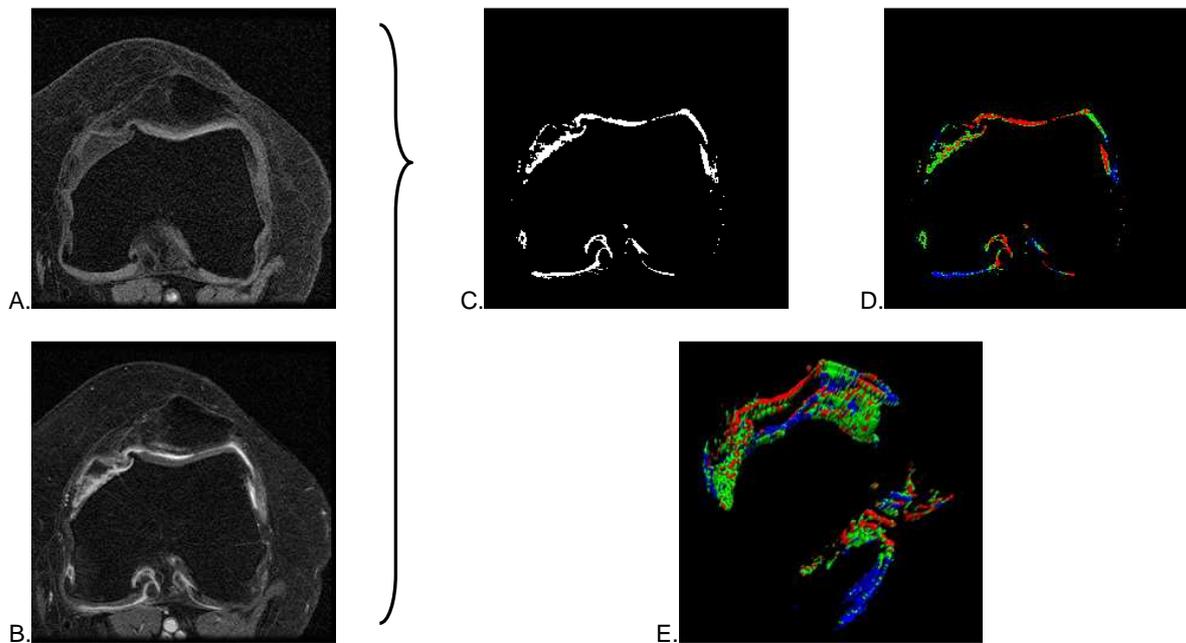


Figure 34. IRM axiales du genou avant (A) et après (B) injection du produit de contraste. C. Segmentation par seuillage de la membrane synoviale inflammatoire. D. Calcul des vitesses de rehaussement du signal IRM entre les coupes A et B et représentation des résultats selon une échelle de couleur pour chaque voxel appartenant à la membrane synoviale. E. Représentation tridimensionnelle des vitesses de rehaussement de la membrane synoviale inflammatoire.

L'opération de segmentation de la membrane synoviale a été conduite par deux opérateurs ne connaissant pas les données cliniques et démographiques des patients, afin de déterminer la reproductibilité inter-lecteur. De plus, l'un des opérateurs répéta la procédure à deux reprises sur l'intégralité des sets IRM afin d'obtenir la reproductibilité intra-lecteur de la technique de segmentation.

2.2.3 Examen chondroscopique

2.2.3.a *Technique*

L'examen chondroscopique est mené sous anesthésie locale (lidocaïne adrénalinée à 2 %) par un rhumatologue confirmé. Un arthroscopie standard (2,7 mm, lentille avant oblique (30°) à champ de vue large) est introduit au niveau du genou par les fenêtres fémoro-tibiales latérale et médiale. L'exploration chondroscopique est associée à un lavage de l'articulation. L'intégralité de la procédure est sauvegardée sur bande vidéo (super VHS Panasonic VS 100H, Matsushita Electronic Industrial, Japon).

2.2.3.b *Evaluation de la membrane synoviale (scores micro- et macroscopiques)*

L'aspect macroscopique de la membrane synoviale est gradée selon un score validé lors de précédents travaux dans l'équipe [Loeuille *et coll.*, 2005]. Dans le cas où les conditions le permettaient, une biopsie de la membrane synoviale fut réalisée. Ce prélèvement tissulaire permet de quantifier six paramètres [Ostergaard *et coll.*, 1997; Loeuille *et coll.*, 2005] et leur moyenne délivre une valeur de score composite total calculé pour chaque échantillon.

2.2.4 Analyses statistiques

Nous avons choisi de décrire les caractéristiques IRM de la synovite sous forme de médiane et de valeurs extrêmes. Nous avons également calculé les coefficients de corrélation de Spearman (r) afin de déterminer les associations liant les mesures IRM et les données cliniques, biologiques, macroscopique et microscopiques. Une valeur de r inférieure à 0,3 indique une relation faible ou l'absence d'association ; une valeur comprise entre 0,3 et 0,7 dénote une liaison modérée, et une valeur supérieure à 0,7 suggère une corrélation forte. Pour les données macroscopiques et microscopiques de la membrane synoviale, les grades sont obtenus par moyennage des valeurs obtenues sur les différentes biopsies d'un même genou. Les reproductibilités inter- et intra-opérateurs ont été évaluées grâce au calcul des coefficients de corrélation intra-classe (avec un intervalle de confiance à 95 %). Enfin, la méthode graphique de Bland et Altman a aussi été utilisée pour contrôler l'homogénéité et la cohérence des mesures de scores et de volumes. L'ensemble des analyses statistiques est réalisé avec le logiciel *Statistical Analysis System* (version 9.1, SAS Institute, NC).

3 Résultats

3.1 *Description de la cohorte*

Nous avons répertorié les caractéristiques, les données IRM et les relevés histologiques des patients dans le tableau 5. Un total de 40 biopsies a été réalisé et celles-ci se distribuent selon la répartition suivante : 2 biopsies / genou ($n=7$), 3 biopsies / genou ($n=7$) et 5 biopsies / genou ($n=1$). Concernant la localisation de ces biopsies synoviales, 11 d'entre-elles ont été réalisées dans le repli supra-patellaire latéral, 11 dans le repli supra-patellaire médial, 3 au-dessus de la trochlée fémorale, 2 dans la gouttière fémorale médiale et 13 dans la gouttière fémorale latérale.

Tableau 5. Caractéristiques des patients étudiés :

		Total (n=15)
Caractéristiques démographiques et cliniques		Médiane (gamme)
Age		58.0 (40.0-76.0)
Sexe, n (%)	Hommes	6 (40)
EVA douleur (0-100)		51.0 (7.0-89.0)
Indice de Lequesne (0-24)		11.5 (2.0-18.0)
Vitesse de sédimentation érythrocytaire (mm/h)		14.0 (1.0-94.0)
Protéine C-réactive sérique (mg/dl)		5.0 (5.0-14.4)
Score de Kellgren-Lawrence (%)	1	1 (8.3)
	2	1 (8.3)
	3	9 (75.0)
	4	1 (8.3)
IRM		
Score IRM synovitique (0-15)		8.5 (1.0-13.0)
VMS (mm ³)		4606.2(139.5-20123.7)
LVMS (mm ³)		1450.5 (24.7-7053.6)
IVMS (mm ³)		2604.8 (69.5-6576.5)
RVMS (mm ³)		786.9 (19.7-13289.2)
RVMS/VMS (%)		17.8 (1.7-66.0)
Score macroscopique		2 (1-3)
Score microscopique		
Assises synoviocytaires		2 (1-3)
Dépôt de fibrine		0 (0-3)
Fibrose		2(0-3)
Oedème		2 (0-3)
Congestion		1 (0-3)
Infiltration		2 (1-3)
Score composite total		1.5 (0.3-2.3)

3.2 Caractéristiques IRM de la synovite

En considérant l'ensemble de notre cohorte, le score IRM synovitique médian est de 8,5 (valeurs extrêmes : 1-13) et le volume synovitique (VMS) médian est de 4606 mm³ (139-20124) (tableau 5). Le VMS est constitué à 21 % par le RVMS, à 48 % par l'IVMS et à 31 % par le LVMS. Par ailleurs, il est à noter que le rapport RVMS/VMS est hautement variable puisqu'il varie de 1 à 66 % selon les patients. Néanmoins, le score IRM synovitique se révèle être associé de manière significative aux VMS ($r=0,53$) et IVMS ($r=0,53$), *a contrario* des RVMS et LVMS.

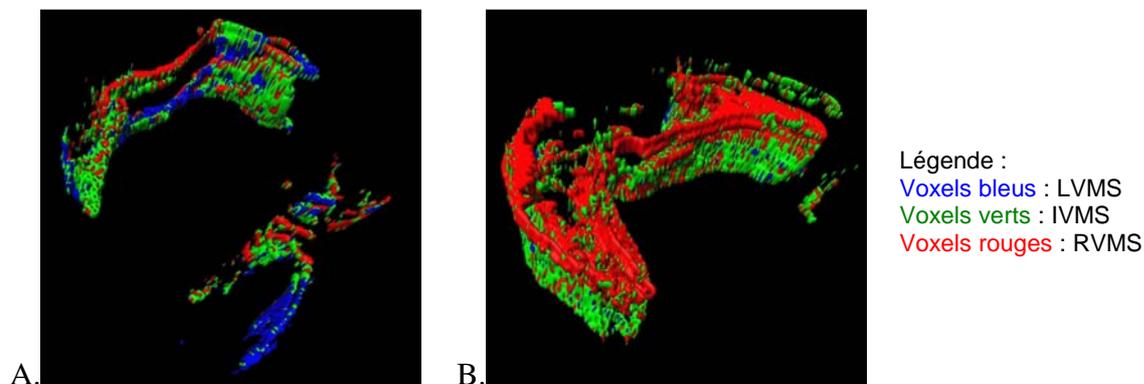


Figure 35. Représentations 3D de la carte de rehaussement du signal RMN au sein de la membrane synoviale inflammatoire de deux patients. Le premier patient (A) présente une synovite englobant l'articulation du genou avec cependant une activité modérée. Pour le deuxième patient (B), la synovite est localisée en avant de l'articulation (autour de la rotule) avec une activité inflammatoire importante.

3.3 Reproductibilité de la méthode

Les variations relatives et absolues inter- et intra-opérateurs pour chaque paramètre évalué sur les données IRM sont colligées dans le tableau 6. Les reproductibilités inter- et intra-opérateurs sont excellentes en ce qui concerne le score IRM synovitique (ICC=0,89 ; 95 % CI (0,70-0,96), ICC=0,95 ; 95 % CI (0,86-0,99) respectivement). De même les reproductibilités inter- et intra-opérateurs sont très satisfaisantes au niveau des VMS, LVMS, IVMS et RVMS, chaque ICC étant supérieur ou égal à 98 %. Enfin, entre les deux opérateurs, l'analyse Bland-Altman révèle une concordance satisfaisante entre les différents volumes de synovites mesurés.

Tableau 6. Reproductibilités inter- et intra-opérateurs concernant l'analyse de la synovite par IRM :

	Reproductibilité inter-observateur		Reproductibilité intra-observateur	
	Variation absolue	% de variation	Variation absolue	% de variation
	Médiane (gamme)	Médiane (gamme)	Médiane (gamme)	Médiane (gamme)
Score IRM synovitique	-1 (-3.0 ; 2.0)	-13.4 (-66.7 ; 28.6)	0.5 (-2 ; 2)	10 (-18.2 ; 33.3)
VMS	-405.6 (-1944.3 ; 24.8)	-7.1 (-32.7 ; 16.3)	-7.3 (-253.8 ; 862.0)	-0.1 (-3.0 ; 10.4)
LVMS	-171.4 (-1211.7 ; 106.9)	-13.8 (-54.5 ; 13.3)	1.3 (-57.3 ; 382.7)	0.0 (-5.5 ; 17.1)
IVMS	-152.2 (-705.7 ; 249.6)	-6.5 (-20.7 ; 21.2)	-4.0 (-146.4 ; 452.9)	-0.1 (-3.5 ; 10.1)
RVMS	-28.2 (-532.0 ; 53.4)	-4.9 (-51.2 ; 60.1)	-1.3 (-56.9 ; 26.4)	-0.4 (-5.9 ; 20.4)
RVMS/VMS	0.3 (-3.8 ; 2.9)	4.9 (-13.9 ; 64.9)	-0.0 (-1.7 ; 1.8)	-0.3 (-9.6 ; 12.6)

3.4 Confrontation des données IRM, cliniques et histologiques

3.4.1 Evaluation clinique et biologique

Aucune corrélation significative n'a été observée entre les mesures IRM et l'âge ou les données biologiques des patients. De même, nous n'avons pas relevé de corrélations entre le score IRM synovitique ou le VMS et les données cliniques. Seules des corrélations modérées et positives ont été notées entre le LVMS et l'EVA douleur ($r=0,61$; $p<0,05$), mais aussi avec l'index de Lequesne ($r=0,46$; $p=0,10$) (tableau 7). D'un autre côté, bien que les liens de corrélation n'atteignent pas le degré de significativité, le RVMS, l'IVMS et le rapport RVMS/VMS tendent à être corrélés négativement avec les caractéristiques cliniques des patients.

3.4.2 Evaluations micro- et macroscopiques

Le score IRM synovitique est corrélé positivement avec l'aspect macroscopique de la membrane synoviale ($r=0,61$), ainsi que la congestion ($r=0,52$) et l'infiltration ($r=0,54$) sur les analyses microscopiques (tableau 7) réalisées sur 40 biopsies. Les VMS, RVMS et IVMS sont corrélés avec les scores macroscopiques ($r=0,60$; $0,48$ et $0,57$ respectivement) et microscopiques de congestion ($r=0,63$; $0,79$ et $0,61$). Par opposition, le LVMS n'est pas corrélé de manière significative à ces scores. En revanche, le rapport RVMS/VMS est corrélé significativement ($r=0,63$) au degré de congestion observé à l'échelle microscopique, alors que modérément et inversement corrélé vis-à-vis des degrés d'infiltration, d'œdème et de fibrose. Les RVMS et IVMS sont significativement supérieurs pour les genoux atteints de congestion sévère par rapport aux genoux à congestion modérée. De plus, RVMS et IVMS sont significativement amoindris dans les genoux à fibrose sévère.

Tableau 7. Corrélations entre les données IRM, cliniques et histologiques :

	Score IRM synovitique (0-15)	VMS (mm ³)	RVMS (mm ³)	IVMS (mm ³)	LVMS (mm ³)	RVMS / VMS
	r	r	r	r	r	r
EVA douleur	0.25	-0.09	-0.30	-0.14	0.61*	-0.45
Indice de Lequesne	-0.11	-0.27	-0.34	-0.30	0.46	-0.39
Vitesse Sédimentaire	0.50	-0.17	-0.33	-0.15	0.21	-0.35
Prot.C réactive	0.35	0.19	0.04	0.16	0.36	-0.10
Score macroscopique	0.61*	0.60*	0.48	0.57*	-0.05	0.28
Score microscopique :						
assises synoviocytaires	0.16	0.20	-0.05	0.25	-0.13	-0.08
dépôt de fibrine	0.35	-0.06	-0.12	-0.10	0.25	-0.17
fibrose	-0.01	-0.03	-0.30	-0.08	0.25	-0.37
oedème	-0.01	-0.01	-0.11	0.00	0.36	-0.34
congestion	0.52*	0.63*	0.79*	0.61*	0.35	0.63*
infiltration	0.54*	-0.08	-0.16	-0.12	0.31	-0.34
Score composite total	0.41	0.00	-0.20	-0.01	0.44	-0.48

*: $p < 0.05$

4 Discussion

L'imagerie par résonance magnétique est connue pour confirmer le diagnostic de maladies de type arthrosique, notamment pour le genou, et aide au suivi de l'évolution de la pathologie grâce à des quantifications précises des lésions cartilagineuses (aspects biochimiques et architecturaux de la matrice extracellulaire, mesures morphologiques et morphométriques du tissu cartilagineux) [Wluka *et coll.*, 2002; Peterfy *et coll.*, 2004; Raynauld *et coll.*, 2004]. Cependant, le rôle de l'inflammation de la membrane synoviale (synovite) dans la sensation douloureuse et son impact destructeur vis-à-vis du cartilage articulaire restent, à l'heure actuelle, une source de débat au sein de la communauté scientifique [Fernandez-Madrid *et coll.*, 1994; Fernandez-Madrid *et coll.*, 1995; Peterfy *et coll.*, 2004; Hill *et coll.*, 2007]. Le but de notre étude était de proposer trois méthodologies de cotation de la synovite, à partir d'une séquence IRM associée à l'utilisation

de produit de contraste, et de comparer les résultats obtenus avec des relevés cliniques et histologiques.

