

## Le rôle des synoviocytes dans l'articulation diarthrodiale enflammée

SCHNEIDER N.<sup>1,2,3</sup>, LEJEUNE J.P.<sup>1,3</sup>, DEBY-DUPONT G.<sup>2</sup>, SERTEYN D.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Pôle équin, Service de Chirurgie et d'Anesthésiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire B 41, ULg, Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>2</sup> Centre de l'Oxygène, Recherche et Développement (C.O.R.D.), Institut de Chimie B 6a, ULg, Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique

<sup>3</sup> Centre Européen du Cheval de Mont le Soie, 1, Mont-le-Soie, 6690 Vielsalm, Belgique

Ce travail a été réalisé avec le soutien du Ministère de l'Agriculture et de la Ruralité de la Région Wallonne dans le cadre d'une subvention accordée au « Centre Européen du Cheval de Mont le Soie ».

Correspondance : Docteur Nicole Schneider Mail : n.schneider@student.ulg.ac.be

**RESUME :** L'ostéo-arthropathie dégénérative est une cause importante de morbidité chez le cheval. Elle provoque de la douleur et mène à la destruction du cartilage des articulations diarthrodiales. Dans cette pathologie, la membrane synoviale est un élément articulaire constitutif dont il n'est pas toujours tenu compte parce que ses modifications sont peu visibles ; pourtant son rôle dans l'articulation est crucial. Cette synthèse de la littérature reprend l'embryogenèse et l'aspect histologique des synoviocytes *in vivo* et *in vitro*, les données existantes sur leur production de médiateurs inflammatoires, d'enzymes protéolytiques, et de formes activées de l'oxygène, sur les composants du liquide synovial et sur leurs interactions avec les chondrocytes. Le nombre des études ne traitant que de l'espèce équine et de l'ostéo-arthropathie étant très limité, nous avons tenu compte des travaux faits sur d'autres espèces et d'autres formes d'atteinte articulaire pour donner une vue aussi complète que possible des mécanismes complexes, interdépendants et réciproques.

### INTRODUCTION

L'ostéo-arthropathie dégénérative (OAD) est un phénomène inflammatoire qui touche les articulations diarthrodiales. Les modifications aisément détectables sont la dégradation du cartilage et les remaniements osseux, mais on néglige souvent l'étude de la membrane synoviale avec ses cellules, les synoviocytes, qui jouent un rôle crucial dans la constitution du liquide synovial et dans la nutrition du cartilage.

Cette pathologie est la résultante d'un déséquilibre entre les enzymes de dégradation du cartilage et les enzymes de régénération de la matrice cartilagineuse. En histopathologie, on observe d'abord la destruction du réseau des fibres collagènes et la déplétion de la matrice cartilagineuse (Reboul *et al.*, 1996). La destruction de l'articulation commence par une fibrose et progresse vers une érosion et une ulcération du

cartilage articulaire, suivies par la formation d'ostéophytes périarticulaires, la sclérose de l'os souschondral et un remodelage ostéochondral (Nio *et al.*, 2002). Les mécanismes les plus fréquemment invoqués dans le développement de l'OAD sont la régulation de la sécrétion des métalloprotéases matricielles (MMP), le recrutement des cellules qui sécrètent les enzymes de dégradation et l'inhibition des processus régénérateurs (Landoni *et al.*, 1996). Les enzymes de dégradation sont produites par les chondrocytes articulaires, mais aussi par les synoviocytes. Le rôle et les altérations de ces dernières dans l'OAD ont été relativement peu étudiés. L'objectif de cet article est de donner un aperçu aussi complet que possible des données de la littérature sur les synoviocytes.

McIlwraith (1999) rappelle qu'une synovite ou une capsulite aiguë

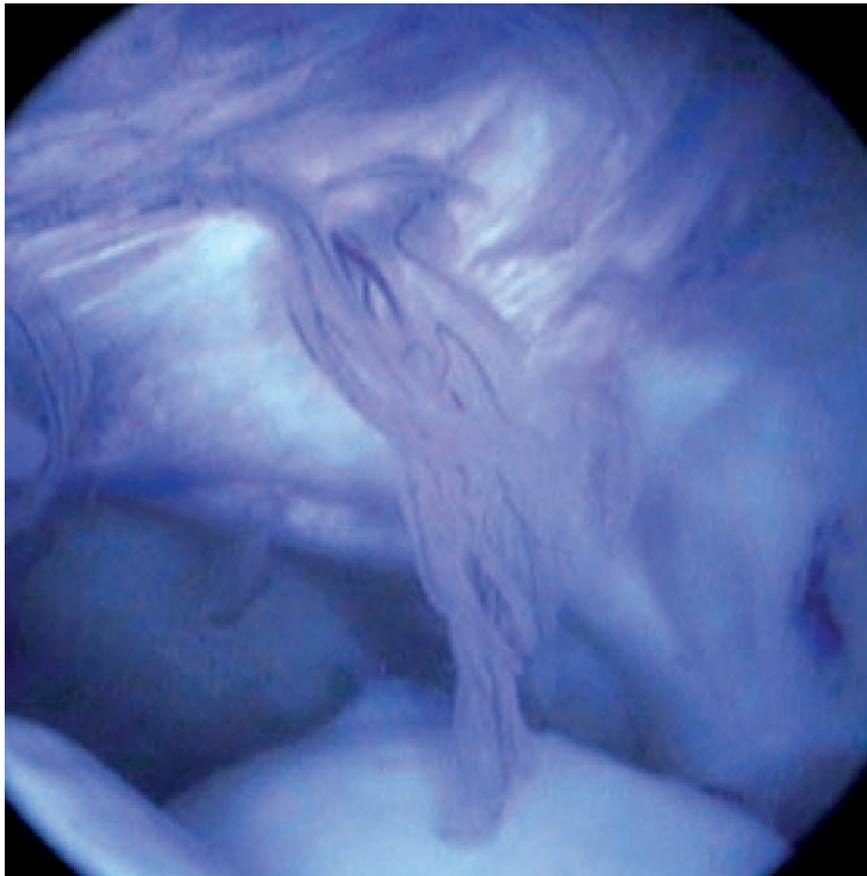
consécutive à un traumatisme peut induire ou contribuer à une dégénérescence articulaire par une libération de cytokines et d'autres médiateurs inflammatoires et que les débris tissulaires entraînent une inflammation de la membrane synoviale (figure 1). Gängel et Rahn (1992) estiment que les synoviocytes, plus que les chondrocytes, sont la source des enzymes de dégradation dans l'atteinte articulaire dégénérative. Ils estiment que l'analyse du liquide synovial (LS) reflète le processus inflammatoire articulaire d'une façon incorrecte.

### 1. L'embryogenèse, cytologie et répartition des synoviocytes

#### 1.1. L'embryogenèse des fibroblastes synoviaux

Les fibroblastes synoviaux peuvent être définis comme des cellules non-vasculaires et non-épithéliales, situées

Figure 1 : Franges synoviales hyperémiques et épaissies, signes typiques d'une synovite, vues par arthroscopie.



au sein de la membrane synoviale. Les fibroblastes synoviaux se développent sur place par division pendant l'embryogenèse et sont remplacés par division cellulaire. Ces cellules produisent les protéines de la matrice fibreuse (Edwards, 2000). Pendant l'embryogenèse, une enveloppe de cellules fœtales exprimant un taux élevé du récepteur de l'acide hyaluronique (cellules CD44+) entoure les foyers cartilagineux. Entre deux foyers cartilagineux, cette enveloppe est appelée zone intermédiaire. Elle se détachera du cartilage et deviendra la membrane synoviale. Chez les vertébrés supérieurs, le stock périchondral de cellules CD44+ fournit également les cellules du stroma de la moelle osseuse. On a observé des similitudes entre ces fibroblastes non-parchenchymateux de la moelle osseuse et les fibroblastes synoviaux, comme la présence des produits de gènes communs : le *bone marrow stromal factor 1*, le *stromal cell derived factor 1* ainsi que le *bone morphogenetic protein 2* (BMP-2) (Edwards, 1994). La partie des cellules périchondrales qui deviennent les cellules de la moelle osseuse envahissent, en même temps que des vaisseaux sanguins, la

diaphyse cartilagineuse pour constituer l'espace contenant la moelle osseuse où se trouvent deux types cellulaires ressemblant aux fibroblastes synoviaux : des cellules ostéoblastiques positives pour l'uridine diphosphoglucose dés-hydrogénase (UDPGD) (Kitamura *et al.*, 1999) et des cellules positives pour la molécule d'adhésion des cellules vasculaires (VCAM-1) aussi nommées *nurse cells* qui soutiennent la maturation des leucocytes.

### 1.2. Distinction entre les différents types de synoviocytes

Dans la membrane synoviale humaine normale, on distingue deux phénotypes de fibroblastes synoviaux : un dans l'*intima* et l'autre sous l'*intima* (Edwards, 2000). Les fibroblastes de l'*intima* expriment une large gamme de gènes, incluant l'UDPGD et la VCAM-1 (Edwards, 1994). Les synoviocytes de l'*intima* sont reconnus comme *fibroblast-like*, *type-B synoviocytes* ou *synovial lining cells*.

Selon Edwards (2000), les fibroblastes synoviaux de l'*intima* et sous l'*intima*

ne se distinguent pas en culture cellulaire. Le point de vue le plus simple est de les considérer comme une lignée singulière qui peut prendre un phénotype ou l'autre en fonction des stimulations locales. Lors d'une arthrite, la définition des populations fibroblastiques devient encore plus difficile. Edwards (2000) résume ces difficultés par la phrase suivante: « ...on croirait regarder un match de foot pendant lequel les joueurs échangent leurs T-shirts d'une manière aléatoire ». Il est intéressant de noter qu'après une infection par un virus modifié pour l'*insulin-like growth factor 1* (IGF-I), on trouve une production de l'IGF-I dans la zone de l'*intima* et sous l'*intima* dans les explants de cartilage (Nixon *et al.*, 2000).

La nomenclature utilisée pour distinguer les synoviocytes dans l'*intima* varie selon les auteurs. Pour les synoviocytes de type macrophagique, on emploie les noms « cellules de type A », « macrophages synoviaux », « cellules M » ou encore « cellules A » (pour *absorptive*), tandis que les cellules ressemblant aux fibroblastes sont nommées *fibroblast-like cells*, « cellules de type B », « synovioblastes », « cellules F » ou « cellules S » (*secretory*). Shikichi et collaborateurs (1999) proposent les termes « cellules de type A et B ». Ils estiment que la membrane synoviale expose en surface une ligne superficielle de cellules des deux types et que les types A et B sont mêlés et étendent des prolongements cytoplasmiques variés.

Une distinction entre ce qu'on appelle les synoviocytes A et B apparaît compliquée (Shikichi *et al.*, 1999) et l'existence de marqueurs fiables reste d'après Edwards (2000) contestée. Pourtant, une étude avec un antisérum dirigé contre PGP 9,5 (*protein gene product 9,5*) et une révélation de l'activité de la phosphatase acide ont montré que les cellules sont positives soit pour la PGP 9,5 (cellules B) soit pour la phosphatase acide (cellules A), mais jamais pour les deux. Les cellules marquées par chaque méthode se mêlent dans l'*intima* synovial et les cellules positives pour la phosphatase acide sont moins nombreuses que les cellules positives pour la PGP 9,5 (Kitamura *et al.*, 1999).

Les synoviocytes de type macrophagique, c'est-à-dire le type A, produisent beaucoup d'ostéoprotégérine (OPG) (Smith *et al.*, 2003) qui inhibe la formation des ostéoclastes (Toppets *et al.*, 2004). Cependant une ostéoclastogénèse induite par les synoviocytes est mentionnée par Moe et Bailey (1999).

### 1.2.1. Les synoviocytes A

Les synoviocytes de type A sont sphériques et disposent d'une couverture dense en filo- et lamellipodes, une structure sensée être unique aux macrophages (Shikichi *et al.*, 1999). La densité des cellules A en surface de l'*intima* synovial varie selon la longueur des villosités synoviales ; ces cellules ont tendance à se rassembler dans la région supérieure des villosités, elles sont moins fréquentes dans la zone moyenne et très rares dans la région basale des villosités (Shikichi *et al.*, 1999). En microscopie électronique par transmission, l'observation des cellules de type A a confirmé la richesse en vacuoles et en lysosomes dispersés dans le cytoplasme, autant qu'en plis ou en projections à la surface luminale de la cellule. En comparaison avec les synoviocytes B, les synoviocytes A possèdent des noyaux de couleur plus foncée due à la présence plus abondante d'hétérochromatine. Le nombre de synoviocytes A est élevé lors de l'OAD ; ils s'agglomèrent à la surface de la membrane synoviale et développent davantage de vacuoles

variables en taille et en densité dans leur cytoplasme (Nio *et al.*, 2002). Les synoviocytes de type A sont reconnus par les anticorps monoclonaux dirigés contre les macrophages ou les substances dérivées des macrophages ; ils expriment également des molécules de la classe HLA II (*human leucocyte antigen II*) (Kitamura *et al.*, 1999). Ils ont pour fonction de nettoyer les débris produits par déchirure et usure dans une articulation. Ils participent aux réponses immunologiques en conditions pathologiques. Les synoviocytes de type A sont aussi considérés comme similaires aux macrophages par leurs structures superficielles et par leur distribution inégale, avec une fréquence plus élevée autour des pointes des villosités synoviales (Shikichi *et al.*, 1999 ; Iwanaga *et al.*, 2000).

### 1.2.2. Les synoviocytes B

Les synoviocytes B ont un potentiel prolifératif supérieur à celui des synoviocytes A. En plus, une transformation des fibroblastes situés sous l'*intima* en synoviocytes B ne peut pas être exclue (Iwanaga *et al.*, 2000). Les synoviocytes de type B sont responsables de la production du LS et de la matrice extracellulaire de l'*intima* synoviale (Kitamura *et al.*, 1999). Une immunocoloration de la membrane synoviale équine pour la PGP 9,5 montre une localisation sélective de la réaction immunologique dans une population de synoviocytes dif-

férente de ceux de type A. La PGP 9,5 est impliquée dans la dégradation ou la modulation des protéines du LS (Kitamura *et al.*, 2001). Un examen par microscopie électronique a identifié les cellules PGP 9,5-immunoréactives comme étant les synoviocytes de type B, caractérisés par un réticulum endoplasmique bien développé et des ribosomes libres.

Les synoviocytes du type B possèdent un réticulum endoplasmique rugueux (RER) et un appareil de Golgi bien développés qui sécrètent le collagène, la fibronectine, l'acide hyaluronique (HA), des protéoglycanes, et les libèrent dans l'espace intercellulaire et la cavité articulaire (Shikichi *et al.*, 1999 ; Nio *et al.*, 2002) (figure 2).

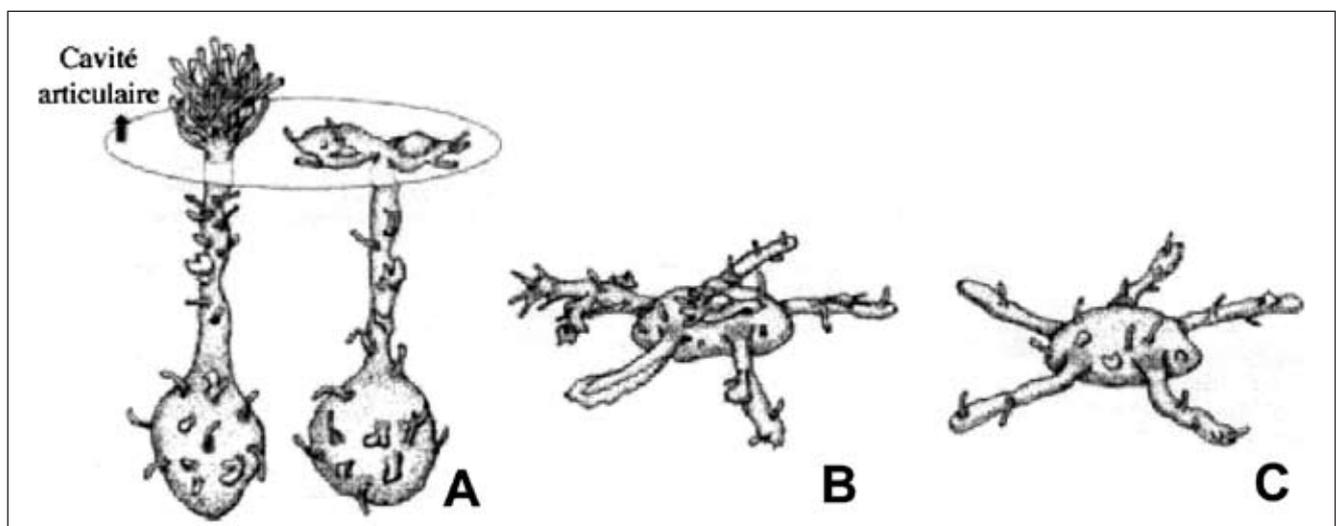
Cependant, les synoviocytes B et les cellules de type macrophagique partagent quelques particularités, comme une réaction positive pour VCAM-1 (Iwanaga *et al.*, 2000). Un anticorps monoclonal, le MAb 67, obtenu pour la détection du matériel dérivé des macrophages, reconnaît les synoviocytes B autant que les macrophages dans la membrane synoviale humaine (Kitamura *et al.*, 1999). Mais il colore aussi le matériel entourant les synoviocytes dans les échantillons de la membrane, un matériel dont la composition et le fonctionnement sont inconnus (Edwards, 1994). Des synoviocytes avec une haute activité de l'UDPGD apparaissent à la surface

Figure 2 : Différents types de synoviocytes B selon leur localisation dans la membrane synoviale [d'après Shikichi *et al.*, 1999].

A : Synoviocyte B de la couche profonde en région 1 : à gauche avec une couronne microvilloseuse, à droite avec des prolongations qui couvrent la surface de l'*intima*.

B : Synoviocyte B de l'*intima* de la région 2.

C : Synoviocyte B à la surface de l'*intima* de la région 3.



d'un tissu conjonctif mou s'il existe un contact avec une surface dure sur laquelle le tissu mou glisse. De là, on peut conclure que les synoviocytes sont capables de se développer à partir d'une population non-synoviale (Edwards, 1994).

La formation d'agglomérats des cellules de type B dans la proximité des vaisseaux fenestrés présents au sein de la membrane synoviale, ainsi qu'une dégranulation rapide en réponse aux stimuli suggèrent un fonctionnement des synoviocytes B comme cellules récepto-sécrétrices. Shikichi et collaborateurs (1999) ont montré que les synoviocytes de type B de rongeurs contiennent dans leur cytoplasme des granules sécréteurs qui sont libérés en réponse aux stimuli nocifs. Par contre chez le cheval, les synoviocytes B ne possèdent pas ces granules cytoplasmiques et sont comparables aux synoviocytes agranulaires trouvés chez d'autres mammifères (cobaye, lapin et homme).

### 1.3. L'examen par microscopie électronique

Shikichi et collaborateurs (1999) ont étudié des échantillons du carpe équin en microscopie électronique par balayage et par transmission. La membrane synoviale équine est couverte par des villosités denses qui sont absentes en surface du cartilage arti-

culaire et à la jonction entre la membrane synoviale et le cartilage. Les villosités varient en longueur et en épaisseur et les plus longues sont souvent ramifiées à leur terminaison. Une à trois lignes de synoviocytes des deux types (A et B) forment l'*intima* synovial. Les couches sont discontinues et fragmentaires, surtout dans la région basale des villosités. Les synoviocytes sont peu nombreux dans les régions non pliées de la membrane synoviale.

Le tissu conjonctif sous l'*intima* de la membrane synoviale est différent selon les régions : fibreux aux zones de traction (lignage cellulaire mince en contact étroit avec le tissu sous-jacent), adipeux (facilitant le glissement) aux endroits exposés à l'extension et à la flexion (couche cellulaire aplatie avec des cellules adipeuses sous l'*intima*) et aréolaire là où il y a une activité métabolique accrue (couche cellulaire épaisse, tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins) (Lemburg, 2001). La circulation sanguine est assurée par des capillaires fenestrés et par des veinules et artérioles en volutes ou en hélices (Iwanaga *et al.*, 2000). La fonction de barrière de l'endothélium fenestré dépend en grande partie d'une protéine, la F-actine (Poli *et al.*, 2002) (figure 3).

### 1.4. La répartition des cellules A et B dans les villosités synoviales

Dans les villosités synoviales, on distingue trois zones selon la distribution des deux types de synoviocytes : 1) la région principalement recouverte par les synoviocytes de type A ; 2) la région riche en synoviocytes B disposés en couronnes microvilleuses et 3) la région occupée par des synoviocytes B disposés en réseau de prolongations en forme de tige. La région 1, lorsqu'elle est détectable, occupe les extrémités des villosités ; un faible nombre de couronnes microvilleuses sont dispersées entre les synoviocytes A. La deuxième région se situe dans les zones supérieures et moyennes des villosités : les synoviocytes du type B y sont alignés dans la couche profonde de l'*intima* synovial, avec un arrangement semblable à une membrane. Les processus des synoviocytes B en forme d'antennes sont distribués d'une manière dense. On y trouve également un petit nombre de cellules de type A. La troisième région se trouve dans la partie basale des villosités synoviales : les synoviocytes B montrent des prolongations horizontales moins denses.

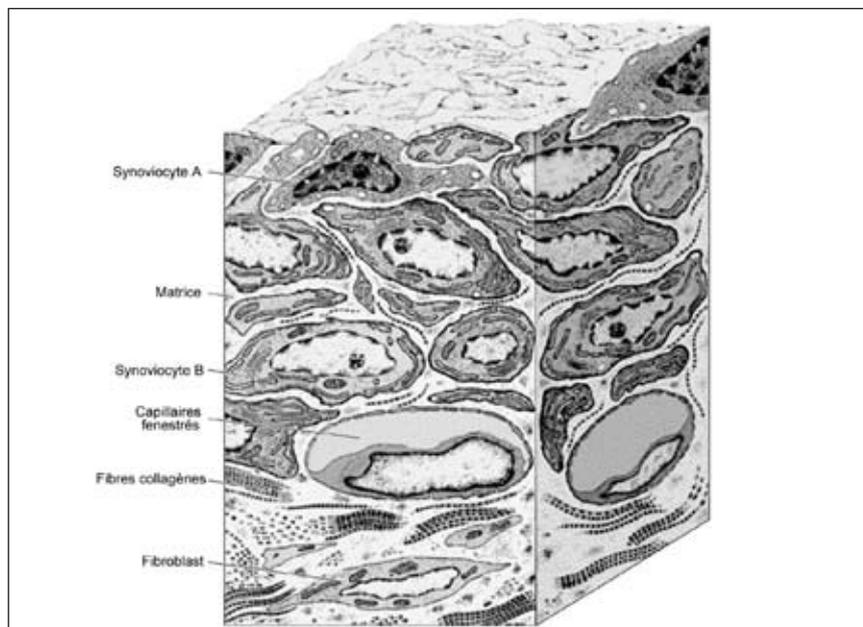
Il faut noter que l'étendue de ces trois zones peut changer d'une villosité à l'autre ; quelques villosités sont même couvertes presque totalement par un tissu ressemblant à celui de la deuxième région.

Une immunocoloration, par un anti-sérum dirigé contre la PGP 9,5, de sections congelées montre des cellules dans l'*intima*. Elles couvrent la surface interne de la capsule articulaire. Les cellules PGP 9,5-immunoréactives sont rondes et petites, avec quelques fines prolongations cytoplasmiques. Les fibroblastes typiques de la couche située sous l'*intima* sont libres d'immuno-réactivité (Kitamura *et al.*, 1999).

### 1.5. Différenciation et fonctionnement

Les cellules B des villosités possèdent un corps cellulaire rond et lancent des processus ramifiés vers la cavité articulaire (Kitamura *et al.*, 1999). Dans la moitié basale des villosités, les synoviocytes de type B situés près de la cavité articulaire forment horizontalement des processus épais qui s'entrelacent pour former un réseau régulier de branches sur la surface

Figure 3 : Schéma d'une membrane synoviale.



synoviale (Shikichi *et al.*, 1999). Ces prolongations membraneuses qui couvrent la surface de l'*intima* sont utiles dans la fonction de sécrétion et de régulation des activités de la membrane synoviale comme barrière.