Score IRM synovitique

Nos présents travaux confirment le score IRM synovitique comme étant une méthode simple autorisant une évaluation précise du degré d'inflammation de la membrane synoviale dans un contexte arthrosique. De plus, cette méthode ne requiert qu'une dizaine de minutes (examen IRM + score) pour délivrer des résultats pertinents, puisque bien corrélés avec les scores macro- et microscopiques, les degrés de congestion et d'infiltration. D'un autre côté, ce score IRM synovitique ne montre pas de corrélation avec les caractéristiques cliniques.

Mesure du volume synovitique

Le calcul du volume de la membrane synoviale inflammatoire (VMS) est une méthode plus sophistiquée nécessitant une trentaine de minutes (examen IRM + segmentation et calculs) pour produire des données quantitatives fiables et reproductibles. Par ailleurs, cette technique a déjà été bien documentée, notamment dans le domaine de l'arthrite rhumatoïde. Le VMS est évalué sur toute la hauteur de la rotule, fournissant ainsi un repérage anatomique intrinsèque. Quant à la durée de la séquence d'acquisition IRM, elle a été paramétrée pour une durée de 3 minutes, ce qui correspond à un temps optimal pour imager le VMS rehaussé, puisque l'agent de contraste (Gadolinium) a tendance à quitter le synovium (vaisseaux, tissu interstitiel) et diffuser au sein du liquide synovial à partir de 5 minutes après l'injection intra-veineuse [Drape *et coll.*, 1993].

Concernant l'étape de segmentation, nous nous sommes inspirés de la solution validée par les travaux d'Ostergaard [Ostergaard, 1997] qui consiste en un seuillage à 45 % de la plage de l'histogramme suivi d'une éventuelle correction manuelle (élimination des vaisseaux sanguins). Nous avons ainsi pu montrer que les volumes de la membrane synoviale inflammatoire sont bien corrélés avec les scores micro- et macroscopiques, en particulier dans le cas de la congestion. Cependant, en comparaison de résultats obtenus dans l'arthrite rhumatoïde, les liens sont moins importants entre le VMS, les signes cliniques [Ostergaard *et coll.*, 1996; Creamer *et coll.*, 1997; Cimmino *et coll.*, 2003] et les paramètres histopathologiques de la synovie [Tamai *et coll.*, 1994; Gaffney *et coll.*, 1995; Ostergaard *et coll.*, 1997; Loeuille *et coll.*, 2005]. De même que pour le score IRM synovitique, aucune relation n'est démontrée avec les données cliniques ou biologiques.

Volume couplé à la vitesse de rehaussement du signal RMN

Ce travail présente une méthode originale de quantification de la vitesse du rehaussement du signal au sein de la membrane synoviale inflammatoire tout en exprimant les résultats selon une approche volumique. Les volumes LVMS, IVMS et RVMS sont calculés automatiquement et simultanément avec le volume complet de synovite après une étape de segmentation et vérification d'une vingtaine de minutes. Trois seuils de vitesse de rehaussement ont été établis grâce aux travaux précédemment publiés dans les domaines de l'arthrite rhumatoïde et de l'arthrose [Ostergaard *et coll.*, 1996; Cimmino *et coll.*, 2003]. Ainsi, les vitesses de rehaussement par prise de contraste régies par ces trois seuils correspondent respectivement à un degré de vascularisation faible, modéré et élevé de la membrane synoviale inflammatoire [Ostergaard *et coll.*, 1996; Ostergaard, 1997; Ostergaard *et coll.*, 1997]. D'autre part, nous avons déterminé les taux de rehaussement sur une volume couvrant l'intégralité de la hauteur rotulienne, ce qui n'avait encore jamais été réalisé, puisque les études précédentes se limitaient à une approche régionale sur un nombre restreint de coupes [Ostergaard *et coll.*,

1996; Cimmino *et coll.*, 2003]. De plus, l'analyse volumique montre un meilleur niveau de reproductibilité des mesures en comparaison des études mono-coupes.

Tout comme pour le VMS total, nous avons observé de grandes variations pour les volumes LVMS, IVMS et RVMS selon les patients. Nous avons également retrouvé, comme dans les travaux d'Ostergaard [Ostergaard *et coll.*, 1996], une excellente corrélation entre RVMS et le degré de congestion, par contre, les corrélations sont inverses avec l'infiltration, l'assise cellulaire, la fibrose et le dépôt de fibrine, ainsi que l'œdème. Le volume RVMS semble ainsi être un paramètre fiable dans l'estimation de la vascularisation de la membrane synoviale et dans l'évaluation de réponse thérapeutiques.

En ce qui concerne le volume LVMS, aucune corrélation n'a été trouvée avec les scores micro- et macroscopiques. Cependant, nous avons démontré, et ce, pour la première fois, une corrélation positive entre le LVMS et l'EVA douleur ainsi que l'indice de Lequesne. Cette relation ne semble pourtant pas liée aux processus inflammatoires ou fibrotique, puisque ce dernier paramètre est habituellement associé à une évolution de maladie et des dommages articulaires [Bresnihan *et coll.*, 1998]. Une étude longitudinale paraît cependant nécessaire avant d'ajouter la mesure du LVMS aux caractéristiques associées à la douleur du genou arthrosique que sont : les lésions de la moelle osseuse [Felson *et coll.*, 2001; Felson *et coll.*, 2003; Sowers *et coll.*, 2003], les érosions sous-chondrales [Hernandez-Molina *et coll.*, 2007] et les lésions périarticulaires [Hill *et coll.*, 2003].

Limites de l'étude

L'une des limites à notre étude concerne le choix des séquences d'acquisition IRM (*fast multiplanar spoiled gradient recalled in the steady state*). En effet, ce type de séquence impose une durée d'acquisition de 186 secondes^{§§}, durée qui pourrait être raccourcie par l'emploi de séquences plus rapides ou mono-coupe. De ce fait, la fenêtre temporelle de 55 secondes, classiquement usitée pour l'évaluation de la synovite dans la polyarthrite rhumatoïde [Ostergaard *et coll.*, 1998], n'a pu être appliquée. Ceci pourra éventuellement engendrer un biais dans la comparaison des valeurs de volumes et de vitesses de rehaussement puisque dépendantes de la forme de la courbe de rehaussement du signal RMN. De plus, le VMS n'a pas été calculé pour le genou entier, mais uniquement pour la région englobant la rotule. Enfin, ce type d'étude ne pourra pas être généralisé à chaque patient souffrant d'arthrose du genou. En effet, nos patients ont été inclus parce qu'ils nécessitaient un lavage de l'articulation (persistance de douleur et d'effusion en dépit d'une prise en charge médicamenteuse).

5 Conclusion

Par ces travaux, nous avons pu montrer que la mesure du VMS et le score IRM synovitique représentent des techniques reproductibles dans l'étude du genou arthrosique avec synovite, le score IRM synovitique présentant de surcroît l'avantage d'être rapide. Le score IRM synovitique est bien corrélé aux paramètres microscopiques, particulièrement le score d'infiltration. La mesure du VMS est une technique consommatrice de temps, et les corrélations avec les paramètres microscopiques ne sont pas satisfaisantes, exception faite pour la congestion. Comme pressenti, le RVMS est fortement corrélé à la congestion vasculaire mais pas aux relevés cliniques ou biologiques. De même, nous avons montré, pour

^{§§} cf. paragraphe *Erratum*, page 160.

la première fois, que la douleur et la perte de fonction peut être liée au LVMS, qui n'est cependant pas associé à des particularités microscopiques notables. Ceci restera à confirmer avec une cohorte plus importante.

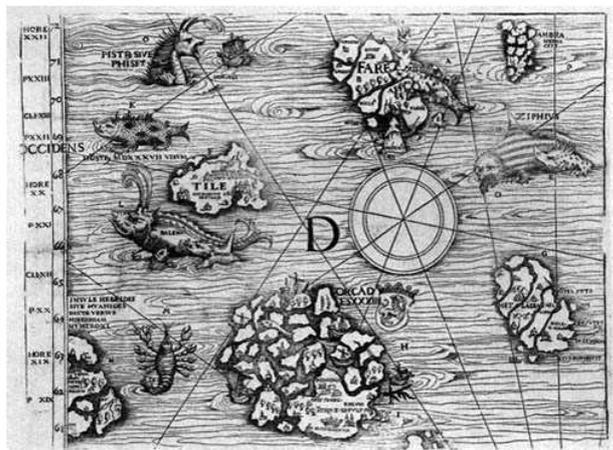
Nous souhaitons que les méthodes IRM développées ici puissent, à l'avenir, fournir des informations pertinentes concernant l'impact de la synovite sur les pertes chondrales du genou, et puisse aider à l'évaluation de l'efficacité des traitements de l'inflammation associée au processus arthrosique.

Erratum

La valeur de '186 secondes' avait été déduite des informations recueillies dans l'entête des fichiers *Dicom* des deux séries d'acquisitions IRM. Compte-tenu des spécificités techniques et temporelles inhérentes à la séquence d'acquisition et à l'obtention réelle des images reconstruites, il n'est pas exact de considérer ce délai de 186 secondes comme étant le laps de temps réel séparant l'obtention d'un voxel donné de la série d'IRM 'non rehaussée' de son homologue de la série 'rehaussée'. Cette donnée erronée de fenêtre temporelle induit, de ce fait, une erreur en valeur absolue des grandeurs des cartographies de rehaussement (E). Par contre, les vitesses de rehaussement restent, quant à elles, homogènes les unes aux autres, en valeurs relatives.



Conclusion générale et Perspectives



Au cours de ces années de thèse, nous avons étudié les phénomènes physiologiques (vieillessement) et pathologiques (arthrose, inflammation de la membrane synoviale) en employant l'Imagerie par Résonance Magnétique. La partie des travaux consacrée aux études expérimentales menées *in vivo* chez le rat ont montré l'intérêt de l'IRM, méthode d'analyse non vulnérante, dans la détection et la quantification des variations morphologiques du cartilage articulaire. Les résultats recueillis semblent ainsi être de bon augure pour l'utilisation de cette modalité d'imagerie dans la détermination de l'efficacité de nouveaux traitements chondroprotecteurs, voire chondrorégénérateurs, et pour suivre *in vivo*, les nouvelles débouchées thérapeutiques que laisse entrevoir l'ingénierie cellulaire et tissulaire.

Les études cliniques, quant à elles, confirment l'intérêt du recours aux techniques de cartographie, notamment les cartes T2, pour l'évaluation des modifications structurales et biochimiques de la matrice extracellulaire du cartilage articulaire. Cette méthode semble capable de délivrer des informations précoces de la détérioration du cartilage, et ce, avant même l'apparition de réelles pertes de substances chondrales. La cartographie T2 pourrait ainsi constituer un examen de dépistage des stades initiaux de la maladie arthrosique, alors que l'approche volumique, pourra, quant à elle évaluer le degré d'atteinte dans les stades avancés. Le couplage de ces deux techniques complémentaires pourra également être utilisé dans l'évaluation de nouvelles modalités du traitement de l'arthrose.

Enfin, l'étude de l'inflammation de la membrane synoviale révèle que l'IRM peut aussi servir à la caractérisation de structures avoisinant le cartilage articulaire, et dont le caractère pathologique est intimement lié au processus arthrosique. Cette étude alliant mesures volumiques et vitesse de rehaussement du signal montre l'intérêt de l'IRM dans le suivi de la maladie arthrosique associée à un phénomène inflammatoire.

L'Imagerie par Résonance Magnétique semble tout à fait indiquée dans le contexte ostéoarticulaire, tant sur un versant de la recherche expérimentale, qu'en médecine clinique, où elle représente un formidable outil de détection, quantification et suivi des pathologies et de leurs traitements. Dans cette optique, une perspective pertinente est d'employer l'IRM dans les nouvelles voies thérapeutiques émergentes que sont les ingénieries cellulaire et tissulaire destinées au comblement et à la refunctionalisation de tissus biologiques lésés.



Références bibliographiques

- Adams ME, Li DK, McConkey JP, Davidson RG, Day B, Duncan CP and Tron V. **1991**. Evaluation of cartilage lesions by magnetic resonance imaging at 0.15 T: comparison with anatomy and concordance with arthroscopy. *The Journal of rheumatology* 18: 1573-80.
- Adams SB, Jr., Herz PR, Stamper DL, Roberts MJ, Bourquin S, Patel NA, Schneider K, Martin SD, Shortkroff S, Fujimoto JG and Brezinski ME. **2006**. High-resolution imaging of progressive articular cartilage degeneration. *Journal of orthopaedic research* 24: 708-15.
- Agemura DH, O'Brien WD, Jr., Olerud JE, Chun LE and Eyre DE. **1990**. Ultrasonic propagation properties of articular cartilage at 100 MHz. *The Journal of the Acoustical Society of America* 87: 1786-91.
- Aisen AM, McCune WJ, MacGuire A, Carson PL, Silver TM, Jafri SZ and Martel W. **1984**. Sonographic evaluation of the cartilage of the knee. *Radiology* 153: 781-4.
- Al-Ali D, Graichen H, Faber S, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2002**. Quantitative cartilage imaging of the human hind foot: precision and inter-subject variability. *Journal of orthopaedic research* 20: 249-56.
- Allan DA. **1998**. Structure and physiology of joints and their relationship to repetitive strain injuries. *Clinical orthopaedics and related research*: 32-8.
- Allen RG, Burstein D and Gray ML. **1999**. Monitoring glycosaminoglycan replenishment in cartilage explants with gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging. *Journal of orthopaedic research* 17: 430-6.
- Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, Christy W, Cooke TD, Greenwald R, Hochberg M and et al. **1986**. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis and rheumatism* 29: 1039-49.
- Altman R, Brandt K, Hochberg M, Moskowitz R, Bellamy N, Bloch DA, Buckwalter J, Dougados M, Ehrlich G, Lequesne M, Lohmander S, Murphy WA, Jr., Rosario-Jansen T, Schwartz B and Trippel S. **1996**. Design and conduct of clinical trials in patients with osteoarthritis: recommendations from a task force of the Osteoarthritis Research Society. Results from a workshop. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 4: 217-43.
- Altman RD, Fries JF, Bloch DA, Carstens J, Cooke TD, Genant H, Gofton P, Groth H, McShane DJ, Murphy WA and et al. **1987**. Radiographic assessment of progression in osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 30: 1214-25.
- Altman RD, Hochberg M, Murphy WA, Jr., Wolfe F and Lequesne M. **1995**. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 3 Suppl A: 3-70.
- Ameye LG and Young MF. **2006**. Animal models of osteoarthritis: lessons learned while seeking the "Holy Grail". *Current opinion in rheumatology* 18: 537-47.
- Amin S, LaValley MP, Guermazi A, Grigoryan M, Hunter DJ, Clancy M, Niu J, Gale DR and Felson DT. **2005**. The relationship between cartilage loss on magnetic resonance imaging and radiographic progression in men and women with knee osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 52: 3152-9.
- Aoki J, Hiraki Y, Seo GS, Shukunami C, Moriya H, Karakida O, Ueda H and Sone S. **1996**. [Effect of collagen on magnetization transfer contrast assessed in cultured cartilage]. *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai zasshi* 56: 877-9.

- Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, Schwartz N, Bernier SM, Henry JL, Holdsworth DW and Beier F. **2007**. Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy* 9: R13.
- Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, Schwartz N, Bernier SM, Henry JL, Holdsworth DW and Beier F. **2008**. Correction: Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy* 10: 407.
- Aydelotte M, Schumacher B and Kuettner K. **1992**. Heterogeneity of articular chondrocytes. In *Articular cartilage and osteoarthritis*. (S. R. Kuettner K, Hascall VC). New York, Raven Press: 237-50.
- Ayral X, Dougados M, Listrat V, Bonvarlet JP, Simonnet J, Poiraudou S and Amor B. **1993**. Chondroscopy: a new method for scoring chondropathy. *Seminars in arthritis and rheumatism* 22: 289-97.
- Ayral X, Gueguen A, Listrat V, Bahuaud J, Beaufils P, Beguin J, Bonvarlet JP, Boyer T, Coudane H, Delaunay C and et al. **1994**. Proposal of a simplified arthroscopic score of cartilage lesions of the knee (simplified SFA score). *Revue du rhumatisme (Ed. française)* 61: 97-9.
- Aznavour N, Benkelfat C, Gravel P, Aliaga A, Rosa-Neto P, Bedell B, Zimmer L and Descarries L. **2008**. MicroPET imaging of 5-HT(1A) receptors in rat brain: a test-retest [(18)F]MPPF study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*.
- Barrett WA and Mortensen EN. **1997**. Interactive live-wire boundary extraction. *Medical image analysis* 1: 331-41.
- Bashir A, Gray ML, Boutin RD and Burstein D. **1997**. Glycosaminoglycan in articular cartilage: in vivo assessment with delayed Gd(DTPA)(2-)-enhanced MR imaging. *Radiology* 205: 551-8.
- Bashir A, Gray ML and Burstein D. **1996**. Gd-DTPA2- as a measure of cartilage degradation. *Magnetic resonance in medicine* 36: 665-73.
- Bashir A, Gray ML, Hartke J and Burstein D. **1999**. Nondestructive imaging of human cartilage glycosaminoglycan concentration by MRI. *Magnetic resonance in medicine* 41: 857-65.
- Batiste DL, Kirkley A, Laverty S, Thain LM, Spouge AR and Holdsworth DW. **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 / OARS, Osteoarthritis Research Society* 12: 986-96.
- Beary JF, 3rd. **2001**. Joint structure modification in osteoarthritis: development of SMOAD drugs. *Current rheumatology reports* 3: 506-12.
- Beckmann N, Falk R, Zurbrugg S, Dawson J and Engelhardt P. **2003**. Macrophage infiltration into the rat knee detected by MRI in a model of antigen-induced arthritis. *Magnetic resonance in medicine* 49: 1047-55.
- Beguin JA, Heron JF, Sabatier JP, Locker B and Souquieres G. **1982**. [Arthroscopy of the knee. Diagnostic value. 1005 cases]. *La Nouvelle presse medicale* 11: 3619-21.
- Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J and Stitt LW. **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: 1833-40.
- Bendele A, McComb J, Gould T, McAbee T, Sennello G, Chlipala E and Guy M. **1999**. Animal models of arthritis: relevance to human disease. *Toxicologic pathology* 27: 134-42.

- Bendele AM. **2002**. Animal models of osteoarthritis in an era of molecular biology. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* 2: 501-3.
- Bendele AM and White SL. **1987**. Early histopathologic and ultrastructural alterations in femorotibial joints of partial medial meniscectomized guinea pigs. *Veterinary pathology* 24: 436-43.
- Bendele AM, White SL and Hulman JF. **1989**. Osteoarthrosis in guinea pigs: histopathologic and scanning electron microscopic features. *Laboratory animal science* 39: 115-21.
- Benninghoff A. **1925**. Form und bau der gelenkknorpel in ihren beziehungen zur function. I. Die modellierenden und formerhaltenden faktoren des knorpelreliefs. *Z. Gesamte Anatomie* 76: 43-63.
- Benske J, Schunke M and Tillmann B. **1988**. Subchondral bone formation in arthrosis. Polychrome labeling studies in mice. *Acta orthopaedica Scandinavica* 59: 536-41.
- Bentley G. **1971**. Papain-induced degenerative arthritis of the hip in rabbits. *The Journal of bone and joint surgery* 53: 324-37.
- Bentley G. **1975**. Articular cartilage studies and osteoarthrosis. *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 57: 86-100.
- Beuf O. **2004**. High-resolution MRI techniques for studies in small-animal models. *Methods in molecular medicine* 101: 219-29.
- Beuf O, Ghosh S, Newitt DC, Link TM, Steinbach L, Ries M, Lane N and Majumdar S. **2002**. Magnetic resonance imaging of normal and osteoarthritic trabecular bone structure in the human knee. *Arthritis and rheumatism* 46: 385-93.
- Bjornland T, Rorvik M, Haanaes HR and Teige J. **1994**. Degenerative changes in the temporomandibular joint after diagnostic arthroscopy. An experimental study in goats. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 23: 41-5.
- Blackburn WD, Jr., Bernreuter WK, Rominger M and Loose LL. **1994**. Arthroscopic evaluation of knee articular cartilage: a comparison with plain radiographs and magnetic resonance imaging. *The Journal of rheumatology* 21: 675-9.
- Blackburn WD, Jr., Chivers S and Bernreuter W. **1996**. Cartilage imaging in osteoarthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism* 25: 273-81.
- Bland JM and Altman DG. **1986a**. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1: 307-10.
- Bland JM and Altman DG. **1990**. A note on the use of the intraclass correlation coefficient in the evaluation of agreement between two methods of measurement. *Computers in biology and medicine* 20: 337-40.
- Bland JM and Altman DJ. **1986b**. Regression analysis. *Lancet* 1: 908-9.
- Blum A, Loeuille D, Iochum S, Kohlmann R, Grignon B and Coudane H. **2003**. [MR-arthrography: general principles and applications]. *Journal de radiologie* 84: 639-57.
- Blumenkrantz G and Majumdar S. **2007**. Quantitative magnetic resonance imaging of articular cartilage in osteoarthritis. *European cells & materials* 13: 76-86.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Abram F, Raynauld JP, Troncy E, D'Anjou MA, Moreau M and Pelletier JP. **2008**. Magnetic resonance imaging can accurately assess the long-term progression of knee structural changes in experimental dog osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 67: 926-32.
- Bolbos R, Benoit-Cattin H, Langlois JB, Chomel A, Chereul E, Odet C, Janier M, Pastoureau P and Beuf O. **2008a**. Measurement of knee cartilage thickness using MRI: a reproducibility study in a meniscectomized guinea pig model of osteoarthritis. *NMR in biomedicine* 21: 366-75.
- Bolbos R, Benoit-Cattin H, Langlois JB, Chomel A, Chereul E, Odet C, Pastoureau P, Janier M and 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 / OARS, Osteoarthritis Research Society* 15: 656-65.
- Bolbos RI, Zuo J, Banerjee S, Link TM, Ma CB, Li X and Majumdar S. **2008b**. Relationship between trabecular bone structure and articular cartilage morphology and relaxation times in early OA of the knee joint using parallel MRI at 3 T. *Osteoarthritis and Cartilage* 16: 1150-9.
- Borthakur A, Shapiro EM, Beers J, Kudchodkar S, Kneeland JB and Reddy R. **2000**. Sensitivity of MRI to proteoglycan depletion in cartilage: comparison of sodium and proton MRI. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 8: 288-93.
- Boven F, Bellemans MA, Geurts J and Potvliege R. **1982**. A comparative study of the patellofemoral joint on axial roentgenogram, axial arthrogram, and computed tomography following arthrography. *Skeletal radiology* 8: 179-81.
- Bowers ME, Trinh N, Tung GA, Crisco JJ, Kimia BB and Fleming BC. **2008**. Quantitative MR imaging using “LiveWire” to measure tibiofemoral articular cartilage thickness. *Osteoarthritis and Cartilage* 16: 1167-73.
- Braunstein EM, Brandt KD and Albrecht M. **1990**. MRI demonstration of hypertrophic articular cartilage repair in osteoarthritis. *Skeletal radiology* 19: 335-9.
- Bresnihan B, Cunnane G, Youssef P, Yanni G, Fitzgerald O and Mulherin D. **1998**. Microscopic measurement of synovial membrane inflammation in rheumatoid arthritis: proposals for the evaluation of tissue samples by quantitative analysis. *British journal of rheumatology* 37: 636-42.
- Britt JC and Park SS. **1998**. Autogenous tissue-engineered cartilage: evaluation as an implant material. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 124: 671-7.
- Broderick LS, Turner DA, Renfrew DL, Schnitzer TJ, Huff JP and Harris C. **1994**. Severity of articular cartilage abnormality in patients with osteoarthritis: evaluation with fast spin-echo MR vs arthroscopy. *AJR* 162: 99-103.
- Brommer H, Rijkenhuizen AB, Brama PA, Barneveld A and van Weeren PR. **2004**. Accuracy of diagnostic arthroscopy for the assessment of cartilage damage in the equine metacarpophalangeal joint. *Equine veterinary journal* 36: 331-5.
- Buckland-Wright C. **1997**. Current status of imaging procedures in the diagnosis, prognosis and monitoring of osteoarthritis. *Bailliere's clinical rheumatology* 11: 727-48.
- Buckland-Wright JC, Macfarlane DG, Williams SA and Ward RJ. **1995**. Accuracy and precision of joint space width measurements in standard and macroradiographs of osteoarthritic knees. *Annals of the rheumatic diseases* 54: 872-80.
- Buckwalter JA, Kuettner KE and Thonar EJ. **1985**. Age-related changes in articular cartilage proteoglycans: electron microscopic studies. *Journal of orthopaedic research* 3: 251-7.
- Buckwalter JA and Mankin HJ. **1997**. Articular cartilage: Degeneration and osteoarthrosis, repair, regeneration and transplantation. *Journal of Bone and Joint Surgery* 79-A: 612-32.
- Burgkart R, Glaser C, Hinterwimmer S, Hudelmaier M, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2003**. Feasibility of T and Z scores from magnetic resonance imaging data for quantification of cartilage loss in osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 48: 2829-35.
- Burgkart R, Glaser C, Hyhlik-Durr A, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2001**. Magnetic resonance imaging-based assessment of cartilage loss in severe osteoarthritis: accuracy, precision, and diagnostic value. *Arthritis and rheumatism* 44: 2072-7.

- Burstein D, Bashir A and Gray ML. **2000**. MRI techniques in early stages of cartilage disease. *Investigative radiology* 35: 622-38.
- Burstein D, Gray ML, Hartman AL, Gipe R and Foy BD. **1993**. Diffusion of small solutes in cartilage as measured by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and imaging. *Journal of orthopaedic research* 11: 465-78.
- Butnariu-Ephrat M, Robinson D, Mendes DG, Halperin N and Nevo Z. **1996**. Resurfacing of goat articular cartilage by chondrocytes derived from bone marrow. *Clinical orthopaedics and related research*: 234-43.
- Bydder M, Rahal A, Fullerton GD and Bydder GM. **2007**. The magic angle effect: a source of artifact, determinant of image contrast, and technique for imaging. *Journal of magnetic resonance imaging* 25: 290-300.
- Calvo E, Palacios I, Delgado E, Ruiz-Cabello J, Hernandez P, Sanchez-Pernaute O, Egido J and Herrero-Beaumont G. **2001**. High-resolution MRI detects cartilage swelling at the early stages of experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 463-72.
- Caplan AI, Elyaderani M, Mochizuki Y, Wakitani S and Goldberg VM. **1997**. Principles of cartilage repair and regeneration. *Clinical orthopaedics and related research*: 254-69.
- Chambers MG, Kuffner T, Cowan SK, Cheah KS and Mason RM. **2002**. Expression of collagen and aggrecan genes in normal and osteoarthritic murine knee joints. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 10: 51-61.
- Chan WP, Lang P, Stevens MP, Sack K, Majumdar S, Stoller DW, Basch C and Genant HK. **1991**. Osteoarthritis of the knee: comparison of radiography, CT, and MR imaging to assess extent and severity. *AJR* 157: 799-806.
- Chandnani VP, Ho C, Chu P, Trudell D and Resnick D. **1991**. Knee hyaline cartilage evaluated with MR imaging: a cadaveric study involving multiple imaging sequences and intraarticular injection of gadolinium and saline solution. *Radiology* 178: 557-61.
- Chao J and Kalunian K. **2008**. Ultrasonography in osteoarthritis: recent advances and prospects for the future. *Current opinion in rheumatology* 20: 560-4.
- Chary-Valckenaere I, Goebel JC, Champigneulle J, Rat AC, Dintinger H, Toussaint F, Pinzano-Watrin A, Blum A, Netter P, Gillet P and Loeuille D. **2005**. A semi-quantitative and new dynamic MRI evaluations of synovitis in knee OA correlate with macroscopic, microscopic and clinical examinations. *Arthritis Rheum* 52: S70.
- Chateauvert JM, Grynepas MD, Kessler MJ and Pritzker KP. **1990**. Spontaneous osteoarthritis in rhesus macaques. II. Characterization of disease and morphometric studies. *The Journal of rheumatology* 17: 73-83.
- Cheng SC, Jou IM, Chern TC, Wang PH and Chen WC. **2004**. The effect of normal saline irrigation at different temperatures on the surface of articular cartilage: an experimental study in the rat. *Arthroscopy* 20: 55-61.
- Cherin E, Saied A, Laugier P, Netter P and Berger G. **1998**. Evaluation of acoustical parameter sensitivity to age-related and osteoarthritic changes in articular cartilage using 50-MHz ultrasound. *Ultrasound in medicine & biology* 24: 341-54.
- Cherin E, Saied A, Pellaumail B, Loeuille D, Laugier P, Gillet P, Netter P and Berger G. **2001**. Assessment of rat articular cartilage maturation using 50-MHz quantitative ultrasonography. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 178-86.
- Chevalier X. **1998**. Physiopathology of arthrosis. The normal cartilage. *Presse medicale* 27: 75-80.
- Chou MC, Tsai PH, Huang GS, Lee HS, Lee CH, Lin MH, Lin CY and Chung HW. **2008**. Correlation between the MR T2 value at 4.7 T and relative water content in articular

- cartilage in experimental osteoarthritis induced by ACL transection. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*.
- Christensen SB. **1985**. Osteoarthrosis. Changes of bone, cartilage and synovial membrane in relation to bone scintigraphy. *Acta orthopaedica Scandinavica* 214: 1-43.
- Cicuttini F, Forbes A, Asbeutah A, Morris K and Stuckey S. **2000**. Comparison and reproducibility of fast and conventional spoiled gradient-echo magnetic resonance sequences in the determination of knee cartilage volume. *Journal of orthopaedic research* 18: 580-4.
- Cicuttini F, Forbes A, Morris K, Darling S, Bailey M and Stuckey S. **1999a**. Gender differences in knee cartilage volume as measured by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis Cartilage* 7: 265-71.
- Cicuttini F, Forbes A, Morris K, Darling S, Bailey M and Stuckey S. **1999b**. Gender differences in knee cartilage volume as measured by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 7: 265-71.
- Cicuttini F, Wluka A, Wang Y and Stuckey S. **2002a**. The determinants of change in patella cartilage volume in osteoarthritic knees. *The Journal of rheumatology* 29: 2615-9.
- Cicuttini FM, Forbes A, Yuanyuan W, Rush G and Stuckey SL. **2002b**. Rate of knee cartilage loss after partial meniscectomy. *The Journal of rheumatology* 29: 1954-6.
- Cicuttini FM, Teichtahl AJ, Wluka AE, Davis S, Strauss BJ and Ebeling PR. **2005**. The relationship between body composition and knee cartilage volume in healthy, middle-aged subjects. *Arthritis and rheumatism* 52: 461-7.
- Cimmino MA, Innocenti S, Livrone F, Magnaguagno F, Silvestri E and Garlaschi G. **2003**. Dynamic gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of the wrist in patients with rheumatoid arthritis can discriminate active from inactive disease. *Arthritis and rheumatism* 48: 1207-13.
- Cohen NP, Foster RJ and Mow VC. **1998**. Composition and dynamics of articular cartilage: structure, function, and maintaining healthy state. *The Journal of orthopaedic and sports physical therapy* 28: 203-15.
- Cohen ZA, McCarthy DM, Kwak SD, Legrand P, Fogarasi F, Ciaccio EJ and Ateshian GA. **1999a**. Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 7: 95-109.
- Cohen ZA, McCarthy DM, Kwak SD, Legrand P, Fogarasi F, Ciaccio EJ and Ateshian GA. **1999b**. Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis Cartilage* 7: 95-109.
- Cole MB, Jr. **1984**. Alteration of cartilage matrix morphology with histological processing. *Journal of microscopy* 133: 129-40.
- Conrozier T, Lequesne M, Favret H, Taccoen A, Mazieres B, Dougados M, Vignon M and Vignon E. **2001**. Measurement of the radiological hip joint space width. An evaluation of various methods of measurement. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 281-6.
- Constantine VS and Mowry RW. **1968a**. Selective staining of human dermal collagen. I. An analysis of standard methods. *The Journal of investigative dermatology* 50: 414-8.
- Constantine VS and Mowry RW. **1968b**. Selective staining of human dermal collagen. II. The use of picosirius red F3BA with polarization microscopy. *The Journal of investigative dermatology* 50: 419-23.
- Constantinides CD, Gillen JS, Boada FE, Pomper MG and Bottomley PA. **2000**. Human skeletal muscle: sodium MR imaging and quantification-potential applications in exercise and disease. *Radiology* 216: 559-68.