Malgré la méconnaissance du fonctionnement des prolongations tapisant la surface synoviale, leur présence dans la cavité articulaire suggère une sécrétion directe de certains éléments dans le LS ; elles constituent aussi un site récepteur des modifications mécaniques, comme la pression ou la viscosité, et de la composition chimique. En réponse aux conditions existant dans la cavité articulaire, les synoviocytes peuvent autoréguler la sécrétion des composants dans la matrice de l'*intima* et dans la cavité articulaire, en association avec une importante capacité de pino- et phagocytose (Bassleer *et al.*, 1981). D'une manière générale, les synoviocytes de type A jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie articulaire normale, comprenant le renouvellement des composants du LS et la régulation des réactions inflammatoires. Dans l'OAD, le nombre des synoviocytes B est augmenté, des mitoses sont visibles et la morphologie cellulaire change, indiquant une amplification d'activité métabolique (Nio *et al.*, 2002). Leurs prolongations cytoplasmiques deviennent plus courtes et plus épaisses, avec des rides et bulles en surface et à l'intérieur des cellules. La taille du RER augmente et les citernes sont dilatées et plus ramifiées.

Selon Breit et König (1995), les synoviocytes A et B sont des cellules sécrétrices capables de phagocytose. Après une atrophie progressive du réticulum endoplasmique et une augmentation de volume du complexe de Golgi, les synoviocytes B peuvent se transformer en synoviocytes intermédiaires et finalement en synoviocytes A, selon les conditions métaboliques ou pathologiques de l'articulation. Ces trois types de cellules (synoviocytes A, B et intermédiaires) sont des variants fonctionnels d'une seule souche, affirmation qui reste contestée (Iwanaga *et al.*, 2000). En culture cellulaire, on observe des synoviocytes A et B et des formes intermédiaires dendritiques (nommées *stellatae* par Georgescu et collaborateurs, 1988), qui ont un rôle important dans la réponse immuni-

taire (Iwanaga *et al.*, 2000 ; Lemburg, 2001). L'expression de MHCII (complexe majeur d'histocompatibilité de classe II) par des synoviocytes A augmente suite à une infiltration par les leucocytes dans la couche superficielle de l'*intima*. Une prolifération de la couche superficielle, une hyperplasie et des complexes de fer phagocytés par les cellules A sont par exemple présents suite à une rupture spontanée du ligament croisé antérieur, bien que les foyers inflammatoires soient disséminés (Lemburg, 2001). En microscopie électronique, à la suite d'une hémiarthrose de la membrane synoviale et du cartilage articulaire chez le chien, on a observé, au stade précoce, des synoviocytes modifiés et particulièrement une phagocytose des particules incluant du fer, formant des lysosomes secondaires nommés « sidérosomes » (Fabry, 1990). Ces sidérosomes peuvent aussi être présents dans les chondrocytes, entraînant des modifications du RER et du contenu en glycogène, corrélées à un changement de la matrice.

Selon Edwards (2000), la spécialisation des fibroblastes situés sous l'*intima* peut être déterminée par le *turnover* matriciel et par l'interaction avec les leucocytes. Une caractéristique des synoviocytes B est leur niveau élevé de production de l'HA, qui reflète une activité aiguë de l'enzyme UDPGD. Ils produisent aussi la lubriline, des phospholipides et des hydrates de carbone peu communs, mais n'ont pas tendance à produire des enzymes responsables de la dégradation matricielle *in situ*. Par contre, dans une articulation malade, ces synoviocytes sécrètent des MMP, surtout au sein de l'*intima*, et peuvent interférer avec les leucocytes dans des mécanismes inflammatoires.

### 1.6. Les synoviocytes en culture cellulaire

Les plus anciens articles traitant de la culture des synoviocytes datent de Fell et collaborateurs (1976) et de Barratt et collaborateurs (1977). Ces auteurs ont étudié la culture des synoviocytes porcins sur un substrat formé par un filtre Millipore (culture d'organe en explant), en présence de sérum. Les synoviocytes des explants en contact avec le substrat exprimaient de longues prolongations ramifiées et montraient un RER bien développé, tandis que les cellules à la surface des villosités

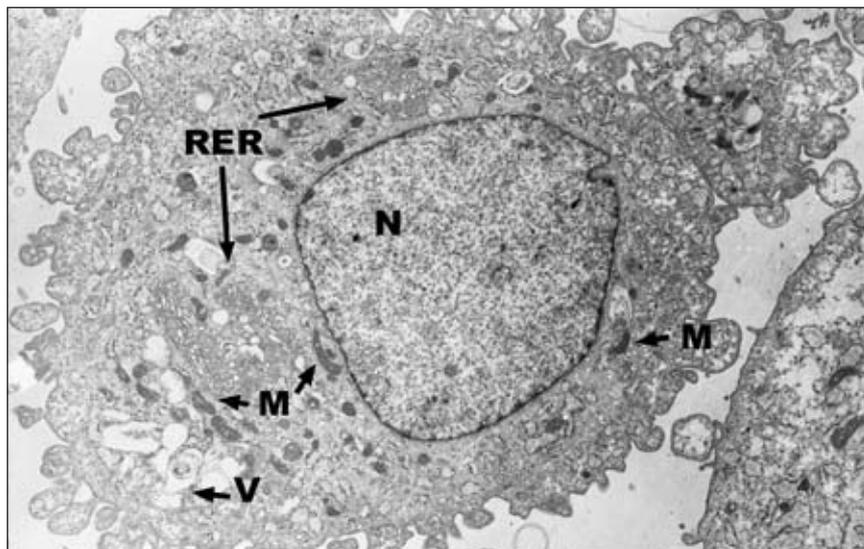
avaient perdu (ou rétracté) leur prolongations, n'étaient plus capables de phagocytose et développaient des pseudopodes lamelliformes. En 1988, Georgescu et collaborateurs ont développé une lignée pseudodiploïde, immortalisée par mutation spontanée, la lignée HIG-82. En culture, ils ont observé, outre les cellules A et B et les formes intermédiaires, des synoviocytes dendritiques, surtout lorsque les cellules provenaient d'une arthrite rhumatoïde ; il paraissait vraisemblable que ces synoviocytes produisaient plus de collagénase que les autres formes.

Lors de la culture des différents phénotypes, les synoviocytes du type A disparaissent en faveur d'une population homogène du type fibroblastique (Frean *et al.*, 1997 ; Iwanaga *et al.*, 2000) (figure 4). Par contre, des expériences de culture de synoviocytes en présence de cellules mononucléaires du sang périphérique indiquent une ré-apparition sporadique des synoviocytes de type A (Taguchi *et al.*, 1997). Des agglomérats cellulaires sont régulièrement observables (Georgescu *et al.*, 1988). Les synoviocytes de la lignée continue HIG-82 sont capables de l'endocytose, produisent des métalloprotéases matricielles neutres (NMP) sous leur forme latente, ainsi que la PGE<sub>2</sub> après stimulation par l'acétate de phorbol myristate (PMA) et d'interleukine-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) et par l'endocytose de billes en latex (diamètre 1  $\mu$ m). Pourtant cette lignée de synoviocytes produit moins de PGE<sub>2</sub> que la lignée primaire. Une autre observation très importante est une auto-activation cellulaire qui se déclenche avec une fréquence de 5 à 10 %, souvent en parallèle dans presque tous les récipients de culture, sans que la cause en soit détectable. Le taux d'auto-activation est encore plus élevé en lignée primaire (lapin), et est estimé à 30-40 % (Georgescu *et al.*, 1988).

Vandenabeele et collaborateurs (2003) caractérisent leurs synoviocytes primaires humains en culture par la fabrication du surfactant A, produit sous forme de corps lamellaires (d'un diamètre d'à peu près 500 nm), et par l'absence du facteur CD14 spécifique des macrophages. Ces corps lamellaires se composent de lamelles arrangées d'une manière concentrique

Figure 4 : Image d'un synoviocyte articulaire équin de type fibroblastique isolé à partir d'une culture en monocouche par microscopie électronique en transmission. Contraste à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (x 6000).

N : noyau ; M : mitochondries ; RER : réticulum endoplasmique rugueux ; V : vésicules de sécrétion.



autour d'un noyau dense de matrice du surfactant. Ils consistent en 10 % de protéine et 90 % de lipides dont la plupart sont des phospholipides saturés. Cette intéressante observation est à mettre en relation avec les affirmations d'Ahlqvist (1984) selon

lesquelles l'oxydation des lipides est une source d'énergie pour les synoviocytes. L'abondance des phospholipides peut différer selon l'état articulaire, indiquant ainsi l'existence d'une hydrolyse et d'une activité de la phospholipase A<sub>2</sub> lors des effusions

synoviales (Punzi *et al.*, 1986). Les corps lamellaires ont été observés à l'intérieur des synoviocytes B, mais aussi des synoviocytes A, dans des biopsies de membranes synoviales humaines provenant de patients souffrant d'une arthrite non-rhumatoïde et en culture cellulaire des synoviocytes humains (Dobbie *et al.*, 1995). Selon Kolomytkin et collaborateurs (2002), les synoviocytes fonctionnent comme un syncytium : les cytokines passent d'une cellule à l'autre par des « gap junctions » afin de lancer la production des protéines. L'IL-1 $\beta$  déclenche, d'une manière dose dépendante, une augmentation de l'activité des MMP qui peut être bloquée par les inhibiteurs des gap junctions, comme l'acide 18 $\alpha$ -glycyrrhétinique et l'oc-tanol. Le nombre des gap junctions est plus élevé lors de l'OAD ainsi que le taux de la protéine des gap junctions, la connexine (Marino *et al.*, 2004).

## 2. L'articulation enflammée

### 2.1. Les synoviocytes dans l'inflammation

L'inflammation de la membrane synoviale se caractérise par une congestion vasculaire, des hémorragies, un dépôt d'hémossidérine, l'infiltration par des cellules mononuclées et par une hyperplasie des cellules synoviales superficielles (Lynch *et al.*, 1998). Une caractéristique d'une membrane synoviale enflammée est la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, à laquelle participent les cellules endothéliales (tableau I) (Ritchlin, 2000). Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), un des facteurs angiogéniques les plus efficaces, est constitutif au synoviocyte B et sa sécrétion est augmentée par l'IL-1 $\beta$  et par l'hypoxie (Ritchlin, 2000), mais non par le TNF- $\alpha$  (Jackson *et al.*, 1997). Les synoviocytes B sécrètent aussi l'IL-1 ainsi que des chemokines et la protéine inflammatoire des macrophages (MIP-1 $\alpha$ ). Les synoviocytes expriment aussi normalement le récepteur antagoniste de l'interleukine-1, mais rarement le facteur nécrosant tumoral (TNF- $\alpha$ ) (Smith *et al.*, 2003). Le tableau I donne un aperçu des molécules effectrices sécrétées par les synoviocytes.

Dans l'ostéo-arthropathie expérimentale chez le lapin, des changements importants de la membrane synoviale

Tableau I : Molécules effectrices sécrétées par les synoviocytes

Fonction du signal	Molécules effectrices
Angiogenèse	IL-8, TGF- $\beta$ PDGF = Facteur de croissance dérivé des thrombocytes GM-CSF = Facteur stimulant la colonie des granulocytes-macrophages G-CSF = Facteur stimulant la colonie des granulocytes FGF = Facteur de croissance fibroblastique EGF = Facteur de croissance épidermique VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
Chémoattraction	IL-8, IL-16, MCP-1 MIP-1 $\alpha$
Effets pro-inflammatoires:	IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-15, PDGF, GM-CSF LIF = Facteur inhibiteur de leucémie MIF = Facteur inhibiteur du macrophage TRX = Thiorédoxine (mais elle bloque l'apoptose, selon Ritchlin <i>et al.</i> , 2000)
Effets anti-inflammatoires	p55 TNFR, p75 TNFR, IL-10
Dégradation de la matrice	PGE <sub>2</sub> , collagénases, stromélysines, 92 kD gélatinase, cathépsines B, L et K.
Inhibition de la dégradation de la matrice	TIMP = Inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases matricielles TGF- $\beta$ , IL-11
Ostéoclastogénèse	RANKL : Membre membranaire de la famille des TNFs, se lie à RANK, précurseurs des ostéoclastes exprimant ce récepteur. VEGF
Formation d'os	TGF- $\beta$ , BMP-2

sont observés dès le sixième jour (Lapadula *et al.*, 1995). On distingue une couche de synoviocytes A sur un tissu sous-synovial fibreux. Ce tissu est infiltré par des lymphocytes, des mastocytes et des vaisseaux sanguins. Jusqu'au neuvième jour, il se transforme en tissu épais, partiellement recouvert par des cellules dispersées qui ne peuvent plus être classées comme synoviocytes A ou B. Chez l'homme, dans une étude par arthroscopie sur 100 patients, on a observé que le nombre de couches de la paroi synoviale était augmenté et qu'un traitement de l'arthrite primaire par l'HA permettait aux cellules de se regrouper en mono- ou en bicouche en s'agrégeant moins et en devenant moins hypertrophiques avec diminution du nombre des cellules vacuolisées et du gonflement de l'appareil de Golgi (Ronchetti *et al.*, 2001). Le nombre de fibroblastes sous l'*intima* augmente et le taux de macrophages et d'adipocytes diminue.

Les synoviocytes sont aussi capables, sous l'influence de certains médiateurs, de sécréter des produits typiques d'autres souches cellulaires (De Bari *et al.*, 2001). Une angiogenèse active et une augmentation des facteurs angiogéniques (VEGF, PD-ECGF) seraient présentes dans la membrane ostéoarthritique ainsi que des protéines associées à l'apoptose (bcl-2 et p53) (Giatromanolaki *et al.*, 2001 ; Yao *et al.*, 2001). Dans l'OAD, l'expression du VEGF reste diffuse et l'activité du PD-ECGF est plutôt localisée dans le matériel ostéoarthritique. L'induction de l'apoptose des synoviocytes ostéoarthritiques semble associée à l'expression de la protéine p53 dans la membrane synoviale ostéoarthritique *in vivo* (Borderie *et al.*, 1999) et son expression est élevée lorsque la concentration en monoxyde d'azote (NO) augmente (Jovanovic *et al.*, 2002).

### **2.1.1. Modulation de l'inflammation : les cytokines pro- et anti-inflammatoires**

Selon Bertone et collaborateurs (2001), les concentrations en TNF- $\alpha$  et en IL-1 $\beta$  respectivement supérieures à 36 pg/ml et à 4,5 pg/ml sont de bons facteurs de prédiction d'une atteinte articulaire, tout comme la présence d'IL-6 qui serait corrélée au

nombre des leucocytes dans le LS. Les concentrations en TNF- $\alpha$  augmentent surtout dans les cas graves (Saxne *et al.*, 1988 ; Jouglin *et al.*, 2000).

Toujours selon Bertone et collaborateurs (2001), une concentration élevée en PGE<sub>2</sub> est un bon indicateur d'une maladie articulaire sans corrélation avec le nombre des leucocytes. Par contre, elle ne permet pas de faire une distinction entre les différents types d'atteinte et n'est corrélée ni à la douleur ni à la gravité des lésions articulaires. La PGE<sub>2</sub> serait produite pour un tiers de sa concentration par la cyclo-oxygénase 1 (COX-1) (Knorth *et al.*, 2004).

L'augmentation de la concentration en PGF<sub>1</sub> $\alpha$  signe une atteinte sévère et chronique. La PGF<sub>1</sub> $\alpha$  serait produite par les chondrocytes articulaires (ou au niveau de l'os sous-chondral) plutôt que par les synoviocytes.

Une arthrite est aussi indiquée par une réduction de la concentration en thromboxane, une réduction qui est attribuée à une orientation plus importante vers la production des prostaglandines. Quant au leucotriène B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), il est plus élevé lors d'une maladie articulaire aiguë et corrélé au nombre des leucocytes dans le LS. L'augmentation des concentrations en IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$  précède les dégâts importants, car ces cytokines sont connues pour initier les dégradations cartilagineuses, la résorption de l'os et l'inhibition de la synthèse des protéoglycans du moins *in vitro* (Armstrong et Lees, 2002). Chez l'homme, on a observé la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$  ainsi que des chémokines IL-8 et MCP-1 par les synoviocytes et les chondrocytes articulaires, isolés à partir d'articulations atteintes d'OAD (Lisignoli *et al.*, 2001). La sécrétion de l'IL-8 par les chondrocytes était 100 fois plus élevée que celle des synoviocytes, tandis que la sécrétion de MCP-1 par les synoviocytes était doublée (Guicheux *et al.*, 2002). L'IL-8 renforce la libération de l'IL-1 $\beta$ , de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$  chez l'homme. Par contre, il inhibe la synthèse de IL-1 $\beta$  et de TNF- $\alpha$  (Fernandes *et al.*, 2002). Une incubation des synoviocytes avec le TNF- $\alpha$  induit la production d'IL-1 et d'IL-8 après huit heures, avec un pic de production entre 18 et 24 heures (Tucci *et al.*, 2002).

L'IL-4 a une forte activité anti-inflammatoire. Elle inhibe la libération de

collagénase et aussi la prolifération cellulaire des synoviocytes suite à une exposition à l'IL-1 $\beta$  et aux facteurs de croissance. L'IL-13 est active dans l'OAD : sur les synoviocytes isolés à partir d'une membrane synoviale humaine ostéoarthritique et stimulés par les lipopolysaccharides (LPS), elle réduit la production de l'IL-1 $\beta$ , du TNF- $\alpha$ , de la stromélysine-1 et favorise la production de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 $\beta$  (Jovanovic *et al.*, 1998 ; Fernandes *et al.*, 2002).

Dans les chondrocytes articulaires et les synoviocytes équins isolés, l'IL-6 est stimulée par l'IL-1. L'IL-6 inhibe les effets cataboliques de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$  et apparaît dans l'OAD (Armstrong et Lees, 2002). L'IL-6 protège la matrice de la dégradation, diminue la perte des protéoglycans stimulée par l'IL-1 et la PGE<sub>2</sub> et diminue la production de la PGE<sub>2</sub>. La PGE<sub>2</sub> est un médiateur important de l'inflammation et de l'hyperalgésie par l'amplification de la perméabilité vasculaire, par la vasodilatation et par la stimulation des nocicepteurs (Frean et Lees, 2000). L'IL-6 stimule aussi la synthèse des immunoglobulines et la production des protéines de la phase aiguë dans les arthropathies inflammatoires (Landoni *et al.*, 1996). Selon Armstrong et Lees (2002), l'IL-6 augmente le taux des inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases (*tissue inhibitors of metalloproteases*: TIMP), stimule la prolifération des chondrocytes, augmente l'expression des récepteurs du TNF- $\alpha$  et la libération des GAG provoquée par le TNF- $\alpha$ . Ishiguro et collaborateurs (1999) observent une corrélation entre l'apparition de certains produits de la dégradation cartilagineuse et des TIMP. Une production de TNF- $\alpha$  par les synoviocytes équins n'a pas pu être prouvée (absence de l'ARNm) et il est possible que la présence du TNF- $\alpha$  dans le LS soit due aux macrophages équins ou à l'apport sanguin (Armstrong et Lees, 2002). Landoni et collaborateurs (1996) n'ont pas trouvé de production de TNF- $\alpha$  par des synoviocytes équins suite à une exposition aux LPS, tandis que Trumble et collaborateurs (2001) ont trouvé que l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  sont produits à partir de la membrane synoviale.

Certaines particularités de l'IL-1 chez le cheval sont décrites par May et collaborateurs (1992a-d). Elle est produite par les monocytes périphériques.

Les synoviocytes B équins montrent une réponse limitée à l'IL-1 $\alpha$  et à l'IL-1 $\beta$  humaines recombinantes (rh) sous forme d'une production de PGE<sub>2</sub> sur laquelle la rhIL-1 $\beta$  est trois à dix fois plus active que la rhIL-1 $\alpha$ . Les auteurs en concluent qu'il existe une différence qualitative et quantitative dans la façon dont la rhIL-1 stimule les cellules humaines et équines (May *et al.*, 1992a). La rhIL-1 est plus active sur les synoviocytes équins que sur les chondrocytes équins (May *et al.*, 1992b). En outre, l'IL-1 $\beta$  augmente l'assimilation du glucose (May *et al.*, 1992b ; Borderie *et al.*, 2000) mais la présence de l'IL-1 $\beta$  dépend de la production des protéines et pas de la croissance cellulaire. On a démontré une inhibition de l'IL-1 $\alpha$  et de l'IL-1 $\beta$  dans le LS normal et dans les LS de deux chevaux souffrant d'une atteinte articulaire au stade précoce. Des inhibiteurs de l'IL-1 $\alpha$  sont présents dans le LS des chevaux souffrant d'une maladie articulaire de plus longue durée. Par contre, l'inhibiteur de l'IL-1 $\beta$  n'est pas actif chez des chevaux touchés par des atteintes articulaires chroniques. Ceci suggère que l'inhibition de l'activité de l'IL-1 est un phénomène physiologique et que sa perte peut jouer un rôle dans les pathologies articulaires autant que sa production élevée (May *et al.*, 1992c). De plus, les chondrocytes eux-mêmes produisent un facteur IL-1-like, considéré comme un amplificateur possible des signaux extracartilagineux et d'un contrôle autocrine (May *et al.*, 1992d).

Ritchlin (2000) pense que la libération d'IL-1 ou de TNF- $\alpha$  par des macrophages/monocytes est suivie de l'activation des cellules résidentes tissulaires (fibroblastes, cellules endothéliales) ou non-parenchymateuses ; elle déclenche une cascade capable d'amplifier ou de supprimer l'inflammation par la libération des cytokines et/ou des facteurs de croissance dont les rôles sont complexes, difficiles à préciser et interfèrent avec l'apoptose et la production de NO qui stimule le TNF- $\alpha$  (Borderie *et al.*, 1999 ; Frean *et al.*, 1997 ; Von Rechenberg *et al.*, 2000). La production simultanée de cytokines pro- et anti-inflammatoires endogènes souligne la présence d'une régulation complexe dans les articulations enflammées. On ne cesse d'ailleurs pas de découvrir de nouvelles cytokines, comme les adipocytokines détectées dans le LS (Schäffler

*et al.*, 2003), mais dont le rôle reste à déterminer.

Des protéines spécifiques peuvent inhiber l'activité biologique des cytokines, comme l'IL-1 et le TNF- $\alpha$ , ou supprimer leur libération. Les fibroblastes synoviaux produisent les récepteurs solubles du TNF- $\alpha$ , le p55 et le p57, qui lient et neutralisent cette cytokine. Ils expriment également l'ARNm de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1, mais cette protéine intracellulaire n'est pas sécrétée, de sorte qu'il est peu vraisemblable qu'elle puisse bloquer l'action de l'IL-1 dans le tissu synovial. L'IL-10 a été observée dans les synoviocytes A et B de la zone voisine de la cavité articulaire lors d'une synovite. Tous les synoviocytes en culture produisent l'IL-10 et cette production augmente si les cellules sont stimulées par le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ . L'IL-10 est un fort inhibiteur de la production des cytokines et peut bloquer la libération des monokines, des lymphokines et l'expression de l'antigène de classe MHCII par le monocyte. L'IL-1ra des synoviocytes participe à la réduction de la détérioration du cartilage (Zhang *et al.*, 2004) et réduit l'expression de MMP-3 et de VEGF induite par l'IL-1 dans les synoviocytes et chondrocytes sains, ostéoarthritiques, rhumatoïdes et post-traumatiques (Inoue *et al.*, 2005), mais la membrane synoviale humaine ostéoarthritique souffre d'un manque de ce récepteur (Fernandes *et al.*, 2002). L'expression d'IL-1 $\beta$  dans la membrane synoviale et le cartilage articulaire est corrélée à l'expression de la stromélysine dans le cartilage (Trumble *et al.*, 2001). Cette cytokine est la première cytokine détectée dans les articulations ostéoarthritiques et joue un rôle actif dans la synovite. L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  sont produits surtout à partir de la membrane synoviale et se distribuent dans le cartilage articulaire. L'IL-1 $\beta$  est exprimée dans 73 %, l'IL-1 $\alpha$  dans 63 % et le TNF- $\alpha$  dans 42 % des échantillons de membrane synoviale. L'expression dans le cartilage articulaire est inférieure à celle de la membrane synoviale pour toutes les cytokines : 44 % pour l'IL-1 $\alpha$ , 29 % pour l'IL-1 $\beta$  et 20 % pour le TNF- $\alpha$ . Les articulations affectées par un traumatisme aigu expriment davantage de TNF- $\alpha$  que les articulations normales ou affectées par traumatisme chronique (Trumble *et al.*, 2001 ; Kolomytkin *et al.*, 2002). Les synoviocytes humains, après stimulation

par l'IL-1 $\beta$  sous hypoxie, augmentent la transcription et l'expression de la COX-2, la production des prostaglandines dérivées, ainsi que l'activité des MMP (Demasi *et al.*, 2004), mais la production de PGE<sub>2</sub> au sein du cartilage est basse en comparaison avec celle d'autres cellules (Nagao *et al.*, 1991).