- Creamer P, Keen M, Zananiri F, Waterton JC, Maciewicz RA, Oliver C, Dieppe P and Watt I. **1997**. Quantitative magnetic resonance imaging of the knee: a method of measuring response to intra-articular treatments. *Annals of the rheumatic diseases* 56: 378-81.
- Cremer MA, Rosloniec EF and Kang AH. **1998**. The cartilage collagens: a review of their structure, organization, and role in the pathogenesis of experimental arthritis in animals and in human rheumatic disease. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* 76: 275-88.
- Dacre JE, Coppock JS, Herbert KE, Perrett D and Huskisson EC. **1989**. Development of a new radiographic scoring system using digital image analysis. *Annals of the rheumatic diseases* 48: 194-200.
- Dam EB, Folkesson J, Pettersen PC and Christiansen C. **2007**. Automatic morphometric cartilage quantification in the medial tibial plateau from MRI for osteoarthritis grading. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 15: 808-18.
- Danielsson P. **1980**. Euclidean Distance Mapping. *Computer Graphics and Image Processings* 14: 227-48.
- Dardzinski BJ, Mosher TJ, Li S, Van Slyke MA and Smith MB. **1997**. Spatial variation of T2 in human articular cartilage. *Radiology* 205: 546-50.
- De Ceuninck F and Caliez A. **2004**. A simple and reliable assay of proteoglycan synthesis by cultured chondrocytes. *Methods in molecular medicine* 100: 209-18.
- De Palma A, McKeever C and Subin S. **1966**. Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine. *Clin Orthop Relat Res* 48: 229-42.
- Dedrick DK, Goldstein SA, Brandt KD, O'Connor BL, Goulet RW and Albrecht M. **1993**. A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate-deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months. *Arthritis and rheumatism* 36: 1460-7.
- DeFrate LE, Sun H, Gill TJ, Rubash HE and Li G. **2004**. In vivo tibiofemoral contact analysis using 3D MRI-based knee models. *Journal of biomechanics* 37: 1499-504.
- Deutsch AL and Mink JH. **1989**. Magnetic resonance imaging of musculoskeletal injuries. *Radiologic clinics of North America* 27: 983-1002.
- Dieppe P, Brandt KD, Lohmander S and Felson DT. **1995**. Detecting and measuring disease modification in osteoarthritis. The need for standardized methodology. *The Journal of rheumatology* 22: 201-3.
- Dijkgraaf LC, de Bont LG, Boering G and Liem RS. **1995**. Normal cartilage structure, biochemistry, and metabolism: a review of the literature. *Journal of oral and maxillofacial surgery* 53: 924-9.
- Dijkstra EW. **1959**. A note on Two Problems in Connexion with Graphs. *Numerische mathematik* 1: 269-71.
- Ding C, Cicuttini F and Jones G. **2008a**. How important is MRI for detecting early osteoarthritis? *Nature clinical practice* 4: 4-5.
- Ding C, Cicuttini F, Scott F, Cooley H and Jones G. **2005a**. Association between age and knee structural change: a cross sectional MRI based study. *Annals of the rheumatic diseases* 64: 549-55.
- Ding C, Cicuttini F, Scott F, Cooley H and Jones G. **2005b**. Knee structural alteration and BMI: a cross-sectional study. *Obesity research* 13: 350-61.
- Ding C, Cicuttini F, Scott F, Glisson M and Jones G. **2003**. Sex differences in knee cartilage volume in adults: role of body and bone size, age and physical activity. *Rheumatology (Oxford, England)* 42: 1317-23.
- Ding C, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Abram F, Raynauld JP, Cicuttini F and Jones G. **2008b**. Two-year prospective longitudinal study exploring the factors associated with

- change in femoral cartilage volume in a cohort largely without knee radiographic osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 16: 443-9.
- Ding C, Parameswaran V, Cicuttini F, Burgess J, Zhai G, Quinn S and Jones G. **2008c**. Association between leptin, body composition, sex and knee cartilage morphology in older adults: the Tasmanian older adult cohort (TASOAC) study. *Annals of the rheumatic diseases* 67: 1256-61.
- Disler DG. **1997**. Fat-suppressed three-dimensional spoiled gradient-recalled MR imaging: assessment of articular and physal hyaline cartilage. *AJR* 169: 1117-23.
- Disler DG, McCauley TR, Kelman CG, Fuchs MD, Ratner LM, Wirth CR and Hospodar PP. **1996**. Fat-suppressed three-dimensional spoiled gradient-echo MR imaging of hyaline cartilage defects in the knee: comparison with standard MR imaging and arthroscopy. *AJR* 167: 127-32.
- Dougados M, Ayrat X, Listrat V, Gueguen A, Bahuaud J, Beaufils P, Beguin JA, Bonvarlet JP, Boyer T, Coudane H and et al. **1994**. The SFA system for assessing articular cartilage lesions at arthroscopy of the knee. *Arthroscopy* 10: 69-77.
- Drape JL, Thelen P, Gay-Depassier P, Silbermann O and Benacerraf R. **1993**. Intraarticular diffusion of Gd-DOTA after intravenous injection in the knee: MR imaging evaluation. *Radiology* 188: 227-34.
- Dupuis DE, Beynon BD, Richard MJ, Novotny JE, Skelly JM and Cooper SM. **2003**. Precision and accuracy of joint space width measurements of the medial compartment of the knee using standardized MTP semi-flexed radiographs. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 11: 716-24.
- Dye SF and Boll DA. **1986**. Radionuclide imaging of the patellofemoral joint in young adults with anterior knee pain. *The Orthopedic clinics of North America* 17: 249-62.
- Eckstein F. **2004**. Noninvasive study of human cartilage structure by MRI. *Methods in molecular medicine* 101: 191-217.
- Eckstein F, Adam C, Sittek H, Becker C, Milz S, Schulte E, Reiser M and Putz R. **1997**. Non-invasive determination of cartilage thickness throughout joint surfaces using magnetic resonance imaging. *Journal of biomechanics* 30: 285-9.
- Eckstein F, Ateshian G, Burgkart R, Burstein D, Cicuttini F, Dardzinski B, Gray M, Link TM, Majumdar S, Mosher T, Peterfy C, Totterman S, Waterton J, Winalski CS and Felson D. **2006a**. Proposal for a nomenclature for magnetic resonance imaging based measures of articular cartilage in osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 14: 974-83.
- Eckstein F, Cicuttini F, Raynauld JP, Waterton JC and Peterfy C. **2006b**. Magnetic resonance imaging (MRI) of articular cartilage in knee osteoarthritis (OA): morphological assessment. *Osteoarthritis Cartilage* 14 Suppl A: A46-75.
- Eckstein F, Cicuttini F, Raynauld JP, Waterton JC and Peterfy C. **2006c**. Magnetic resonance imaging (MRI) of articular cartilage in knee osteoarthritis (OA): morphological assessment. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 14 Suppl A: A46-75.
- Eckstein F, Faber S, Muhlbauer R, Hohe J, Englmeier KH, Reiser M and Putz R. **2002a**. Functional adaptation of human joints to mechanical stimuli. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 10: 44-50.
- Eckstein F, Gavazzeni A, Sittek H, Haubner M, Losch A, Milz S, Englmeier KH, Schulte E, Putz R and Reiser M. **1996**. Determination of knee joint cartilage thickness using three-dimensional magnetic resonance chondro-crassometry (3D MR-CCM). *Magnetic resonance in medicine* 36: 256-65.

- Eckstein F and Glaser C. **2004a**. Measuring cartilage morphology with quantitative magnetic resonance imaging. *Seminars in musculoskeletal radiology* 8: 329-53.
- Eckstein F and Glaser C. **2004b**. Measuring cartilage morphology with quantitative magnetic resonance imaging. *Semin Musculoskelet Radiol* 8: 329-53.
- Eckstein F, Heudorfer L, Faber SC, Burgkart R, Englmeier KH and Reiser M. **2002b**. Long-term and resegmentation precision of quantitative cartilage MR imaging (qMRI). *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 10: 922-8.
- Eckstein F, Hudelmaier M and Putz R. **2006d**. The effects of exercise on human articular cartilage. *Journal of anatomy* 208: 491-512.
- Eckstein F, Hudelmaier M and Putz R. **2006e**. The effects of exercise on human articular cartilage. *J Anat* 208: 491-512.
- Eckstein F, Lemberger B, Stammberger T, Englmeier KH and Reiser M. **2000a**. Patellar cartilage deformation in vivo after static versus dynamic loading. *Journal of biomechanics* 33: 819-25.
- Eckstein F, Schnier M, Haubner M, Priebisch J, Glaser C, Englmeier KH and Reiser M. **1998a**. Accuracy of cartilage volume and thickness measurements with magnetic resonance imaging. *Clinical orthopaedics and related research*: 137-48.
- Eckstein F, Stammberger T, Priebisch J, Englmeier KH and Reiser M. **2000b**. Effect of gradient and section orientation on quantitative analysis of knee joint cartilage. *Journal of magnetic resonance imaging* 11: 161-7.
- Eckstein F, Tieschky M, Faber S, Englmeier KH and Reiser M. **1999**. Functional analysis of articular cartilage deformation, recovery, and fluid flow following dynamic exercise in vivo. *Anatomy and embryology* 200: 419-24.
- Eckstein F, Tieschky M, Faber SC, Haubner M, Kolem H, Englmeier KH and Reiser M. **1998b**. Effect of physical exercise on cartilage volume and thickness in vivo: MR imaging study. *Radiology* 207: 243-8.
- Eckstein F, Winzheimer M, Hohe J, Englmeier KH and Reiser M. **2001**. Interindividual variability and correlation among morphological parameters of knee joint cartilage plates: analysis with three-dimensional MR imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 101-11.
- Ehman RL, Berquist TH and McLeod RA. **1988**. MR imaging of the musculoskeletal system: a 5-year appraisal. *Radiology* 166: 313-20.
- Engel A. **1990**. Magnetic resonance knee arthrography. Enhanced contrast by gadolinium complex in the rabbit and in humans. *Acta orthopaedica Scandinavica* 240: 1-57.
- Engelke K, Hahn M, Takada M, Vogel M, Ouyang X, Delling G and Genant HK. **2001**. Structural analysis of high resolution in vitro MR images compared to stained grindings. *Calcified tissue international* 68: 163-71.
- Eyre DR and Wu JJ. **1995**. Collagen structure and cartilage matrix integrity. *The Journal of rheumatology* 43: 82-5.
- Faber SC, Eckstein F, Lukasz S, Muhlbauer R, Hohe J, Englmeier KH and Reiser M. **2001a**. Gender differences in knee joint cartilage thickness, volume and articular surface areas: assessment with quantitative three-dimensional MR imaging. *Skeletal Radiol* 30: 144-50.
- Faber SC, Eckstein F, Lukasz S, Muhlbauer R, Hohe J, Englmeier KH and Reiser M. **2001b**. Gender differences in knee joint cartilage thickness, volume and articular surface areas: assessment with quantitative three-dimensional MR imaging. *Skeletal radiology* 30: 144-50.
- Falcao AX and Udupa JK. **2000a**. A 3D generalization of user-steered live-wire segmentation. *Medical image analysis* 4: 389-402.

- Falcao AX, Udupa JK and Miyazawa FK. **2000b**. An ultra-fast user-steered image segmentation paradigm: live wire on the fly. *IEEE transactions on medical imaging* 19: 55-62.
- Fam H, Bryant JT and Kontopoulou M. **2007**. Rheological properties of synovial fluids. *Biorheology* 44: 59-74.
- Faure P, Doan BT and Beloeil JC. **2003**. In-vivo high resolution three-dimensional MRI studies of rat joints at 7 T. *NMR in biomedicine* 16: 484-93.
- Felson DT, Chaisson CE, Hill CL, Totterman SM, Gale ME, Skinner KM, Kazis L and Gale DR. **2001**. The association of bone marrow lesions with pain in knee osteoarthritis. *Annals of internal medicine* 134: 541-9.
- Felson DT, McLaughlin S, Goggins J, LaValley MP, Gale ME, Totterman S, Li W, Hill C and Gale D. **2003**. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Annals of internal medicine* 139: 330-6.
- Fernandez-Madrid F, Karvonen RL, Teitge RA, Miller PR, An T and Negendank WG. **1995**. Synovial thickening detected by MR imaging in osteoarthritis of the knee confirmed by biopsy as synovitis. *Magnetic resonance imaging* 13: 177-83.
- Fernandez-Madrid F, Karvonen RL, Teitge RA, Miller PR and Negendank WG. **1994**. MR features of osteoarthritis of the knee. *Magnetic resonance imaging* 12: 703-9.
- Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Cavani F, Setti S, Cane V and Giardino R. **2005**. Pulsed electromagnetic fields reduce knee osteoarthritic lesion progression in the aged Dunkin Hartley guinea pig. *Journal of orthopaedic research* 23: 899-908.
- FitzGerald O and Bresnihan B. **1995**. Synovial membrane cellularity and vascularity. *Annals of the rheumatic diseases* 54: 511-5.
- Folkesson J, Dam EB, Olsen OF, Karsdal MA, Pettersen PC and Christiansen C. **2008**. Automatic quantification of local and global articular cartilage surface curvature: biomarkers for osteoarthritis? *Magnetic resonance in medicine* 59: 1340-6.
- Fragonas E, Mlynarik V, Jellus V, Micali F, Piras A, Toffanin R, Rizzo R and Vittur F. **1998**. Correlation between biochemical composition and magnetic resonance appearance of articular cartilage. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 6: 24-32.
- Frahm J, Haase A and Matthaei D. **1986**. Rapid three-dimensional MR imaging using the FLASH technique. *Journal of computer assisted tomography* 10: 363-8.
- Frank LR, Wong EC, Luh WM, Ahn JM and Resnick D. **1999**. Articular cartilage in the knee: mapping of the physiologic parameters at MR imaging with a local gradient coil--preliminary results. *Radiology* 210: 241-6.
- Fripp J, Crozier S, Warfield SK and Ourselin S. **2007**. Automatic segmentation of articular cartilage in magnetic resonance images of the knee. *Medical image computing and computer-assisted intervention* 10: 186-94.
- Gaffney K, Cookson J, Blake D, Coumbe A and Blades S. **1995**. Quantification of rheumatoid synovitis by magnetic resonance imaging. *Arthritis and rheumatism* 38: 1610-7.
- Gahunia HK, Babyn P, Lemaire C, Kessler MJ and Pritzker KP. **1995**. Osteoarthritis staging: comparison between magnetic resonance imaging, gross pathology and histopathology in the rhesus macaque. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 3: 169-80.
- Galois L, Etienne S, Grossin L, Watrin-Pinzano A, Cournil-Henrionnet C, Loeuille D, Netter P, Mainard D and Gillet P. **2004**. Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 12: 779-86.
- Ghosh S, Beuf O, Ries M, Lane NE, Steinbach LS, Link TM and Majumdar S. **2000**. Watershed segmentation of high resolution magnetic resonance images of articular