### **2.1.2. Cyclooxygénases, lipoxygénases et prostaglandine E<sub>2</sub>**

Vergne et collaborateurs (2002) ont mis en évidence la présence d'un taux basal d'ARNm de la COX-1 et de la COX-2 dans les cultures de synoviocytes humains et une amplification de la synthèse *de novo* de la COX-2 par l'IL-1 $\beta$ , mais pas de la COX-1, dans des explants synoviaux et des synoviocytes en culture. Ces auteurs ajoutent que la prostaglandine majoritairement produite par les synoviocytes après induction de COX-2 par l'IL-1 $\beta$  est la PGE<sub>2</sub>, et que les prostanoïdes présents dans le LS humain sont essentiellement PGE<sub>2</sub> et 6-keto-PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , libérés plutôt par les synoviocytes que par l'os ou le cartilage, ce qui a été confirmé en culture d'explants (Von Rechenberg *et al.*, 2000). Une augmentation de la concentration en PGE<sub>2</sub> existe dans le LS des chevaux souffrant d'OAD en fonction du degré lésionnel, la concentration étant la plus élevée dans les cas modérés, moyennement élevée dans les cas graves et la plus basse dans les articulations indemnes, mais sans qu'il y ait une différence statistique significative. Des réductions des concentrations en PGE<sub>2</sub>, évoluant dans le même sens, ont été trouvées dans le cartilage articulaire (Von Rechenberg *et al.*, 2000). Dans l'OAD sévère, une fibrose de la membrane synoviale et une viabilité réduite des chondrocytes expliqueraient l'élévation modérée des concentrations en PGE<sub>2</sub>.

### **2.1.3. Les leucotriènes**

Des produits formés par la voie de la 5-lipoxygénase ont été décrits en 1995 chez des synoviocytes provenant de patients atteints d'OAD et d'arthrite rhumatoïde (Bonnet *et al.*, 1995). Mais le nombre d'études portant sur les leucotriènes est très limité par rapport au nombre de publications sur les prostaglandines. LTB<sub>4</sub> est produit par des explants de la membrane synoviale humaine ostéoarthritique, des chondrocytes articulaires humains et des

ostéoblastes humains ostéoarthritiques (Laufer, 2003 ; Martel-Pelletier *et al.*, 2004 ; Marcouiller *et al.*, 2005). On a montré l'existence d'un rapport entre la voie de la COX et celle de la lipoxygénase pour les trois types de cellules: une réduction de la production en prostaglandines mène à une augmentation de la production en leucotriènes (Laufer, 2003 ; Martel-Pelletier *et al.*, 2004 ; Marcouiller *et al.*, 2005). Cependant, selon une autre étude, le tissu synovial est le seul producteur de PGE<sub>2</sub>, de 6-keto-PGF<sub>2</sub>α, de leucotriènes B<sub>4</sub> et C<sub>4</sub> et seules des traces de prostaglandines et de leucotriènes sont produites par le cartilage ou l'os. Certains médicaments agissent sur une seule voie d'action, par exemple celle de la cyclo-oxygénase et la production

de leucotriènes peut donc continuer (Wittenberg *et al.*, 1993).

## 2.2. Les métalloprotéases matricielles

Les MMP sont des enzymes présentes dans l'articulation saine et dans l'articulation en souffrance. Elles sont produites par un grand nombre de cellules dont les granulocytes polymorphonucléaires neutrophiles (PMN), les synoviocytes et les chondrocytes (Cadore et Donabedian, 1997). Initialement, les MMP ont été classées en trois groupes : les collagénases (dont par l'exemple la MMP-1 dans l'articulation), les gélatinases et les stromélysines (dont par l'exemple la MMP-3 dans l'articulation) (tableau II) (Clegg et Carter, 1999) ; actuel-

lement, on distingue un quatrième groupe, les MMP *membrane types* (MT), ainsi appelées parce qu'elles sont ancrées dans la membrane cellulaire (Clegg et Carter, 1999). Elles font partie des principaux médiateurs de la dégradation cartilagineuse. Les MMP, surtout la MMP-1 et la MMP-3, sont responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire. Les agrécases 1 et 2 (ADAMTS-4 et -5, *a desintegrin and a metalloproteinase domain with thrombospondin motifs*) ainsi que ADAMTS-1 sont responsables de la dégradation des agrécane. Ces enzymes sont également des Zn<sup>2+</sup>métalloprotéases, appartenant, comme les ADAMS (*proteins with a desintegrin and a metalloproteinase domain*), à une famille M 12 de métal-

**Tableau II : Principales métalloprotéases matricielles (MMP) intervenant dans la dégradation du cartilage articulaire (d'après McIlwraith, 1996 et Henrotin, 2003 ).**

Nom actuel	Ancien nom	Substrats principaux	Lieu de production	Inhibiteur
<b>MMP-1</b>	Collagénase 1, tissulaire	Collagènes de type I, II, III, VII et X, agrécane, gélatine, pro-MMP-2 et -9 activé par MMP-3 et -10	ostéoblastes, synoviocytes, chondrocytes, macrophages, fibroblastes, cellules endothéliales	TIMP-1, TIMP-2
<b>MMP-2</b>	Gélatinase A (pro-MMP: 72 kDA, active: 66 kDA)	Collagène II dénaturé, collagène X et XI	chondrocytes, présente dans le LS, activée par d'autres MMP.	TIMP-1, TIMP-2
<b>MMP-3</b>	Stromélysine 1 (caséinase) NMP	Protéoglycane, agrécane, collagène IX et XI, fibronectine, procollagènes, protéine de liaison, décorine, élastine. renforce l'activité de MMP-1, -8, -9, -13		TIMP-1, TIMP-2
<b>MMP-8</b>	Collagénase 2	Collagénase, fibronectine, collagène I, II, III, VII, VIII, X, agrécane, gélatine. Activée par d'autres MMP	neutrophiles	
<b>MMP-9</b>	Gélatinase B NMP	Collagène IV et V activée par les MMP-1, -2, -3, -7		
<b>MMP-10</b>	Stromélysine 2	Procollagénase-1, fibronectine		TIMP
<b>MMP-11</b>	Stromélysine 3			
<b>MMP-13</b>	Collagénase 3	Collagène (I, II, III surtout collagène II), gélatine, agrécane. Activée par la MMP-2.		
<b>MMP-14</b>	MT1-MMP	Métalloprotéase matricielle de type membranaire Collagène I, II, III, gélatine, agrécane, laminine, fibronectine, pro-MMP-2, -13		
<b>MMP-15</b>	MT2-MMP	Gélatine, laminine, fibronectine, pro-MMP-2		
<b>MMP-16</b>	MT3-MMP	Pro-MMP-2		
<b>Agrécane 1</b>	ADAM-TS4	Agrécane, brévicane, versicane		TIMP-3

Légende : NMP : métalloprotéase neutre (*Neutral MetalloProtease*) ; TIMP : inhibiteur tissulaire des métalloprotéases (*Tissue Inhibitor of MetalloProteases*) ; MT- : ancrée dans la membrane (*Membrane Type*) ; ADAM-TS : *A desintegrin and a metalloproteinase domain with thrombospondin motifs* ; LS : liquide synovial.

lopeptidases. Les ADAMTS 1,4 et 5 sont des agrécanases sans action modulatrice sur les cytokines ; cette action modulatrice est une fonction des ADAMS que l'on retrouve dans beaucoup d'autres tissus et qui modulent en outre l'action des prostaglandines lors de la fertilisation d'un ovule (Nagase et Kashiwagi, 2003). Au niveau des protéoglycane, les agrécanases agissent surtout entre les domaines globulaires G1 et G2 (Chockalingam *et al.*, 2004). Elles agissent sur un site différent du site d'action de la stromélysine-1. Elles clivent la protéine centrale de l'agrécane aux sites proches d'une région riche en chondroïtine sulfate (Henrotin, 2003). Les métalloprotéases matricielles dépendent du calcium pour une activité complète (Reboul *et al.*, 1996).

Les synoviocytes jouent donc un rôle important dans la dégradation des protéoglycane par la voie des MMP et en libérant aussi l'agrécane (Vankemmelbeke *et al.*, 1999). On a trouvé une activité accrue des MMP-1, MMP-3 et MMP-10 lors de l'OAD (Tolboom *et al.*, 2002). La MMP-1 est synthétisée principalement à partir des cellules synoviales rayonnantes des patients présentant une OAD, mais elle est identifiée aussi dans les couches superficielles du cartilage articulaire avec des concentrations accrues chez l'homme souffrant d'OAD (Trumble *et al.*, 2001). L'expression de la MMP-13 est plus généralisée que celle de la MMP-1, avec 10 sur 45 échantillons du cartilage articulaire et 5 sur 59 échantillons de la membrane synoviale exprimant MMP-13. Chez l'homme, la MMP-13 est exprimée au sein du cartilage articulaire normal et dans la membrane synoviale lors de l'OAD, et ses concentrations sont accrues dans le cartilage articulaire affecté par l'OAD. Par contre, selon d'autres auteurs, on ne peut pas mettre en évidence l'expression de la MMP-13 dans les échantillons normaux, ce qui suggère qu'elle joue un rôle plus important pendant une atteinte articulaire que pendant l'homéostasie (Trumble *et al.*, 2001). Ces données restent discutées puisque, selon d'autres auteurs encore, on détecte rarement la MMP-13 dans les synoviocytes humains lors de l'OAD et après une stimulation par l'IL-1 et le TNF- $\alpha$ , mais elle est exprimée par les chondrocytes (Reboul *et al.*, 1996). La MMP-13 a une grande affinité pour le collagène II, mais cata-

lyse aussi la dégradation du collagène I. C'est une enzyme efficace qui fend l'hélice triple du collagène de type II cinq fois plus rapidement que la MMP-1. La MMP-13 pourrait être liée à la transformation cellulaire, y compris à la formation d'ostéophyte.

La stromélysine (MMP-3) est considérée comme l'enzyme principale dans la pathogénie de l'OAD, parce qu'elle joue un rôle important dans la dégradation de l'agrécane et du collagène et qu'elle renforce l'activation des MMP-1, -8, -9 et -13. Une expression élevée du ARNm de la MMP-3 a été observée dans les membranes synoviales prélevées lors des étapes finales d'arthrite rhumatoïde et d'OAD chez l'homme, aussi bien que dans les chondrocytes des couches superficielles et moyennes du cartilage affecté par OAD. Des observations similaires ont été faites chez le cheval, réaffirmant l'importance de la MMP-3 dans la pathogénie de l'OAD (Trumble *et al.*, 2001). Cependant, la concentration d'enzyme active de la MMP-3 ne paraît pas plus élevée dans les articulations équines malades que dans les articulations normales et les auteurs en concluent que la présence d'une enzyme (ou de son ARNm) n'implique pas nécessairement son activité.

La MMP-2 se trouve sous sa forme latente et sous sa forme active dans les articulations équines normales et lésées, tandis que la MMP-9 et surtout sa forme dimérique augmentent dans les atteintes aseptiques sévères (Jouglin *et al.*, 2000). Par zymographie (détection d'une activité enzymatique de gélatinases par digestion d'un gel polyacrylamide contenant la gélatine comme substrat), on a démontré que tous les échantillons de LS contiennent la pro-MMP 2 (kD 72), tandis que la MMP-2 active (kD 66) n'est détectée que dans 3 % des cas (Jouglin *et al.*, 2000). Les échantillons de LS provenant d'articulations atteintes d'une maladie articulaire contiennent des concentrations sensiblement plus élevées en pro-MMP-2 que les échantillons provenant d'articulations normales. La présence de la pro-MMP-2 dans les articulations normales suggère un rôle constitutif et d'homéostasie destiné à éliminer le collagène anormal de la matrice extracellulaire nouvellement synthétisée. Il existe une corrélation significative entre l'âge

et la concentration en MMP-2 : les chevaux les plus âgés, avec des articulations affectées par un traumatisme aigu, présentent les concentrations les plus élevées, et les chevaux plus âgés avec des articulations affectées par un traumatisme chronique présentent des concentrations inférieures, comparées aux concentrations mesurées chez les chevaux plus jeunes dans chaque catégorie respectivement. Trumble et collaborateurs (2001) signalent également une corrélation significative entre l'âge et les concentrations en MMP-9, variable selon le type d'atteinte articulaire, et une corrélation importante entre la pro-MMP-9 et sa forme active. Les concentrations en pro-MMP-9 et en MMP-9 sont également faiblement corrélées à la concentration des leucocytes sanguins dans le LS. À la différence des autres MMP, la pro-MMP-2 n'est pas activée par les enzymes protéolytiques, mais par des MMP liées à la membrane. Par contre, en culture d'explants synoviaux et chondraux atteints d'OAD précoce, on signale qu'une stimulation par IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$  ou LPS augmente la sécrétion de MMP-2 et MMP-9, mais que cette sécrétion n'existe pas si les protéases à plasmine ou à sérine sont inhibées (Chu *et al.*, 2004). Indépendamment de l'activation de la MMP-2, la concentration accrue en pro-MMP-2 observée dans les articulations en souffrance peut indiquer que cette enzyme joue un rôle dans l'activation d'autres enzymes telles que la MMP-9 ou la MMP-13. Toujours selon Chu et collaborateurs (2004), les PMN seraient la source principale de MMP-9 dans le LS. Une fois activée, la MMP-9 participerait à la destruction du cartilage articulaire.

### 2.3. Le monoxyde d'azote

Le NO joue un rôle important comme médiateur dans les tissus endommagés et lors de l'inflammation (Grigolo *et al.*, 2003). Il est aussi impliqué dans l'angiogenèse (Sakurai *et al.*, 1995) et peut contribuer à la destruction du cartilage par l'inhibition du TGF- $\beta$  (Grigolo *et al.*, 2003) et, au stade précoce de l'OAD, par l'induction de l'apoptose des chondrocytes. En retour, il semble que le TGF- $\beta$  soit un puissant inhibiteur de la synthèse du NO (Stefanovic-Racic *et al.*, 1994).

Les chondrocytes articulaires sont capables de produire beaucoup de NO, mais leur nombre n'est pas suffisant

pour expliquer les concentrations de nitrites et de nitrates trouvées dans le LS pathologique (Stefanovic-Racic *et al.*, 1994). En cultures *ex vivo* de membrane synoviale et de cartilage articulaire provenant d'articulations humaines atteintes d'arthrite rhumatoïde, les concentrations en  $\text{NO}$  produites par la membrane synoviale correspondent au nombre des synoviocytes CD14+ (synoviocytes de type A) (Sakurai *et al.*, 1995). L'iNOS (*NO-synthase inductible*) (l'ARNm et l'enzyme) est exprimée dans les synoviocytes de la surface de la membrane synoviale, les cellules endothéliales et les chondrocytes et, d'une manière moins importante, dans les cellules mononucléaires infiltrantes ou les fibroblastes situés en dessous de l'*intima* synovial. Des observations similaires ont été faites, mais avec beaucoup moins de cellules infiltrées, dans des échantillons de patients arthritiques (Sakurai *et al.*, 1995). Une analyse semiquantitative (par RT-PCR) a révélé que l'expression de l'ARNm a la même ampleur dans l'arthrite rhumatoïde et l'OAD, mais que l'expression de la protéine est plus faible dans l'OAD. Dans la membrane synoviale normale, l'expression de l'iNOS est faible dans les synoviocytes de la surface et dans des cellules endothéliales. La production du  $\text{NO}$  par les chondrocytes articulaires et les synoviocytes fraîchement isolés peut être stimulée par un mélange d'IL-1 $\beta$ , de TNF- $\alpha$  et de LPS.

Lors d'une stimulation par l'IL-1, le TNF- $\alpha$  ou la phagocytose des billes de latex, la synthèse de  $\text{NO}$  commence après neuf heures, ce qui indique la participation de la forme inductible de la NO-synthase (Stefanovic-Racic *et al.*, 1994).

Les synoviocytes équins isolés stimulés par les LPS produisent beaucoup d'eicosanoïdes et de cytokines, mais pas de  $\text{NO}$  qui est pourtant un médiateur à fort potentiel pro-inflammatoire (Frean *et al.*, 1997). Les cultures de synoviocytes en lignée primaire ne produisent pas de  $\text{NO}$  spontanément et, après stimulation, seuls 10 % des cultures de la lignée primaire en produisent. De même, la lignée de synoviocytes HIG-82 n'en produit pas non plus (Stefanovic-Racic *et al.*, 1994). Cependant, en lignée primaire, on observe parfois une production spontanée de  $\text{NO}$ , sans stimulation préalable,

effet qui est attribué à l'auto-activation aléatoire de certaines cultures.

En culture en explants, les synoviocytes équins produisent du  $\text{NO}$ , mais moins que le cartilage articulaire (Von Rechenberg *et al.*, 2000). Le  $\text{NO}$  stimule alors la production de TNF- $\alpha$  qui, en combinaison avec l'IL-1, augmente la production de gélatinase. Selon Landoni et collaborateurs (1996), les explants cartilagineux provenant d'articulations atteintes d'OAD légère produisent les concentrations les plus élevées en  $\text{NO}$ , tandis que les articulations indemnes ont une production intermédiaire et les articulations gravement lésées la production la plus basse. Il y aurait ainsi une double fonction du  $\text{NO}$ , soit protectrice (après stimulation par cytokines) par suppression de la prolifération et de la synthèse cellulaire, soit inhibitrice du développement du tissu de réparation (Von Rechenberg *et al.*, 2000). Ces auteurs établissent une corrélation positive entre les concentrations en  $\text{NO}$  et en PGE<sub>2</sub> pour le cartilage provenant d'articulations légèrement ou gravement lésées, mais sans exclure qu'une augmentation de la concentration en PGE<sub>2</sub> ne soit empêchée par des concentrations élevées en  $\text{NO}$ .

Chez le lapin, la staurosporine, un inhibiteur de la protéine kinase C, est un fort inducteur de la synthèse du  $\text{NO}$ , mais inhibe légèrement l'effet de l'IL-1. La régulation de la synthèse du  $\text{NO}$  semble dépendre d'une phosphorylation protéique et de la présence de nucléotides cycliques (Stefanovic-Racic *et al.*, 1994). Dans les synoviocytes humains, le  $\text{NO}$  paraît réduire l'action d'une enzyme de la glycolyse, la glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase, qui contient un groupe -SH facilement oxydable (Borderie *et al.*, 2000). L'inhibition de cette enzyme est réversible sous l'influence d'un capteur du  $\text{NO}$ , l'hémoglobine. Le  $\text{NO}$  peut également modifier un groupe -SH d'un transporteur essentiel du glucose des synoviocytes, le GLUT-1 (Hervann *et al.*, 1992). Le  $\text{NO}$  augmente la production de TNF- $\alpha$  avec un effet « feedback » positif sur la production des cytokines pro-inflammatoires (Borderie *et al.*, 2000). Les synoviocytes humains provenant d'articulations ostéoarthritiques, incubés en présence d'un donneur de  $\text{NO}$  (nitroprussiate de sodium, SNP), présentent une via-

bilité réduite et une fragmentation de l'ADN accrue (Jovanovic *et al.*, 2002). En parallèle, il y a augmentation de l'expression de COX-2, des concentrations en PGE<sub>2</sub> et de l'expression des caspases 3 et 9 impliquées dans la mort cellulaire par apoptose, tandis que certains piègeurs des formes activées de l'oxygène (ROS) et des inhibiteurs de la COX-2 et des caspases réduisent la mort cellulaire, confirmant que le  $\text{NO}$  produit à partir du SNP induit des altérations mitochondriales avec production de ROS qui conduisent à l'apoptose (Bernardi *et al.*, 2001).

#### 2.4. Les effets des formes activées de l'oxygène sur l'articulation

Selon Allen et collaborateurs (1989), une articulation enflammée subit, lors du mouvement, des cycles A/R (cycles d'anoxie/réoxygénation) et ce phénomène contribue à la persistance du processus inflammatoire, entre autre par la production des ROS ; on a trouvé dans le LS des protéines et des lipides modifiés par une attaque radicalaire, attribuée à l'anion superoxyde (Allen *et al.*, 1989). Selon Auer (1989), l'anion superoxyde, produit par les PMN activés ou par A/R, peut mener à l'OAD chez le cheval. Nous avons récemment démontré que, sous l'effet de l'A/R, les synoviocytes équins en culture sont effectivement capables de produire des espèces radicalaires, identifiées comme étant des radicaux lipidiques (Schneider *et al.*, 2005). Des espèces dérivées du monoxyde d'azote ont été trouvées dans les articulations arthritiques comme l'indique la présence de nitrotyrosine, marqueur tissulaire d'une exposition préalable au peroxy-nitrite, trouvée chez l'homme en quantité plus élevée dans l'arthrite rhumatoïde que dans l'OAD, au niveau du stroma de la membrane synoviale, mais aussi dans certains lymphocytes, dans les cellules endothéliales et les macrophages (Sandhu *et al.*, 2003).

L'anion superoxyde oriente les cellules vers l'apoptose et non vers la nécrose (Galleron *et al.*, 1999). Dans l'articulation, il est considéré comme important dans l'entretien de l'inflammation, en mobilisant le fer de la ferritine, en le maintenant à l'état réduit (Fe<sup>2+</sup>) et en empêchant sa liaison à la transferrine (Auer et Seawright, 1993). Ainsi, la superoxyde dismutase (SOD) ne protégerait pas le LS équin *in vivo* d'une

manière directe, mais d'une manière indirecte en inhibant la mobilisation du fer et la réduction des ions ferriques, et en contrecarrant la formation du radical hydroxyle (Auer et Seawright, 1990). La production d'anion superoxyde contribuerait à la formation du radical hydroxyle (produit par la réaction de Fenton et le cycle d'Haber-Weiss). L'anion superoxyde, moins réactionnel que le radical hydroxyle, diffuserait à plus longue distance. Il faut rappeler cependant que la réalité de la réaction de Fenton et du cycle d'Haber-Weiss *in vivo* est sérieusement contestée (Koppenol, 2001). La saturation basse en transferrine du plasma et du LS (30 % environ) garantit que la concentration d'un agent à potentiel dangereux, le fer libre, est maintenue à un niveau négligeable. Une partie de l'action des NSAID serait due à leur capacité de lier des métaux dont le fer (Auer *et al.*, 1991).

Les ROS et particulièrement les radicaux libres sont aussi responsables de la fragmentation des lipides et des protéines par étapes successives ; les diènes conjugués sont formés au stade précoce de la peroxydation lipidique tandis que des produits fluorescents sont formés plus tard dans la dégradation des lipides ou à la suite des attaques des acides aminés comme la cystéine, le tryptophane ou la tyrosine. Dans le LS de patients souffrant d'arthrite rhumatoïde, on a trouvé du formiate, considéré comme le produit d'une attaque des hydrates de carbone par le radical hydroxyle (Grootveld *et al.*, 1991). Une augmentation de la lipoperoxydation a été trouvée chez les patients souffrant d'OAD (Grigolo *et al.*, 2003). L'attaque des acides gras insaturés (phospholipides membranaires) déclenche un processus qui s'auto-entretient, et la formation de produits de dégradation ayant une durée de vie longue, qui peuvent diffuser loin dans l'articulation et interférer avec le métabolisme cellulaire ou la régulation de l'expression des gènes. Le taux de peroxydation lipidique est plus élevé dans l'OAD que dans l'arthrite rhumatoïde.

Les synoviocytes produisent des enzymes destructrices des ROS, telles que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase, tandis que les chondrocytes articulaires en produisent peu (Kurz *et al.*, 1999) ; ces

données s'opposent à celles de Baker et collaborateurs (1988) qui ont montré une défense efficace des chondrocytes par la catalase et le système glutathion peroxydase-glutathion réductase.