- cartilage of the knee*. Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology - Proceedings.
- Gillis A, Gray M and Burstein D. **2002**. Relaxivity and diffusion of gadolinium agents in cartilage. *Magnetic resonance in medicine* 48: 1068-71.
- Glaser C, Burgkart R, Kutschera A, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2003**. Femoro-tibial cartilage metrics from coronal MR image data: Technique, test-retest reproducibility, and findings in osteoarthritis. *Magnetic resonance in medicine* 50: 1229-36.
- Glaser C, Faber S, Eckstein F, Fischer H, Springer V, Heudorfer L, Stammberger T, Englmeier KH and Reiser M. **2001**. Optimization and validation of a rapid high-resolution T1-w 3D FLASH water excitation MRI sequence for the quantitative assessment of articular cartilage volume and thickness. *Magnetic resonance imaging* 19: 177-85.
- Gluer CC, Blake G, Lu Y, Blunt BA, Jergas M and Genant HK. **1995**. Accurate assessment of precision errors: how to measure the reproducibility of bone densitometry techniques. *Osteoporosis international* 5: 262-70.
- Goebel JC, Bolbos R, Pinzano A, Schaeffer M, Rengle A, Galois L, Etienne S, Netter P, Loeuille D, Beuf O and Gillet P. **in press**. In vivo rat knee cartilage volume measurement using quantitative high resolution MRI (7 T): feasibility and reproducibility. *Bio-Medical Materials and Engineering*.
- Gold GE, Burstein D, Dardzinski B, Lang P, Boada F and Mosher T. **2006**. MRI of articular cartilage in OA: novel pulse sequences and compositional/functional markers. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 14 Suppl A: A76-86.
- Goodwin DW, Wadghiri YZ and Dunn JF. **1998**. Micro-imaging of articular cartilage: T2, proton density, and the magic angle effect. *Academic radiology* 5: 790-8.
- Gordon CL, Wu C, Peterfy CG, Li J, Duryea J, Klifa C and Genant HK. **2001**. Automated measurement of radiographic hip joint-space width. *Medical physics* 28: 267-77.
- Gougoutas AJ, Wheaton AJ, Borthakur A, Shapiro EM, Kneeland JB, Udupa JK and Reddy R. **2004a**. Cartilage volume quantification via Live Wire segmentation. *Acad Radiol* 11: 1389-95.
- Gougoutas AJ, Wheaton AJ, Borthakur A, Shapiro EM, Kneeland JB, Udupa JK and Reddy R. **2004b**. Cartilage volume quantification via Live Wire segmentation. *Academic radiology* 11: 1389-95.
- Graichen H, Springer V, Flaman T, Stammberger T, Glaser C, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2000**. Validation of high-resolution water-excitation magnetic resonance imaging for quantitative assessment of thin cartilage layers. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 8: 106-14.
- Graichen H, von Eisenhart-Rothe R, Vogl T, Englmeier KH and Eckstein F. **2004**. Quantitative assessment of cartilage status in osteoarthritis by quantitative magnetic resonance imaging: technical validation for use in analysis of cartilage volume and further morphologic parameters. *Arthritis and rheumatism* 50: 811-6.
- Granot J. **1988**. Sodium imaging of human body organs and extremities in vivo. *Radiology* 167: 547-50.
- Grau V, Mewes AU, Alcaniz M, Kikinis R and Warfield SK. **2004**. Improved watershed transform for medical image segmentation using prior information. *IEEE transactions on medical imaging* 23: 447-58.
- Gray ML, Burstein D, Lesperance LM and Gehrke L. **1995**. Magnetization transfer in cartilage and its constituent macromolecules. *Magnetic resonance in medicine* 34: 319-25.

- Gray ML, Burstein D and Xia Y. **2001**. Biochemical (and functional) imaging of articular cartilage. *Seminars in musculoskeletal radiology* 5: 329-43.
- Grunder W. **2006**. MRI assessment of cartilage ultrastructure. *NMR in biomedicine* 19: 855-76.
- Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P and Gillet P. **1997**. Monoiodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis and rheumatism* 40: 1670-9.
- Gyls-Morin VM, Hajek PC, Sartoris DJ and Resnick D. **1987**. Articular cartilage defects: detectability in cadaver knees with MR. *AJR* 148: 1153-7.
- Hamerman D. **1993**. Aging and osteoarthritis: basic mechanisms. *Journal of the American Geriatrics Society* 41: 760-70.
- Handelberg F, Shahabpour M and Casteleyn PP. **1990**. Chondral lesions of the patella evaluated with computed tomography, magnetic resonance imaging, and arthroscopy. *Arthroscopy* 6: 24-9.
- Hangody L, Kish G, Karpati Z, Udvarhelyi I, Szigeti I and Bely M. **1998**. Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: application in clinical practice. *Orthopedics* 21: 751-6.
- Hanna F, Ebeling PR, Wang Y, O'Sullivan R, Davis S, Wluka AE and Cicuttini FM. **2005**. Factors influencing longitudinal change in knee cartilage volume measured from magnetic resonance imaging in healthy men. *Annals of the rheumatic diseases* 64: 1038-42.
- Hardy PA, Recht MP and Piraino DW. **1998**. Fat suppressed MRI of articular cartilage with a spatial-spectral excitation pulse. *Journal of magnetic resonance imaging* 8: 1279-87.
- Hardya PA, Newmark R, Liu YM, Meier D, Norris S, Piraino DW and Shah A. **2000**. The influence of the resolution and contrast on measuring the articular cartilage volume in magnetic resonance images. *Magnetic resonance imaging* 18: 965-72.
- Hart DJ and Spector TD. **1995**. Radiographic criteria for epidemiologic studies of osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 43: 46-8.
- Hayes DW, Jr., Brower RL and John KJ. **2001**. Articular cartilage. Anatomy, injury, and repair. *Clinics in podiatric medicine and surgery* 18: 35-53.
- Hendrickson DA, Nixon AJ, Grande DA, Todhunter RJ, Minor RM, Erb H and Lust G. **1994**. Chondrocyte-fibrin matrix transplants for resurfacing extensive articular cartilage defects. *Journal of orthopaedic research* 12: 485-97.
- Herberhold C, Faber S, Stammberger T, Steinlechner M, Putz R, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **1999**. In situ measurement of articular cartilage deformation in intact femoropatellar joints under static loading. *J Biomech* 32: 1287-95.
- Hernandez-Molina G, Neogi T, Hunter DJ, Niu J, Guermazi A, Roemer FW, McLennan CE, Reichenbach S and Felson DT. **2007**. The association of bone attrition with knee pain and other MRI features of osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*.
- Hill CL, Gale DG, Chaisson CE, Skinner K, Kazis L, Gale ME and Felson DT. **2001**. Knee effusions, popliteal cysts, and synovial thickening: association with knee pain in osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 28: 1330-7.
- Hill CL, Gale DR, Chaisson CE, Skinner K, Kazis L, Gale ME and Felson DT. **2003**. Periarticular lesions detected on magnetic resonance imaging: prevalence in knees with and without symptoms. *Arthritis and rheumatism* 48: 2836-44.
- Hill CL, Hunter DJ, Niu J, Clancy M, Guermazi A, Genant H, Gale D, Grainger A, Conaghan P and Felson DT. **2007**. Synovitis detected on magnetic resonance imaging and its relation to pain and cartilage loss in knee osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 66: 1599-603.

- Hinterwimmer S, Gotthardt M, von Eisenhart-Rothe R, Sauerland S, Siebert M, Vogl T, Eckstein F and Graichen H. **2005**. In vivo contact areas of the knee in patients with patellar subluxation. *J Biomech* 38: 2095-101.
- Hinterwimmer S, Krammer M, Krotz M, Glaser C, Baumgart R, Reiser M and Eckstein F. **2004**. Cartilage atrophy in the knees of patients after seven weeks of partial load bearing. *Arthritis and rheumatism* 50: 2516-20.
- Hodler J, Berthiaume MJ, Schweitzer ME and Resnick D. **1992**. Knee joint hyaline cartilage defects: a comparative study of MR and anatomic sections. *Journal of computer assisted tomography* 16: 597-603.
- Hohe J, Ateshian G, Reiser M, Englmeier KH and Eckstein F. **2002**. Surface size, curvature analysis, and assessment of knee joint incongruity with MRI in vivo. *Magnetic resonance in medicine* 47: 554-61.
- Holmes MW, Bayliss MT and Muir H. **1988**. Hyaluronic acid in human articular cartilage. Age-related changes in content and size. *The Biochemical journal* 250: 435-41.
- Huang MH, Ding HJ, Chai CY, Huang YF and Yang RC. **1997**. Effects of sonication on articular cartilage in experimental osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 24: 1978-84.
- Huber M, Trattnig S and Lintner F. **2000**. Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage. *Investigative radiology* 35: 573-80.
- Hudelmaier M, Glaser C, Hohe J, Englmeier KH, Reiser M, Putz R and Eckstein F. **2001**. Age-related changes in the morphology and deformational behavior of knee joint cartilage. *Arthritis and rheumatism* 44: 2556-61.
- Hunter DJ, Niu J, Zhang Y, Totterman S, Tamez J, Dabrowski C, Davies R, Hellio Le Graverand MP, Luchi M, Tymofyeyev Y and Beals CR. **2008**. Change in cartilage morphometry: a sample of the progression cohort of the Osteoarthritis Initiative. *Annals of the rheumatic diseases*.
- Hunziker EB. **1999**. Articular cartilage repair: are the intrinsic biological constraints undermining this process insuperable? *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 7: 15-28.
- Hunziker EB. **2001**. Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 22-32.
- Huskisson EC. **1974**. Measurement of pain. *Lancet* 2: 1127-31.
- Hyhlik-Durr A, Faber S, Burgkart R, Stammberger T, Maag KP, Englmeier KH, Reiser M and Eckstein F. **2000**. Precision of tibial cartilage morphometry with a coronal water-excitation MR sequence. *European radiology* 10: 297-303.
- Imhof H, Nobauer-Huhmann IM, Krestan C, Gahleitner A, Sulzbacher I, Marlovits S and Trattnig S. **2002**. MRI of the cartilage. *European radiology* 12: 2781-93.
- Jaffre B, Watrin A, Loeuille D, Gillet P, Netter P, Laugier P and Saied A. **2003**. Effects of antiinflammatory drugs on arthritic cartilage: a high-frequency quantitative ultrasound study in rats. *Arthritis and rheumatism* 48: 1594-601.
- Jiang Y, Zhao J, White DL and Genant HK. **2000**. Micro CT and Micro MR imaging of 3D architecture of animal skeleton. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* 1: 45-51.
- Jimenez PA, Glasson SS, Trubetskoy OV and Haimes HB. **1997**. Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Laboratory animal science* 47: 598-601.
- Joiner GA, Bogoch ER, Pritzker KP, Buschmann MD, Chevrier A and Foster FS. **2001**. High frequency acoustic parameters of human and bovine articular cartilage following experimentally-induced matrix degradation. *Ultrasonic imaging* 23: 106-16.

- Jones G, Glisson M, Hynes K and Cicuttini F. **2000**. Sex and site differences in cartilage development: a possible explanation for variations in knee osteoarthritis in later life. *Arthritis and rheumatism* 43: 2543-9.
- Jonsson K, Buckwalter K, Helvie M, Niklason L and Martel W. **1992**. Precision of hyaline cartilage thickness measurements. *Acta radiologica (Stockholm, Sweden)* 33: 234-9.
- Jouzeau JY, Gillet P and Netter P. **2000**. Interest of animal models in the preclinical screening of anti-osteoarthritic drugs. *Joint, bone, spine* 67: 565-9.
- Junqueira LC, Bignolas G and Brentani RR. **1979**. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *The Histochemical journal* 11: 447-55.
- Kaab MJ, Ito K, Clark JM and Notzli HP. **2000**. The acute structural changes of loaded articular cartilage following meniscectomy or ACL-transection. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 8: 464-73.
- Kapadia RD, Badger AM, Levin JM, Swift B, Bhattacharyya A, Dodds RA, Coatney RW and Lark MW. **2000**. Meniscal ossification in spontaneous osteoarthritis in the guinea-pig. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 8: 374-7.
- Kapadia RD, Stroup GB, Badger AM, Koller B, Levin JM, Coatney RW, Dodds RA, Liang X, Lark MW and Gowen M. **1998**. Applications of micro-CT and MR microscopy to study pre-clinical models of osteoporosis and osteoarthritis. *Technology and health care* 6: 361-72.
- Karahan S, Kincaid SA, Kammermann JR and Wright JC. **2001**. Evaluation of the rat stifle joint after transection of the cranial cruciate ligament and partial medial meniscectomy. *Comparative medicine* 51: 504-12.
- Kawahara Y, Uetani M, Nakahara N, Doiguchi Y, Nishiguchi M, Futagawa S, Kinoshita Y and Hayashi K. **1998**. Fast spin-echo MR of the articular cartilage in the osteoarthrotic knee. Correlation of MR and arthroscopic findings. *Acta radiologica (Stockholm, Sweden)* 39: 120-5.
- Kawamura S, Wakitani S, Kimura T, Maeda A, Caplan AI, Shino K and Ochi T. **1998**. Articular cartilage repair. Rabbit experiments with a collagen gel-biomatrix and chondrocytes cultured in it. *Acta orthopaedica Scandinavica* 69: 56-62.
- Kellgren JH and Lawrence JS. **1957**. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Annals of the rheumatic diseases* 16: 494-502.
- Kelly-Fry E, Morris ST, Jackson VP, Holden RW and Sanghvi NT. **1988**. Variation of transducer frequency output and receiver band-pass characteristics for improved detection and image characterization of solid breast masses. *Ultrasound in medicine & biology* 14 Suppl 1: 143-61.
- Kikuchi T, Sakuta T and Yamaguchi T. **1998**. Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 6: 177-86.
- Kim DK, Ceckler TL, Hascall VC, Calabro A and Balaban RS. **1993**. Analysis of water-macromolecule proton magnetization transfer in articular cartilage. *Magnetic resonance in medicine* 29: 211-5.
- Kim HK, Babyn PS, Harasiewicz KA, Gahunia HK, Pritzker KP and Foster FS. **1995**. Imaging of immature articular cartilage using ultrasound backscatter microscopy at 50 MHz. *Journal of orthopaedic research* 13: 963-70.
- Kittler J and Illingworth J. **1986**. Minimum error thresholding. *Pattern Recognition* 19: 41-7.
- Kladny B, Bail H, Swoboda B, Schiwy-Bochat H, Beyer WF and Weseloh G. **1996**. Cartilage thickness measurement in magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 4: 181-6.