### 2.5. L'évolution des protéoglycanes

La membrane synoviale enflammée libère des enzymes caséinolytiques, responsables d'une déplétion de la surface cartilagineuse en protéoglycanes (Von Rechenberg *et al.*, 2000). Ces enzymes activent des proenzymes comme la procollagénase et la progélatinase, secrétées également par les chondrocytes, autant que la sécrétion des métalloprotéases matricielles neutres (NMP), comme la stromélysine, qui contribuent à la détérioration du cartilage articulaire. Lynch et collaborateurs (1998) ont étudié *in vitro* l'influence de l'HA exogène sur la synthèse de l'acide hyaluronique et de la collagénase par des synoviocytes équitains provenant d'individus sains et malades [par exemple, lors de l'ostéochondrose disséquante (OCD)]. L'HA est reconnu comme responsable de la viscosité du LS, permettant le glissement des tissus mous intra-articulaires, et comme influençant la composition du LS en réduisant la migration des leucocytes (Freen et Lees, 2000) ainsi que la diffusion et la circulation des solutés. L'HA module les réponses inflammatoires par diverses voies ; il inhibe notamment la phagocytose leucocytaire (Dimock *et al.*, 2000), la dégradation par les cellules inflammatoires et les enzymes chondrolytiques et la synthèse de la PGE<sub>2</sub> par les synoviocytes et par les chondrocytes (Auer et Seawright, 1990 ; Freen et Lees, 2000 ; Lisignoli *et al.*, 2001 ; Karatay *et al.*, 2004). Au stade précoce de l'OAD, l'HA diminue l'expression de l'IL-1 $\beta$  et réduit également ses effets délétères (Lisignoli *et al.*, 2001). La réduction de viscosité du LS est attribuée à une réduction de la concentration en HA et à la modification (dépolymérisation) de sa structure, sous l'action des ROS (Auer et Seawright, 1990). Dans l'OAD, certaines cytokines et facteurs de croissance stimuleraient la synthèse de l'HA, mais ces résultats restent discutés (Lynch *et al.*, 1998 ; Nixon *et al.*, 2000 ; Tanimoto *et al.*, 2001). Pour sa part, l'HA induit la production de l'IL-1, *in vivo* et *in vitro*, et une augmentation modérée de l'activité de la collagénase (Tanimoto *et al.*, 2001). Des études expérimentales (Kobayashi

*et al.*, 2004) ont montré que des injections d'HA exogène améliorent l'OAD en empêchant la libération d'agrécane et/ou en augmentant sa synthèse, réduisent la production de NO et limitent la déplétion en cartilage induite par l'IL-1 ; par contre l'HA ne semble pas très efficace contre les formes actives des MMP (Lynch *et al.*, 1998). On a décrit une activité protectrice de l'HA et d'une préparation de glycosamines polysulfatées (PSGAG) sur des synoviocytes équitains en culture (Freen et Lees, 2000). L'HA agit par prévention de la mobilisation des précurseurs des eicosanoïdes en fonction de son poids moléculaire et de sa concentration. Des récepteurs cellulaires pour l'HA ont été identifiés, ils contribuent à modifier l'adhésion et la migration cellulaires. L'HA est capable de former des complexes avec les phospholipides et leur métabolites cataboliques, ce qui peut contribuer à la protection des chondrocytes articulaires. L'inhibition de l'activité leucocytaire peut expliquer l'effet bénéfique de l'HA, bien que cette molécule soit trop volumineuse pour franchir la barrière que représente la membrane synoviale (Freen et Lees, 2000).

La protéine oligomérique du cartilage (COMP), le sulfate de kératan (KS) et les glycosaminoglycanes (GAG) sont des composants de la matrice cartilagineuse et leurs concentrations dans le LS sont généralement considérées comme des indicateurs du catabolisme du cartilage, même si ce point de vue est contesté (Brown *et al.*, 1998). Skioldebrand et collaborateurs (2001) ont trouvé soit une augmentation, soit une diminution de la concentration de COMP selon la race équine. Todhunter et collaborateurs (1997) tout comme Fuller et collaborateurs (2001) ont montré que les concentrations de KS dans les plasmas et les LS équitains sont augmentées en fonction de l'âge, de la race, du sexe et du type de lésion articulaire. Pour Van den Boom et collaborateurs (2004), les concentrations en GAG et en hydroxyproline (témoin de la destruction du collagène) diminuent continuellement dans le LS jusqu'à l'âge de quatre ans où un plateau est atteint, mais chez les sujets atteints d'OAD, ces concentrations se réduisent davantage. Il ne semble pas y avoir de corrélation entre la quantité de GAG dans le LS et la gravité de la chondropathie, tandis que la quantité d'hydroxyproline signale probable-

ment une destruction du collagène. Dans le LS des articulations souffrant d'OAD, on a aussi mesuré des concentrations plus élevées en phosphatase alcaline, spécifique de l'os (Kraus *et al.*, 2002), et en MMP-1. Quant aux cytokines, il n'y a aucune activité de l'IL-1 dans le LS des chevaux normaux, mais on la détecte dans le LS des chevaux souffrant d'une arthrite primaire (Alwan *et al.*, 1991) et chez les chevaux souffrant d'arthrite septique, d'OCD ou d'arthrite traumatique qui peut déclencher une arthrite secondaire (Stark et Bradley, 1999).

### 3. Le liquide synovial

Le liquide synovial (ou synovie) est un liquide visqueux, légèrement ambré, au pH faiblement alcalin. Ses fonctions les plus importantes sont la lubrification et la nutrition du tissu articulaire (Bassler *et al.*, 1981). Il dérive essentiellement des vaisseaux sanguins de la membrane synoviale, mais les protéines de la synovie sont différentes de celles du plasma sanguin (Kitamura *et al.*, 1999). Les petites molécules passent par diffusion entre le plasma et le LS, et les protéines plasmiques diffusent selon leur poids moléculaire, leur configuration stérique et leur charge. L'albumine et les protéines de bas poids moléculaire jouent un rôle important dans la pression osmotique du LS et traversent facilement l'endothélium, tandis que le fibrinogène, avec son poids moléculaire élevé, est retenu dans le sang ; ce n'est que lors d'une inflammation, lorsque la perméabilité des capillaires est augmentée, que cette molécule devient détectable dans le LS. Lors d'une sédimentation plasmatique par l'HA, on obtient un ultrafiltrat de composition similaire à celle du LS normal (Bassler *et al.*, 1981) ; l'HA, dans le tissu péricapsulaire, semble empêcher certaines protéines plasmiques de passer dans le LS (Liberg *et al.*, 1977). Le LS de différents types d'articulations équin (grasset, boulet, jarret) a une concentration en glucose de 3,4 à 3,7 mmol/l et le sérum de 2,3 mmol/l. Le LS équin contient moins de 500 cellules nucléées/ $\mu$ l : 90 % d'entre elles sont des cellules mononucléaires, surtout des synoviocytes, des monocytes et des lymphocytes, et 10 % sont des PMN. Le nombre de leucocytes diffère selon les articulations (boulet :  $0,39 \times 10^9/l$ , grasset :  $0,12 \times 10^9/l$ ). Il existe une variation de la teneur en protéines et en fractions protéiques

en fonction de l'âge, du sexe et vraisemblablement de l'intensité de l'entraînement du cheval (Liberg *et al.*, 1977). D'autres différences dans la composition du LS du boulet, de l'articulation interphalangienne distale et de la bourse podotrochléaire équines ont été mises en évidence (Viitanen *et al.*, 2000), les paramètres examinés incluant la COMP, les GAG, l'HA et les MMP-2 et MMP-9.

Une caractéristique importante d'une atteinte aiguë de l'articulation est la réduction de la viscosité du LS par la dépolymérisation de l'HA. Il semble y avoir une relation inverse entre le volume du LS et la teneur en oxygène, la concentration en glucose, le pH et le nombre des leucocytes (Richman *et al.*, 1981). Dans l'inflammation, le pH du LS s'acidifie (Tulamo *et al.*, 1989a) et la concentration en lactate augmente lors d'une inflammation septique (Tulamo *et al.*, 1989b), reflétant une évolution vers un métabolisme anaérobie, avec un déséquilibre entre sécrétion et élimination des composants du LS. L'œdème du tissu synovial et l'épanchement articulaire entraînent une hypoxie locale qui peut être aggravée par le mouvement (Ahlqvist, 1984 ; James *et al.*, 1990). Les concentrations en glucose et en lactate sont considérées comme des marqueurs de l'inflammation synoviale dans l'arthropathie (Kraus *et al.*, 2002).

Le LS d'une articulation lésée, mais sans signe clinique, peut contenir des synoviocytes A, quelques fragments de cartilage articulaire et les villosités de la membrane peuvent être légèrement élargies. Un nombre élevé de synoviocytes A ainsi que des fragments plus grands ont été observés par arthroscopie dans le LS lors de lésions cartilagineuses, mais ces phénomènes restent sans conséquence tant que les débris sont éliminés par la membrane synoviale et qu'une inflammation massive de celle-ci ne s'installe pas (Zimmering, 2000).

Un composant important du LS est la lubricine. Schwarz et Hills (1998) la décrivent comme un composant large et soluble en milieu aqueux. Cette molécule est porteuse d'un ingrédient actif, un phospholipide, déposé sur la surface articulaire en couches oligo-

lamellaires (*surface active phospholipid*, SAPL). Ce phospholipide, produit par le tissu mou périarticulaire, ressemble au surfactant pulmonaire ; il consiste essentiellement en L- $\alpha$ -dipalmitoylphosphatidylcholine avec un ion ammonium quaternaire. Cet ion forme un « zwitterion » avec un phosphate, permettant d'éviter des effets lytiques. D'autres phospholipides ont été identifiés, la phosphatidyléthanolamine, la sphingomyéline, le phosphatidylglycérol et d'autres. Le SAPL constitue 9 % à 13 % de la lubricine et lui est associé de manière réversible. Il est sensible à l'action des lipases (Schwarz et Hills, 1998). Un déficit en SAPL participe à l'échec des prothèses (Hills et Crawford, 2003). Dans le LS, l'HA contrôle la viscosité par sa capacité à retenir l'eau et un enrichissement en SAPL permet une diminution de friction avec une réduction de la perte de collagène ; de plus, le SAPL, comme le surfactant, est un agent protecteur vis-à-vis des ROS et, par son hydrophobie, peut limiter une hydratation œdémateuse du cartilage. Le SAPL peut aussi avoir des effets négatifs en réduisant la diffusion dans le cartilage articulaire, avec un échange ralenti des métabolites et une malnutrition des chondrocytes. Un autre effet négatif surprenant de la lubricine serait une limitation de la réparation du cartilage en empêchant le contact entre deux surfaces cartilagineuses (Schäfer *et al.*, 2004). De plus, dans le LS se trouve un facteur dominant anti-adhésif.

L'activité de l'IL-1 dans le LS peut contribuer à la pathogénie de l'arthropathie. Une activité de cette enzyme a été observée chez les chevaux souffrant d'arthrite septique, d'OCD, d'arthrite traumatique [qui peut déclencher une arthrite secondaire, par exemple suite aux fractures osseuses intraarticulaires (Stark et Bradley, 1999)] et d'effusions synoviales indéterminées. Alwan et collaborateurs (1991) ont recherché une activité de l'IL dans des échantillons de LS provenant de chevaux souffrant d'arthrite (primaire). Le LS et les sérums normaux de tous les groupes étudiés ne montrent aucune activité discernable de l'IL-1. L'évidence d'un inhibiteur de l'IL-1 dans le LS des chevaux atteints d'OAD est fournie par des expériences d'ultrafiltration. Par contre, la présence d'une activité *IL-1-like* peut être importante dans la pathogénie de l'arthrite équine (Stark et Bradley, 1999).