- Kline RP, Wu EX, Petrylak DP, Szabolcs M, Alderson PO, Weisfeldt ML, Cannon P and Katz J. **2000**. Rapid in vivo monitoring of chemotherapeutic response using weighted sodium magnetic resonance imaging. *Clinical cancer research* 6: 2146-56.
- Krenn V, Morawietz L, Burmester GR, Kinne RW, Mueller-Ladner U, Muller B and Haupl T. **2006**. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis. *Histopathology* 49: 358-64.
- Laasanen MS, Toyras J, Hirvonen J, Saarakkala S, Korhonen RK, Nieminen MT, Kiviranta I and Jurvelin JS. **2002**. Novel mechano-acoustic technique and instrument for diagnosis of cartilage degeneration. *Physiological measurement* 23: 491-503.
- Lammentausta E, Kiviranta P, Nissi MJ, Laasanen MS, Kiviranta I, Nieminen MT and Jurvelin JS. **2006**. T2 relaxation time and delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage (dGEMRIC) of human patellar cartilage at 1.5 T and 9.4 T: Relationships with tissue mechanical properties. *Journal of orthopaedic research* 24: 366-74.
- Lapadula G, Nico B, Cantatore FP, La Canna R, Roncali L and Pipitone V. **1995**. Early ultrastructural changes of articular cartilage and synovial membrane in experimental vitamin A-induced osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 22: 1913-21.
- Laurent D, Wasvary J, Yin J, Rudin M, Pellas TC and O'Byrne E. **2001**. Quantitative and qualitative assessment of articular cartilage in the goat knee with magnetization transfer imaging. *Magnetic resonance imaging* 19: 1279-86.
- Layton MW, Goldstein SA, Goulet RW, Feldkamp LA, Kubinski DJ and Bole GG. **1988**. Examination of subchondral bone architecture in experimental osteoarthritis by microscopic computed axial tomography. *Arthritis and rheumatism* 31: 1400-5.
- Lehner KB, Rechl HP, Gmeinwieser JK, Heuck AF, Lukas HP and Kohl HP. **1989**. Structure, function, and degeneration of bovine hyaline cartilage: assessment with MR imaging in vitro. *Radiology* 170: 495-9.
- Lequesne M, Brandt K, Bellamy N, Moskowitz R, Menkes CJ, Pelletier JP and Altman R. **1994**. Guidelines for testing slow acting drugs in osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 41: 65-71; discussion 2-3.
- Lequesne MG, Mery C, Samson M and Gerard P. **1987**. Indexes of severity for osteoarthritis of the hip and knee. Validation--value in comparison with other assessment tests. *Scandinavian journal of rheumatology* 65: 85-9.
- Lesur C and Sabatini M. **2004**. Assays of proteoglycan and collagen degradation in cultures of rabbit cartilage explants. *Methods in molecular medicine* 100: 219-36.
- Levy AS, Lohnes J, Sculley S, LeCroy M and Garrett W. **1996**. Chondral delamination of the knee in soccer players. *The American journal of sports medicine* 24: 634-9.
- Liang J, McInerney T and Terzopoulos D. **2006a**. United snakes. *Medical image analysis* 10: 215-33.
- Liang J, McInerney T and Terzopoulos D. **2006b**. United snakes. *Med Image Anal* 10: 215-33.
- Liess C, Lusse S, Karger N, Heller M and Gluer CC. **2002**. Detection of changes in cartilage water content using MRI T2-mapping in vivo. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 10: 907-13.
- Link TM, Lindner N, Haeussler M, Reimer P, Allkemper T, Jerosch J, Peterfy C, Majumdar S and Peters PE. **1997**. Artificially produced cartilage lesions in small joints: detection with optimized MRI-sequences. *Magnetic resonance imaging* 15: 949-56.
- Link TM, Majumdar S, Peterfy C, Daldrup HE, Uffmann M, Dowling C, Steinbach L and Genant HK. **1998**. High resolution MRI of small joints: impact of spatial resolution on diagnostic performance and SNR. *Magnetic resonance imaging* 16: 147-55.
- Loeuille D, Chary-Valckenaere I, Champigneulle J, Rat AC, Toussaint F, Pinzano-Watrin A, Goebel JC, Mainard D, Blum A, Pourel J, Netter P and Gillet P. **2005**. Macroscopic

- and microscopic features of synovial membrane inflammation in the osteoarthritic knee: correlating magnetic resonance imaging findings with disease severity. *Arthritis and rheumatism* 52: 3492-501.
- Loeuille D, Goebel JC, Rat AC, Watrin A, Gillet P, Pourel J, Blum A and Chary-Valckenaere I. **2006**. Interest of MRI to detect cartilage and articular lesions in osteoarthritic knee. *Apport de l'IRM au bilan le?SIONNEL cartilagineux et articulaire dans la pathologie de?ge?ne?rative du genou* 73: 609-16.
- Loeuille D, Gonord P, Guingamp C, Gillet P, Blum A, Sauzade M and Netter P. **1997**. In vitro magnetic resonance microimaging of experimental osteoarthritis in the rat knee joint. *The Journal of rheumatology* 24: 133-9.
- Loeuille D, Olivier P, Mainard D, Gillet P, Netter P and Blum A. **1998**. Review: Magnetic resonance imaging of normal and osteoarthritic cartilage. *Arthritis and rheumatism* 41: 963-75.
- Loncaric S. **1998**. A survey of shape analysis techniques. *Pattern Recognition* 31: 983-1001.
- Lusse S, Claassen H, Gehrke T, Hassenpflug J, Schunke M, Heller M and Gluer CC. **2000**. Evaluation of water content by spatially resolved transverse relaxation times of human articular cartilage. *Magnetic resonance imaging* 18: 423-30.
- Lusse S, Knauss R, Werner A, Grunder W and Arnold K. **1995**. Action of compression and cations on the proton and deuterium relaxation in cartilage. *Magnetic resonance in medicine* 33: 483-9.
- Maier CF, Tan SG, Hariharan H and Potter HG. **2003**. T2 quantitation of articular cartilage at 1.5 T. *Journal of magnetic resonance imaging* 17: 358-64.
- Mankin HJ. **1982**. The response of articular cartilage to mechanical injury. *The Journal of bone and joint surgery* 64: 460-6.
- Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L and 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* 53: 523-37.
- Marr D and Hildreth E. **1980**. Theory of edge detection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character* 207: 187-217.
- Marshall KW, Guthrie BT and Mikulis DJ. **1995**. Quantitative cartilage imaging. *British journal of rheumatology* 34 Suppl 1: 29-31.
- Martel-Pelletier J. **1998**. Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 6: 374-6.
- McAlindon TE, Watt I, McCrae F, Goddard P and Dieppe PA. **1991**. Magnetic resonance imaging in osteoarthritis of the knee: correlation with radiographic and scintigraphic findings. *Annals of the rheumatic diseases* 50: 14-9.
- McGibbon CA, Dupuy DE, Palmer WE and Krebs DE. **1998**. Cartilage and subchondral bone thickness distribution with MR imaging. *Academic radiology* 5: 20-5.
- McWalter EJ, Wirth W, Siebert M, von Eisenhart-Rothe RM, Hudelmaier M, Wilson DR and Eckstein F. **2005**. Use of novel interactive input devices for segmentation of articular cartilage from magnetic resonance images. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 13: 48-53.
- Meachim G, Bentley G and Baker R. **1977**. Effect of age on thickness of adult patellar articular cartilage. *Annals of the rheumatic diseases* 36: 563-8.
- Meacock SC, Bodmer JL and Billingham ME. **1990**. Experimental osteoarthritis in guinea-pigs. *Journal of experimental pathology (Oxford, England)* 71: 279-93.
- Melrose J, Smith S and Ghosh P. **2004**. Histological and immunohistological studies on cartilage. *Methods in molecular medicine* 101: 39-63.

- Mendler M, Eich-Bender SG, Vaughan L, Winterhalter KH and Bruckner P. **1989**. Cartilage contains mixed fibrils of collagen types II, IX, and XI. *The Journal of cell biology* 108: 191-7.
- Mendlik T, Faber SC, Weber J, Hohe J, Rauch E, Reiser M and Glaser C. **2004**. T2 quantitation of human articular cartilage in a clinical setting at 1.5 T: implementation and testing of four multiecho pulse sequence designs for validity. *Investigative radiology* 39: 288-99.
- Menezes NM, Gray ML, Hartke JR and Burstein D. **2004**. T2 and T1rho MRI in articular cartilage systems. *Magnetic resonance in medicine* 51: 503-9.
- Messner K, Fahlgren A, Ross I and Andersson B. **2000**. Simultaneous changes in bone mineral density and articular cartilage in a rabbit meniscectomy model of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 8: 197-206.
- Meyer EG, Baumer TG, Slade JM, Smith WE and Haut RC. **2008**. Tibiofemoral contact pressures and osteochondral microtrauma during anterior cruciate ligament rupture due to excessive compressive loading and internal torque of the human knee. *The American journal of sports medicine* 36: 1966-77.
- Mitrovic D. **1987**. Arthrose : perspectives et réalités. Paris, Masson: 110-7.
- Mitrovic D, Quintero M, Stankovic A and Ryckewaert A. **1983**. Cell density of adult human femoral condylar articular cartilage. Joints with normal and fibrillated surfaces. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 49: 309-16.
- Mlynarik V, Degraffi A, Toffanin R, Vittur F, Cova M and Pozzi-Mucelli RS. **1996**. Investigation of laminar appearance of articular cartilage by means of magnetic resonance microscopy. *Magnetic resonance imaging* 14: 435-42.
- Mollenhauer J, Bee JA, Lizarbe MA and von der Mark K. **1984**. Role of anchorin CII, a 31,000-mol-wt membrane protein, in the interaction of chondrocytes with type II collagen. *The Journal of cell biology* 98: 1572-9.
- Monson NL, Haughton VM, Modl JM, Sether LA and Ho KC. **1992**. Normal and degenerating articular cartilage: in vitro correlation of MR imaging and histologic findings. *Journal of magnetic resonance imaging* 2: 41-5.
- Mortensen EN and Barrett WA. **1998**. Interactive Segmentation with Intelligent Scissors. *Graphical Models and Image Processing* 60: 349-84.
- Mosher TJ and Dardzinski BJ. **2004a**. Cartilage MRI T2 relaxation time mapping: overview and applications. *Seminars in musculoskeletal radiology* 8: 355-68.
- Mosher TJ, Dardzinski BJ and Smith MB. **2000**. Human articular cartilage: influence of aging and early symptomatic degeneration on the spatial variation of T2--preliminary findings at 3 T. *Radiology* 214: 259-66.
- Mosher TJ, Liu Y, Yang QX, Yao J, Smith R, Dardzinski BJ and Smith MB. **2004b**. Age dependency of cartilage magnetic resonance imaging T2 relaxation times in asymptomatic women. *Arthritis and rheumatism* 50: 2820-8.
- Mosher TJ, Smith H, Dardzinski BJ, Schmithorst VJ and Smith MB. **2001**. MR imaging and T2 mapping of femoral cartilage: in vivo determination of the magic angle effect. *AJR* 177: 665-9.
- Moskalewski S, Hyc A, Grzela T and Malejczyk J. **1993**. Differences in cartilage formed intramuscularly or in joint surface defects by syngeneic rat chondrocytes isolated from the articular-epiphyseal cartilage complex. *Cell transplantation* 2: 467-73.
- Munasinghe JP, Tyler JA, Carpenter TA and Hall LD. **1995**. High resolution MR imaging of joint degeneration in the knee of the STR/ORT mouse. *Magnetic resonance imaging* 13: 421-8.

- Munasinghe JP, Tyler JA, Hodgson RJ, Barry MA, Gresham GA, Evans R and Hall LD. **1996**. Magnetic resonance imaging, histology, and x-ray of three stages of damage to the knees of STR/ORT mice. *Investigative radiology* 31: 630-8.
- Myers SL, Brandt KD, Ehlich JW, Braunstein EM, Shelbourne KD, Heck DA and Kalasinski LA. **1990**. Synovial inflammation in patients with early osteoarthritis of the knee. *The Journal of rheumatology* 17: 1662-9.
- Myers SL, Dines K, Brandt DA, Brandt KD and Albrecht ME. **1995**. Experimental assessment by high frequency ultrasound of articular cartilage thickness and osteoarthritic changes. *The Journal of rheumatology* 22: 109-16.
- Nieminen HJ, Toyras J, Rieppo J, Nieminen MT, Hirvonen J, Korhonen R and Jurvelin JS. **2002a**. Real-time ultrasound analysis of articular cartilage degradation in vitro. *Ultrasound in medicine & biology* 28: 519-25.
- Nieminen MT, Rieppo J, Silvennoinen J, Toyras J, Hakumaki JM, Hyttinen MM, Helminen HJ and Jurvelin JS. **2002b**. Spatial assessment of articular cartilage proteoglycans with Gd-DTPA-enhanced T1 imaging. *Magnetic resonance in medicine* 48: 640-8.
- Nieminen MT, Rieppo J, Toyras J, Hakumaki JM, Silvennoinen J, Hyttinen MM, Helminen HJ and Jurvelin JS. **2001**. T2 relaxation reveals spatial collagen architecture in articular cartilage: a comparative quantitative MRI and polarized light microscopic study. *Magnetic resonance in medicine* 46: 487-93.
- Noguchi T, Oka M, Fujino M, Neo M and Yamamuro T. **1994**. Repair of osteochondral defects with grafts of cultured chondrocytes. Comparison of allografts and isografts. *Clinical orthopaedics and related research*: 251-8.
- Nolte-Ernsting CC, Adam G, Buhne M, Prescher A and Gunther RW. **1996**. MRI of degenerative bone marrow lesions in experimental osteoarthritis of canine knee joints. *Skeletal radiology* 25: 413-20.
- O'Byrne EM, Paul PK, Roberts ED, Blancuzzi V, Wilson D, Goldberg RL and DiPasquale G. **1993**. Comparison of magnetic resonance imaging (MRI) and histopathology in rabbit models of osteoarthritis and immune arthritis. *Agents and actions* 39 Spec No: C157-9.
- Oakley SP, Portek I, Szomor Z, Appleyard RC, Ghosh P, Kirkham BW, Murrell GA and Lassere MN. **2005**. Arthroscopy -- a potential "gold standard" for the diagnosis of the chondropathy of early osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 13: 368-78.
- Oda JY, Liberti EA, Maifrino LB and de Souza RR. **2007**. Variation in articular cartilage in rats between 3 and 32 months old. A histomorphometric and scanning electron microscopy study. *Biogerontology* 8: 345-52.
- Ollier M, Maurizis JC, Nicolas C, Bonafous J, de Latour M, Veyre A and Madelmont JC. **2001**. Joint scintigraphy in rabbits with 99mTc-N-[3-(triethylammonio)propyl]-15ane-N5, a new radiodiagnostic agent for articular cartilage imaging. *Journal of nuclear medicine* 42: 141-5.
- Ostergaard M. **1997**. Different approaches to synovial membrane volume determination by magnetic resonance imaging: manual versus automated segmentation. *British journal of rheumatology* 36: 1166-77.
- Ostergaard M, Hansen M, Stoltenberg M and Lorenzen I. **1996**. Quantitative assessment of the synovial membrane in the rheumatoid wrist: an easily obtained MRI score reflects the synovial volume. *British journal of rheumatology* 35: 965-71.
- Ostergaard M, Stoltenberg M, Lovgreen-Nielsen P, Volck B, Jensen CH and Lorenzen I. **1997**. Magnetic resonance imaging-determined synovial membrane and joint effusion volumes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: comparison with the macroscopic and microscopic appearance of the synovium. *Arthritis and rheumatism* 40: 1856-67.

- Ostergaard M, Stoltenberg M, Lovgreen-Nielsen P, Volck B, Sonne-Holm S and Lorenzen I. **1998**. Quantification of synovitis by MRI: correlation between dynamic and static gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging and microscopic and macroscopic signs of synovial inflammation. *Magnetic resonance imaging* 16: 743-54.
- Otterness IG and Bliven ML. **1995**. Laboratory models for testing nonsteroidal antiinflammatory drugs. In *Nonsteroidal antiinflammatory drugs*. (J. G. Lombardino). New York, John Wiley & Sons: 112–251.
- Pap G, Eberhardt R, Sturmer I, Machner A, Schwarzberg H, Roessner A and Neumann W. **1998**. Development of osteoarthritis in the knee joints of Wistar rats after strenuous running exercise in a running wheel by intracranial self-stimulation. *Pathology, research and practice* 194: 41-7.
- Pastoureau P and Chomel A. **2004**. Methods for cartilage and subchondral bone histomorphometry. *Methods in molecular medicine* 101: 79-91.
- Pastoureau P, Leduc S, Chomel A and De Ceuninck F. **2003**. Quantitative assessment of articular cartilage and subchondral bone histology in the meniscectomized guinea pig model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 11: 412-23.
- Patel NA, Zoeller J, Stamper DL, Fujimoto JG and Brezinski ME. **2005**. Monitoring osteoarthritis in the rat model using optical coherence tomography. *IEEE transactions on medical imaging* 24: 155-9.
- Paul AK, Lobarinas E, Simmons R, Wack D, Luisi JC, Spornyak J, Mazurchuk R, Abdel-Nabi H and Salvi R. **2008**. Metabolic imaging of rat brain during pharmacologically-induced tinnitus. *NeuroImage*.
- Paul PK, Jasani MK, Sebok D, Rakhit A, Dunton AW and Douglas FL. **1993**. Variation in MR signal intensity across normal human knee cartilage. *Journal of magnetic resonance imaging* 3: 569-74.
- Pellaumail B, Watrin A, Loeuille D, Netter P, Berger G, Laugier P and Saied A. **2002**. Effect of articular cartilage proteoglycan depletion on high frequency ultrasound backscatter. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 10: 535-41.
- Pellis L, Franssen-van Hal NL, Burema J and Keijer J. **2003**. The intraclass correlation coefficient applied for evaluation of data correction, labeling methods, and rectal biopsy sampling in DNA microarray experiments. *Physiological genomics* 16: 99-106.
- Peterfy CG. **2000**. Scratching the surface: articular cartilage disorders in the knee. *Magnetic resonance imaging clinics of North America* 8: 409-30.
- Peterfy CG. **2001**. Role of MR imaging in clinical research studies. *Seminars in musculoskeletal radiology* 5: 365-78.
- Peterfy CG, Gold G, Eckstein F, Cicuttini F, Dardzinski B and Stevens R. **2006**. MRI protocols for whole-organ assessment of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 14 Suppl A: A95-111.
- Peterfy CG, Guermazi A, Zaim S, Tirman PF, Miaux Y, White D, Kothari M, Lu Y, Fye K, Zhao S and Genant HK. **2004**. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 12: 177-90.
- Peterfy CG, Majumdar S, Lang P, van Dijke CF, Sack K and Genant HK. **1994a**. MR imaging of the arthritic knee: improved discrimination of cartilage, synovium, and effusion with pulsed saturation transfer and fat-suppressed T1-weighted sequences. *Radiology* 191: 413-9.
- Peterfy CG, van Dijke CF, Janzen DL, Gluer CC, Namba R, Majumdar S, Lang P and Genant HK. **1994b**. Quantification of articular cartilage in the knee with pulsed saturation

- transfer subtraction and fat-suppressed MR imaging: optimization and validation. *Radiology* 192: 485-91.
- Peterfy CG, van Dijke CF, Lu Y, Nguyen A, Connick TJ, Kneeland JB, Tirman PF, Lang P, Dent S and Genant HK. **1995**. Quantification of the volume of articular cartilage in the metacarpophalangeal joints of the hand: accuracy and precision of three-dimensional MR imaging. *AJR* 165: 371-5.
- Peyron JG. **1967**. Articular cartilage and arthrosis. *La semaine des hopitaux* 43: 114-29.
- Peyron JG. **1973**. Articular cartilage. 2. Physiopathology of aging and osteoarthritis. *La Nouvelle presse medicale* 2: 1711-4.
- Peyron JG. **1987**. Risk factors in osteoarthritis--how do they work? *The Journal of rheumatology* 14 Spec No: 1-2.
- Piplani MA, Disler DG, McCauley TR, Holmes TJ and Cousins JP. **1996**. Articular cartilage volume in the knee: semiautomated determination from three-dimensional reformations of MR images. *Radiology* 198: 855-9.
- Poole AR, Pidoux I, Reiner A, Choi H and Rosenberg LC. **1984**. Association of an extracellular protein (chondrocalcin) with the calcification of cartilage in endochondral bone formation. *The Journal of cell biology* 98: 54-65.
- Poole AR, Pidoux I, Reiner A and Rosenberg L. **1982**. An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein, and collagen in the matrix of articular cartilage. *The Journal of cell biology* 93: 921-37.
- Poole CA. **1992**. Chondrons: the chondrocyte and its pericellular microenvironment. In *Articular Cartilage and Osteoarthritis*. (S. R. Kuettner KE, Peyron JC, Hascall VC). New York, Raven Press: 201-20.
- Poole CA. **1997**. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *Journal of anatomy* 191: 1-13.
- Potter HG, Linklater JM, Allen AA, Hannafin JA and Haas SB. **1998**. Magnetic resonance imaging of articular cartilage in the knee. An evaluation with use of fast-spin-echo imaging. *The Journal of bone and joint surgery* 80: 1276-84.
- Pouletaut P, Goebel JC, Pinzano A, Bolbos R, Beuf O, Netter P, Ho Ba Tho MC and Gillet P. **2008**. MRI study of rat cartilage ageing process: knee joint contact sites geometrical assessments. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 11: 183 - 4.
- Proulx ST, Kwok E, You Z, Papuga MO, Beck CA, Shealy DJ, Ritchlin CT, Awad HA, Boyce BF, Xing L and Schwarz EM. **2007**. Longitudinal assessment of synovial, lymph node, and bone volumes in inflammatory arthritis in mice by in vivo magnetic resonance imaging and microfocal computed tomography. *Arthritis and rheumatism* 56: 4024-37.
- Racunica TL, Teichtahl AJ, Wang Y, Wluka AE, English DR, Giles GG, O'Sullivan R and Cicuttini FM. **2007**. Effect of physical activity on articular knee joint structures in community-based adults. *Arthritis and rheumatism* 57: 1261-8.
- Rahfoth B, Weisser J, Sternkopf F, Aigner T, von der Mark K and Brauer R. **1998**. Transplantation of allograft chondrocytes embedded in agarose gel into cartilage defects of rabbits. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 6: 50-65.
- Rauscher I, Stahl R, Cheng J, Li X, Huber MB, Luke A, Majumdar S and Link TM. **2008**. Meniscal measurements of T1rho and T2 at MR imaging in healthy subjects and patients with osteoarthritis. *Radiology* 249: 591-600.
- Ravaud P and Dougados M. **1997**. Radiographic assessment in osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 24: 786-91.

- Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Berthiaume MJ, Beaudoin G, Choquette D, Haraoui B, Tannenbaum H, Meyer JM, Beary JF, Cline GA and Pelletier JP. **2006**. Long term evaluation of disease progression through the quantitative magnetic resonance imaging of symptomatic knee osteoarthritis patients: correlation with clinical symptoms and radiographic changes. *Arthritis research & therapy* 8: R21.
- Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Berthiaume MJ, Labonte F, Beaudoin G, de Guise JA, Bloch DA, Choquette D, Haraoui B, Altman RD, Hochberg MC, Meyer JM, Cline GA and Pelletier JP. **2004**. Quantitative magnetic resonance imaging evaluation of knee osteoarthritis progression over two years and correlation with clinical symptoms and radiologic changes. *Arthritis and rheumatism* 50: 476-87.
- Recht MP, Kramer J, Marcelis S, Pathria MN, Trudell D, Haghighi P, Sartoris DJ and Resnick D. **1993**. Abnormalities of articular cartilage in the knee: analysis of available MR techniques. *Radiology* 187: 473-8.
- Recht MP, Piraino DW, Paletta GA, Schils JP and Belhobek GH. **1996**. Accuracy of fat-suppressed three-dimensional spoiled gradient-echo FLASH MR imaging in the detection of patellofemoral articular cartilage abnormalities. *Radiology* 198: 209-12.
- Recht MP and Resnick D. **1994**. MR imaging of articular cartilage: current status and future directions. *AJR* 163: 283-90.
- Reddy R, Insko EK, Noyszewski EA, Dandora R, Kneeland JB and Leigh JS. **1998**. Sodium MRI of human articular cartilage in vivo. *Magnetic resonance in medicine* 39: 697-701.
- Regatte RR, Akella SV, Borthakur A, Kneeland JB and Reddy R. **2002**. Proteoglycan depletion-induced changes in transverse relaxation maps of cartilage: comparison of T2 and T1rho. *Academic radiology* 9: 1388-94.
- Regatte RR, Kaufman JH, Noyszewski EA and Reddy R. **1999**. Sodium and proton MR properties of cartilage during compression. *Journal of magnetic resonance imaging* 10: 961-7.
- Reiser M, Karpf PM and Bennett P. **1982**. Diagnosis of chondromalacia patellae using CT arthrography. *European journal of radiology* 2: 181-6.
- Rengle A, Armenian M, Bolbos R, Goebel JC, Pinzano-Watrin A, Saint-Jalmes H, Gillet P and Beuf O. **2007**. A dedicated two-element phased array receiver coil for high resolution MRI of rat knee cartilage at 7T. *Conference proceedings 2007*: 3886-9.
- Resnick D. **2004**. *Bone and Joint Imaging*. Philadelphia, Saunders.
- Rijk PC, Tigchelaar-Gutter W, Bernoski FP and Van Noorden CJ. **2004**. Histologic changes in articular cartilage after medial meniscus replacement in rabbits. *Arthroscopy* 20: 911-7.
- Robinson D, Halperin N and Nevo Z. **1990**. Regenerating hyaline cartilage in articular defects of old chickens using implants of embryonal chick chondrocytes embedded in a new natural delivery substance. *Calcified tissue international* 46: 246-53.
- Roemer FW, Mohr A, Lynch JA, Meta MD, Guermazi A and Genant HK. **2005**. Micro-CT arthrography: a pilot study for the ex vivo visualization of the rat knee joint. *AJR* 184: 1215-9.
- Rooney M, Whelan A, Feighery C and Bresnihan B. **1989**. Changes in lymphocyte infiltration of the synovial membrane and the clinical course of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 32: 361-9.
- Rubin JM, Adler RS, Fowlkes JB, Spratt S, Pallister JE, Chen JF and Carson PL. **1995**. Fractional moving blood volume: estimation with power Doppler US. *Radiology* 197: 183-90.
- Ruwe PA, Wright J, Randall RL, Lynch JK, Jokl P and McCarthy S. **1992**. Can MR imaging effectively replace diagnostic arthroscopy? *Radiology* 183: 335-9.

- Sabatini M, Lesur C, Thomas M, Chomel A, Anract P, de Nanteuil G and Pastoureau P. **2005**. Effect of inhibition of matrix metalloproteinases on cartilage loss in vitro and in a guinea pig model of osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 52: 171-80.
- Saborowski O, Simon GH, Raatschen HJ, Wendland MF, Fu Y, Henning T, Baehner R, Corot C, Chen MH and Daldrup-Link HE. **2007**. MR imaging of antigen-induced arthritis with a new, folate receptor-targeted contrast agent. *Contrast media & molecular imaging* 2: 72-81.
- Saied A, Cherin E, Gaucher H, Laugier P, Gillet P, Floquet J, Netter P and Berger G. **1997**. Assessment of articular cartilage and subchondral bone: subtle and progressive changes in experimental osteoarthritis using 50 MHz echography in vitro. *Journal of bone and mineral research* 12: 1378-86.
- Saied A and Laugier P. **2004**. High-resolution ultrasonography for analysis of age- and disease-related cartilage changes. *Methods in molecular medicine* 101: 249-65.
- Samuels J, Krasnokutsky S and Abramson SB. **2008**. Osteoarthritis: a tale of three tissues. *Bulletin of the NYU hospital for joint diseases* 66: 244-50.
- Sappey-Marinié D, Beuf O, Billotey C, Chereul E, Dupuy J, Jeandey M, Grenier D, Hasserodt J, Langlois JB, Lartizien C, Mai W, Odet C, Samarut J, Vray D, Zimmer L and Janier M. **2004**. The ANIMAGE project: A multimodal imaging platform for small animal research. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 527: 117-23.
- Schmid TM and Linsenmayer TF. **1985**. Immunohistochemical localization of short chain cartilage collagen (type X) in avian tissues. *The Journal of cell biology* 100: 598-605.
- Scott GS, Crawford WH and Colahan PT. **2004**. Arthroscopic findings in horses with subtle radiographic evidence of osteochondral lesions of the medial femoral condyle: 15 cases (1995-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 1821-6.
- Scott WW, Jr., Lethbridge-Cejku M, Reichle R, Wigley FM, Tobin JD and Hochberg MC. **1993**. Reliability of grading scales for individual radiographic features of osteoarthritis of the knee. The Baltimore longitudinal study of aging atlas of knee osteoarthritis. *Investigative radiology* 28: 497-501.
- Seo GS, Aoki J, Moriya H, Karakida O, Sone S, Hidaka H and Katsuyama T. **1996**. Hyaline cartilage: in vivo and in vitro assessment with magnetization transfer imaging. *Radiology* 201: 525-30.
- Shapiro EM, Borthakur A, Kaufman JH, Leigh JS and Reddy R. **2001**. Water distribution patterns inside bovine articular cartilage as visualized by 1H magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 533-8.
- Shapiro F, Koide S and Glimcher MJ. **1993**. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *The Journal of bone and joint surgery* 75: 532-53.
- Siddiqi K, Lauziere YB, Tannenbaum A and Zucker SW. **1998**. Area and length minimizing flows for shape segmentation. *IEEE transactions on image processing* 7: 433-43.
- Silbermann-Hoffman O, Frot B, Moysan P, Thivet A, Miroux F and Benaceraff R. **1997**. Imagerie du cartilage par arthroscanner. In *Le genou traumatique et dégénératif*. (H. Bard, J. L. Drapé, D. Goutallier and J. D. Laredo). Paris, Sauramps médical: 41-7.
- Simon GH, von Vopelius-Feldt J, Fu Y, Schlegel J, Pinotek G, Wendland MF, Chen MH and Daldrup-Link HE. **2006a**. Ultrasmall supraparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging of antigen-induced arthritis: a comparative study between SHU 555 C, ferumoxtran-10, and ferumoxytol. *Investigative radiology* 41: 45-51.

- Simon GH, von Vopelius-Feldt J, Wendland MF, Fu Y, Piontek G, Schlegel J, Chen MH and Daldrup-Link HE. **2006b**. MRI of arthritis: comparison of ultrasmall superparamagnetic iron oxide vs. Gd-DTPA. *Journal of magnetic resonance imaging* 23: 720-7.
- Sittek H, Eckstein F, Gavazzeni A, Milz S, Kiefer B, Schulte E and Reiser M. **1996**. Assessment of normal patellar cartilage volume and thickness using MRI: an analysis of currently available pulse sequences. *Skeletal radiology* 25: 55-62.
- Smith GN, Jr., Myers SL, Brandt KD, Mickler EA and Albrecht ME. **1999**. Diacerhein treatment reduces the severity of osteoarthritis in the canine cruciate-deficiency model of osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 42: 545-54.
- Smith HE, Mosher TJ, Dardzinski BJ, Collins BG, Collins CM, Yang QX, Schmithorst VJ and Smith MB. **2001**. Spatial variation in cartilage T2 of the knee. *Journal of magnetic resonance imaging* 14: 50-5.
- Smith MA, Walmsley JP, Phillips TJ, Pinchbeck GL, Booth TM, Greet TR, Richardson DW, Ross MW, Schramme MC, Singer ER, Smith RK and Clegg PD. **2005**. Effect of age at presentation on outcome following arthroscopic debridement of subchondral cystic lesions of the medial femoral condyle: 85 horses (1993--2003). *Equine veterinary journal* 37: 175-80.
- Smith MD, Triantafillou S, Parker A, Youssef PP and Coleman M. **1997**. Synovial membrane inflammation and cytokine production in patients with early osteoarthritis. *The Journal of rheumatology* 24: 365-71.
- Sowers MF, Hayes C, Jamadar D, Capul D, Lachance L, Jannausch M and Welch G. **2003**. Magnetic resonance-detected subchondral bone marrow and cartilage defect characteristics associated with pain and X-ray-defined knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 11: 387-93.
- Spandonis Y, Heese FP and Hall LD. **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: 943-51.
- Spriet MP, Girard CA, Foster SF, Harasiewicz K, Holdsworth DW and Laverty S. **2005**. Validation of a 40 MHz B-scan ultrasound biomicroscope for the evaluation of osteoarthritis lesions in an animal model. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 13: 171-9.
- Stammler T, Eckstein F, Englmeier KH and Reiser M. **1999a**. Determination of 3D cartilage thickness data from MR imaging: computational method and reproducibility in the living. *Magnetic resonance in medicine* 41: 529-36.
- Stammler T, Eckstein F, Michaelis M, Englmeier KH and Reiser M. **1999b**. Interobserver reproducibility of quantitative cartilage measurements: comparison of B-spline snakes and manual segmentation. *Magnetic resonance imaging* 17: 1033-42.
- Stammler T, Eckstein F, Michaelis M, Englmeier KH and Reiser M. **1999c**. Interobserver reproducibility of quantitative cartilage measurements: comparison of B-spline snakes and manual segmentation. *Magn Reson Imaging* 17: 1033-42.
- Stoop R, Buma P, van der Kraan PM, Hollander AP, Billingham RC, Meijers TH, Poole AR and van den Berg WB. **2001**. Type II collagen degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament transection in rats. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 9: 308-15.
- Stoop R, van der Kraan PM, Buma P, Hollander AP, Billingham RC, Poole AR and van den Berg WB. **1999**. Type II collagen degradation in spontaneous osteoarthritis in C57Bl/6 and BALB/c mice. *Arthritis and rheumatism* 42: 2381-9.

- Tamai K, Yamato M, Yamaguchi T and Ohno W. **1994**. Dynamic magnetic resonance imaging for the evaluation of synovitis in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism* 37: 1151-7.
- Tan TC, Wilcox DM, Frank L, Shih C, Trudell DJ, Sartoris DJ and Resnick D. **1996**. MR imaging of articular cartilage in the ankle: comparison of available imaging sequences and methods of measurement in cadavers. *Skeletal radiology* 25: 749-55.
- Teichtahl AJ, Wluka AE, Wang Y, Hanna F, English DR, Giles GG and Cicuttini FM. **2008**. Obesity and adiposity are associated with the rate of patella cartilage volume loss over two years in adults without knee osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*.
- Tervonen O, Dietz MJ, Carmichael SW and Ehman RL. **1993**. MR imaging of knee hyaline cartilage: evaluation of two- and three-dimensional sequences. *Journal of magnetic resonance imaging* 3: 663-8.
- Tessier JJ, Bowyer J, Brownrigg NJ, Peers IS, Westwood FR, Waterton JC and Maciewicz RA. **2003**. Characterisation of the guinea pig model of osteoarthritis by in vivo three-dimensional magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 11: 845-53.
- Toyras J, Rieppo J, Nieminen MT, Helminen HJ and Jurvelin JS. **1999**. Characterization of enzymatically induced degradation of articular cartilage using high frequency ultrasound. *Physics in medicine and biology* 44: 2723-33.
- Trattig S, Mlynarik V, Breitenseher M, Huber M, Zemsch A, Rand T and Imhof H. **1999**. MRI visualization of proteoglycan depletion in articular cartilage via intravenous administration of Gd-DTPA. *Magnetic resonance imaging* 17: 577-83.
- Trunfio-Sfarghiu AM, Berthier Y, Meurisse MH and Rieu JP. **2007**. Multiscale analysis of the tribological role of the molecular assemblies of synovial fluid. Case of a healthy joint and implants. *Tribology International* 40: 1500-15.
- Tyler JA, Watson PJ, Koh HL, Herrod NJ, Robson M and Hall LD. **1995**. Detection and monitoring of progressive degeneration of osteoarthritic cartilage by MRI. *Acta orthopaedica Scandinavica* 266: 130-8.
- Vahlensieck M, Dombrowski F, Leutner C, Wagner U and Reiser M. **1994**. Magnetization transfer contrast (MTC) and MTC-subtraction: enhancement of cartilage lesions and intracartilaginous degeneration in vitro. *Skeletal radiology* 23: 535-9.
- Vahlensieck M, Gieseke J, Traber F and Schild H. **1998**. [Magnetization transfer contrast (MTC)--which is the most MTC-sensitive MRI sequence?]. *RoFo* 169: 195-7.
- van der Rest M and Mayne R. **1988**. Type IX collagen proteoglycan from cartilage is covalently cross-linked to type II collagen. *The Journal of biological chemistry* 263: 1615-8.
- van Leersum MD, Schweitzer ME, Gannon F, Vinitzki S, Finkel G and Mitchell DG. **1995**. Thickness of patellofemoral articular cartilage as measured on MR imaging: sequence comparison of accuracy, reproducibility, and interobserver variation. *Skeletal radiology* 24: 431-5.
- van Osch GJ, van der Kraan PM, Blankevoort L, Huiskes R and van den Berg WB. **1996**. Relation of ligament damage with site specific cartilage loss and osteophyte formation in collagenase induced osteoarthritis in mice. *The Journal of rheumatology* 23: 1227-32.
- Van Ryssen B and van Bree H. **1997**. Arthroscopic findings in 100 dogs with elbow lameness. *The Veterinary record* 140: 360-2.
- Vignon E, Arlot M, Patricot LM and Vignon G. **1976**. The cell density of human femoral head cartilage. *Clinical orthopaedics and related research*: 303-8.
- Wachsmuth L and Engelke K. **2004**. High-resolution imaging of osteoarthritis using microcomputed tomography. *Methods in molecular medicine* 101: 231-48.

- Wachsmuth L, Juretschke HP and Raiss RX. **1997**. Can magnetization transfer magnetic resonance imaging follow proteoglycan depletion in articular cartilage? *Magma (New York, N.Y)* 5: 71-8.
- Wancket LM, Baragi V, Bove S, Kilgore K, Korytko PJ and Guzman RE. **2005**. Anatomical localization of cartilage degradation markers in a surgically induced rat osteoarthritis model. *Toxicologic pathology* 33: 484-9.
- Warnock JJ and Beale BS. **2004**. Arthroscopy of the antebrachiocarpal joint in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 867-74, 5.
- Watrin-Pinzano A, Ruaud JP, Olivier P, Grossin L, Gonord P, Blum A, Netter P, Guillot G, Gillet P and Loeuille D. **2005**. Effect of proteoglycan depletion on T2 mapping in rat patellar cartilage. *Radiology* 234: 162-70.
- Watrin A, Ruaud JP, Olivier PT, Guingamp NC, Gonord PD, Netter PA, Blum AG, Guillot GM, Gillet PM and Loeuille DH. **2001**. T2 mapping of rat patellar cartilage. *Radiology* 219: 395-402.
- Watson PJ, Carpenter TA, Hall LD and Tyler JA. **1996a**. Cartilage swelling and loss in a spontaneous model of osteoarthritis visualized by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 4: 197-207.
- Watson PJ, Carpenter TA, Hall LD and Tyler JA. **1997**. MR protocols for imaging the guinea pig knee. *Magnetic resonance imaging* 15: 957-70.
- Watson PJ, Hall LD, Carpenter TA and Tyler JA. **1993**. A magnetic resonance imaging study of joint degeneration in the guinea pig knee. *Agents and actions* 39: 261-5.
- Watson PJ, Hall LD, Malcolm A and Tyler JA. **1996b**. Degenerative joint disease in the guinea pig. Use of magnetic resonance imaging to monitor progression of bone pathology. *Arthritis and rheumatism* 39: 1327-37.
- Wayne JS, Kraft KA, Shields KJ, Yin C, Owen JR and Disler DG. **2003**. MR imaging of normal and matrix-depleted cartilage: correlation with biomechanical function and biochemical composition. *Radiology* 228: 493-9.
- Wells T, Davidson C, Morgelin M, Bird JL, Bayliss MT and Dudhia J. **2003**. Age-related changes in the composition, the molecular stoichiometry and the stability of proteoglycan aggregates extracted from human articular cartilage. *The Biochemical journal* 370: 69-79.
- Winalski CS, Aliabadi P, Wright RJ, Shortkroff S, Sledge CB and Weissman BN. **1993**. Enhancement of joint fluid with intravenously administered gadopentetate dimeglumine: technique, rationale, and implications. *Radiology* 187: 179-85.
- Wluka AE, Stuckey S, Snaddon J and Cicuttini FM. **2002**. The determinants of change in tibial cartilage volume in osteoarthritic knees. *Arthritis and rheumatism* 46: 2065-72.
- Wluka AE, Wolfe R, Stuckey S and Cicuttini FM. **2004**. How does tibial cartilage volume relate to symptoms in subjects with knee osteoarthritis? *Annals of the rheumatic diseases* 63: 264-8.
- Wolff SD, Chesnick S, Frank JA, Lim KO and Balaban RS. **1991**. Magnetization transfer contrast: MR imaging of the knee. *Radiology* 179: 623-8.
- Wu W, Billingham RC, Pidoux I, Antoniou J, Zukor D, Tanzer M and Poole AR. **2002**. Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13. *Arthritis and rheumatism* 46: 2087-94.
- Xia Y. **2000**. Magic-angle effect in magnetic resonance imaging of articular cartilage: a review. *Investigative radiology* 35: 602-21.
- Xia Y, Moody JB and Alhadlaq H. **2002**. Orientational dependence of T2 relaxation in articular cartilage: A microscopic MRI (microMRI) study. *Magnetic resonance in medicine* 48: 460-9.

- Yaghoubi SS, Creusot RJ, Ray P, Fathman CG and Gambhir SS. **2007**. Multimodality imaging of T-cell hybridoma trafficking in collagen-induced arthritic mice: image-based estimation of the number of cells accumulating in mouse paws. *Journal of biomedical optics* 12: 064025.
- Young MF. **2005**. Mouse models of osteoarthritis provide new research tools. *Trends in pharmacological sciences* 26: 333-5.
- Zavaleta CL, Phillips WT, Bradley YC, McManus LM, Jerabek PA and Goins BA. **2007**. Characterization of an intraperitoneal ovarian cancer xenograft model in nude rats using noninvasive microPET imaging. *International journal of gynecological cancer* 17: 407-17.
- Zhang M, Huang M, Le C, Zanzonico PB, Claus F, Kolbert KS, Martin K, Ling CC, Koutcher JA and Humm JL. **2008**. Accuracy and reproducibility of tumor positioning during prolonged and multi-modality animal imaging studies. *Physics in medicine and biology* 53: 5867-82.
- Ziza JM, Zeller V, Desplaces N and Mamoudy P. **2006**. Infections sur prothèses articulaires : conditions du diagnostic et traitement *Revue du Rhumatisme* 73: 337-44.



Annexes : Publications

IEEE Transactions on Biomedical Engineering

2009

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Bio-Medical Materials and Engineering (1)

2008

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Bio-Medical Materials and Engineering (2)

2008

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering

2008

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Biorheology

2006

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Revue du Rhumatisme

2006

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

Arthritis and Rheumatism

2005

Nota : les articles ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

**Résumés des communications affichées avec
actes publiés**

Nota : les résumés publiés ne sont pas reproduits dans cette version électronique du manuscrit de thèse, puisque consultables en ligne sur les bases de données bibliographiques (Pubmed, Scopus, Web of Science...) ou les sites des journaux et périodiques concernés.

RESUME *en français*

L'arthrose est une maladie commune observée dans les populations vieillissantes caractérisée par une affection dégénérative du cartilage articulaire. Le diagnostic clinique de la maladie repose sur la radiographie conventionnelle. Cette technique permet de mettre en évidence les modifications de l'os liées à l'arthrose (géodes, condensation de l'os sous-chondral, et ostéophytes) mais n'offre pas une vision directe du cartilage.

Grâce à sa résolution spatiale et son contraste tissulaire élevé, l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) individualise le cartilage et le différencie des structures adjacentes (os, tissu synovial, ménisques et liquide synovial).

Nous avons mis à profit les potentialités de l'IRM à haut champ (7 Teslas) pour suivre, *in vivo*, les modifications du cartilage de l'articulation fémoro-tibiale chez le rat, au cours du processus de maturation/vieillessement ainsi que dans un modèle d'arthrose expérimentale (section du ligament croisé antérieur). Ces travaux ont montré une diminution du volume et des épaisseurs cartilagineuses liée à l'âge, tout comme des pertes chondrales fémorales et un œdème du cartilage tibial dans le genou arthrosique.

Dans une seconde partie, nous avons appliqué les méthodes de cartographie T2 et de mesures volumiques (à 1,5 T) afin de déterminer les variations survenant au sein du cartilage rotulien humain vieillissant. Ces travaux attestent de la capacité de la cartographie T2 à détecter des modifications matricielles avant l'apparition de réelles pertes chondrales.

Enfin, notre dernière étude, toujours à 1,5 T, concerne la quantification du volume et de l'activité de la membrane synoviale inflammatoire dans une cohorte de patients souffrant de gonarthrose.

TITRE *en anglais*

MRI study of the articular ageing-process at 1.5 and 7 Teslas: volumetric and mapping approaches.

RESUME *en anglais*

Osteoarthritis (OA) is a common disease observed in elderly population and characterized by a progressive destruction of cartilaginous tissue. The clinical diagnosis of this disease is realized by conventional radiography. This method allows visualizing bone modifications related to OA disease (cysts, subchondral bone thickening, and osteophytes) but is unable to assess directly cartilage structure.

Due to its high spatial resolution and high contrast between tissues, Magnetic Resonance Imaging (MRI) is able to visualize the cartilage structure and to differentiate it from adjacent structures (bone, synovial tissue, menisci, and synovial fluid).

We have employed MRI potentialities at high magnetic field (7 Teslas) to follow, *in vivo*, cartilage modifications in the rat femoro-tibial articulation. This methodology was used to evaluate normal cartilage ageing-process and to assess an experimental OA model (anterior cruciate ligament transaction). These works showed an age-related cartilage volumetric and thickness decrease, as well as femoral cartilage damages and tibial cartilage oedema in OA knees.

In a second part of our work, we applied T2 mapping and volumetric techniques (at 1.5 T) to determine variations which occur in the elderly human patellar cartilage. Results demonstrated the capacity of T2 mapping to early detect matricial modifications before any cartilage volumetric impact can be found.

At least, our last study, always at 1.5 T, focused on the synovial membrane volume and inflammatory activity by taking into account a human population suffering from knee OA.

DISCIPLINE : Bioingénierie

MOTS-CLES - KEYWORDS

Cartilage, IRM, vieillissement, modèle animal, volumétrie, cartographie T2, arthrose

Cartilage, MRI, ageing process, animal model, volume measurement, T2 mapping, osteoarthritis

INTITULE et ADRESSE du LABORATOIRE :

Laboratoire de Physiopathologie et Pharmacologie
Articulaire

UMR 7561 CNRS – UHP, Nancy I
54505 Vandœuvre-Lès-Nancy

Tel : 03.83.68.39.50

Fax : 03.83.68.39.59

Mel : pharmaco@medecine.uhp-nancy.fr