Un marqueur d'une modification oxydative par les ROS dans le LS est une concentration élevée de protéines carbonylées. Une élévation de ces protéines carbonylées a été observée dans des échantillons de LS équins provenant de chevaux qui souffraient d'OCD et contenant des fragments articulaires (Dimock *et al.*, 2000). En parallèle, le statut anti-oxydant (étudié dans un système d'oxydation des liposomes) était augmenté, mais on ne peut pas exclure un effet des médicaments administrés ni un effet lié à l'atteinte encore en phase aiguë chez les chevaux inclus dans l'étude. Les auteurs estiment que les ROS ont perturbé la balance énergétique des chondrocytes articulaires et ont pu mener à la mort cellulaire. Ils expliquent la concentration élevée en protéines du LS par une concentration élevée en céruloplasmine ou en transferrine. Ces deux protéines sont relativement stables vis-à-vis des attaques radicalaires. Un autre composant dont la concentration est augmentée dans le LS lors de l'OCD et dans des arthrites inflammatoires est la PGP 9,5 (Kitamura *et al.*, 2001). La PGP 9,5 est une enzyme cytosolique dont l'apparition dans le LS traduit plutôt la présence des synoviocytes endommagés.

D'autres auteurs (Bowker *et al.*, 1993 ; O'Connor *et al.*, 2004) citent encore des fibres nerveuses distribuées dans la membrane synoviale équine ainsi que la présence de quelques peptides bioactifs, dont la substance P qui est relâchée dans le LS et présente en quantité élevée dans une articulation anormale (par exemple dans l'OAD). Une baisse en substance P supprime les symptômes de la pathologie désignée par Kitamura et collaborateurs (2001) comme « inflammation neurogénique », mais les auteurs attribuent un rôle moins important à la substance P dans l'étiopathogénie de l'OAD.

#### 4. Interaction avec les chondrocytes

Au stade précoce de l'OAD, Jovanovic et collaborateurs (2002) détectent une activité enzymatique accrue et des changements morphologiques de la membrane synoviale ainsi que souvent, « une inflammation synoviale marquée, voisine des lésions cartilagineuses ». Au niveau moléculaire, il existe des interactions plus simples entre synoviocytes (lignée continue,

HIG-82) et chondrocytes articulaires de lapin (Lin *et al.*, 1988 ; Sung *et al.*, 1988). Les synoviocytes HIG-82 produisent des facteurs activateurs des chondrocytes (CAF) qui induisent rapidement la synthèse de collagénase, gélatinase et caséinase, et de la prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) par les chondrocytes articulaires cultivés en monocouche. La cytokine synoviale la plus importante qui règle, entre autres, la digestion autolytique des fragments du cartilage vivant, est l'IL-1. En culture cellulaire, la présence de LS humain (5 % du milieu) récolté chez des patients soumis à une arthroscopie pour traumatisme, interfère avec l'adhésion des chondrocytes embryologiques aviaires (Nevo *et al.*, 1993). Les chondrocytes forment des agrégats et on n'observe presque pas de cellules de forme polygonale. Cette action anti-adhésive serait due à l'HA. Cependant, il faut remarquer que, dans cette étude, les auteurs ont utilisé des chondrocytes aviaires avec du sérum humain et de plus, des cellules immatures.

Des chondrocytes cultivés en présence de synoviocytes humains ou en milieu conditionné par des synoviocytes humains adhèrent plus facilement au flacon de culture et montrent une importante réduction de la production de GAG, réduction attribuée à l'influence de l'IL-1. Dans un modèle de cellules cultivées en monocouche (Panasyuk *et al.*, 2003), un milieu conditionné par la membrane synoviale inhibe, de manière dose-dépendante, l'incorporation de la thymidine tritiée par les synoviocytes et par les chondrocytes articulaires. Un milieu enrichi en LS ostéoarthritique stimule l'incorporation de <sup>35</sup>SO<sub>4</sub> et de glycine tritiée et l'expression de l'ARNm pour l'agrecane et le collagène type II. On détecte également un facteur qui inhibe la production d'ARN. Selon les mêmes auteurs, le tissu synovial sécrète également des lipides, probablement l'acide arachidonique ou ses métabolites, qui contrecarrent la croissance d'un *pannus* synovial et amplifient la réparation par la stimulation de la synthèse matricielle dans un tissu endommagé. Selon Kurz et collaborateurs (1999), les synoviocytes articulaires libèrent spontanément des facteurs stimulant la croissance chondrocytaire et protègent les chondrocytes en induisant des mécanismes protecteurs vis-à-vis des ROS.

## CONCLUSIONS

Une difficulté fondamentale détectée lors de cette revue de littérature reste encore la distinction entre synoviocytes A et B. Une des causes de cette difficulté reste que les auteurs cités ont examiné des espèces différentes sans tenir compte d'une différence de constitution entre le lapin, le cheval ou l'homme. Il semble effectivement que la membrane synoviale des mammifères soit différente de celle des rongeurs. La distinction en synoviocytes A et B existe partout dans la littérature récente, mais l'origine de cette distinction reste obscure. Les cellules A sont positives pour certains marqueurs des macrophages ; chez la souris et le rat, elles ont vraisemblablement leur origine dans la moelle osseuse. Pourtant, en culture cellulaire, on retrouve une population hétérogène de synoviocytes qui semblent pouvoir exprimer différents phénotypes dont un qui partage des similitudes avec les macrophages. Il s'agit de cellules dendritiques – mais les cellules de ce type restent difficiles à isoler. Il existe même des indices suggérant que la population d'une articulation change pendant un processus inflammatoire, avec apparition d'un nombre élevé de synoviocytes A et de cellules dendritiques. Actuellement, il n'existe toujours pas d'étude par microscopie électronique des divers phénotypes de synoviocytes observés *in vitro*. La question reste donc posée de savoir si les auteurs parlent de la même souche cellulaire lorsqu'ils examinent les synoviocytes A. Il est possible que, dans une articulation, on trouve de vrais macrophages originaires de la moelle osseuse, mais en tenant compte des observations *in vivo* et *in vitro*, on doit plutôt considérer que les synoviocytes A et B et, probablement, les fibroblastes sous l'*intima* proviennent d'une même lignée cellulaire, avec une capacité des synoviocytes B à se transformer en synoviocytes A.

Il existe une certaine absence de cohérence dans les observations et la comparaison entre les résultats obtenus *in vitro* reste très difficile. Souvent les auteurs ont travaillé en co-culture avec des cellules de deux espèces différentes (par exemple, lapin et rat) ou sur une souche immortalisée qui n'a pas tout à fait les mêmes réactions que les cellules primaires. Une autre observation difficile à valider

concerne l'utilisation des différents modèles pour simuler un phénomène articulaire inflammatoire ; les cellules ne réagissent probablement pas de la même manière lors d'une arthrite septique que lors de l'OCD. Ce fait est largement reconnu par la comparaison entre l'arthrite rhumatoïde et l'OAD chez l'homme. Pourtant des lipopolysaccharides provenant des bactéries, donc correspondant plutôt à un modèle de culture d'arthrite septique, sont régulièrement utilisés dans les études sur l'OAD.

Cependant, à la suite de cette revue de la littérature, il devient évident que les mécanismes impliqués dans l'homéostasie d'une articulation sont très complexes et se compliquent encore lors d'événements pathologiques, par exemple dans l'OAD du cheval. Les interactions entre les chondrocytes articulaires et les synoviocytes sont

multiples et le rôle de ces derniers est négligé dans le développement des pathologies. Même si nous avons pu consulter pas mal d'articles pour réaliser cette revue de la littérature, le nombre des articles publiés sur les synoviocytes reste très faible comparé au nombre d'articles disponibles sur les chondrocytes. Il est souhaitable qu'une plus grande importance soit accordée aux synoviocytes.

## SUMMARY

### The role of synoviocytes in the inflamed diarthrodial joint.

The degenerative osteoarthritis is a common source of disease in the horse, causing pain and leading finally to the destruction of the cartilage in the diarthrodial joints. The synovial membrane is a constitutive element

of the joint, but often neglected due to its less obvious alterations, despite its crucial role. This review of literature considers the embryology, the histology of synoviocytes *in vivo* and *in vitro*, gives information about the production of inflammatory mediators, degrading enzymes, free oxygen radicals, about the composition of the synovial fluid and the interaction with chondrocytes. The number of studies on equine synoviocytes in osteoarthritis is very restricted, therefore we included studies in other species and other types of joint diseases to achieve a more complete image of the complex, interdependent and mutual acting mechanisms.

## BIBLIOGRAPHIE

- AHLQVIST J. A hypothesis on the pathogenesis of rheumatoid and other non-specific synovitis: IV A. The possible intermediate role of local hypoxia and metabolic alterations. *Med. Hypotheses*, 1984, **13**, 257-302.
- ALLEN R.E., BLAKE D.R., NAZHAT N.B., JONEX P. Superoxide radical generation by inflamed human synovium after hypoxia. *Lancet*, 1989, **29**, 282-283.
- ALWAN W.H., CARTER S.D., DIXON J.B., BENNETT D., MAY S.A., EDWARDS G.B. Interleukin-1-like activity in synovial fluids and sera of horses with arthritis. *Res. Vet. Sci.*, 1991, **51**, 72-77.
- ARMSTRONG S., LEES P. Effects of carprofen (R and S enantiomers and racemate) on the production of IL-1, IL-6 and TNF-alpha by equine chondrocytes and synoviocytes. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 2002, **25**, 145-153.
- AUER D.E. An hypothesis on the etio-pathogenesis of equine inflammatory joint disease. *Vet. Clin. Pathol.*, 1989, **18**, 21-26.
- AUER D.E., NG J.C., SEAWRIGHT A.A. Effect of palosein (superoxide dismutase) and catalase upon oxygen derived free radical induced degradation of equine synovial fluid. *Equine Vet. J.*, 1990, **22**, 13-17.
- AUER D.E., NG J.C., REILLY J.S., SEAWRIGHT A.A. Anti-inflammatory drugs inhibit degradation of equine synovial fluid induced by free radicals. *Aust. Vet. J.*, 1991, **68**, 403-405.
- AUER D.E., NG J.C., SEAWRIGHT A.A. Free radical oxidation products in plasma and synovial fluid of horses with synovial inflammation. *Aust. Vet. J.*, 1993, **70**, 49-52.
- BAKER M.S., FEIGAN J., LOWTHER D.A. Chondrocytes antioxidant defences: the roles of catalase and glutathione peroxidase in protection against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependent inhibition of proteoglycan biosynthesis. *J. Rheumatol.*, 1988, **15**, 670-677.
- BARRATT M.E., FELL H.B., COOMBS R.R., GLAUERT A.M. The pig synovium, II. Some properties of isolated intimal cells. *J. Anat.*, 1977, **123**, 47-66.
- BASSLEER A., LHOEST-GAUTHIER M.P., RENARD A.M., HEINEN E., GOESSENS G. Histological structure and function of synovium. Department of histology, Notes de cours. University of Liège: Liège, 1981, 15-22.
- BERNARDI P., PETRONELLI V., DI LISA F., FORTE M. Mitochondrial perspective on cell death. *Trends Biochem. Sci.*, 2001, **26**, 112-117.
- BERTONE A.L., PALMER J.L., JONES J. Synovial fluid cytokines and eicosanoids as markers of joint disease in horses. *Vet. Surg.*, 2001, **30**, 528-538.
- BONNET C., BERTIN P., COOK-MOREAU J., CHABLE-RABINOVITCH H., TREVES R., RIGAUD M. Lipoxygenase products and expression of 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase-activating protein in human cultured synovial cells. *Prostaglandins*, 1995, **50**, 127-135.
- BORDERIE D., HILLIQUIN P., HERNVANN A., LEMARECHAL H., MENKES C.J., EKINDJIAN O.G.

- Apoptosis induced by nitric oxide is associated with nuclear p53 protein expression in cultured osteoarthritic synoviocytes. *Osteoarthr. Cartil.*, 1999, **7**, 203-213.
- BORDERIE D., LEMARECHAL H., EKINDJIAN O.G., HERNVANN A. Nitric oxide modifies glycolytic pathways in cultured human synoviocytes. *Cell. Biol. Int.*, 2000, **24**, 285-289.
- BOWKER R.M., ABHOLD H.A., CARON J.P., SONEA I.M., VEX B, KOTYK R. Neuropeptidergic innervation of equine synovial joints. *Am. J. Vet. Res.*, 1993, **54**, 1831-1839.
- BREIT S., KÖNIG H.E. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur Synovialmembran an Hufgelenk und Bursa podotrochlearis beim Pferde. *Tierärztl. Prax.*, 1995, **23**, 273-279.
- BROWN M.P., WEST L.A., MERRITT K.A., PLAASA H.K. Changes in sulfation patterns of chondroitin sulfate in equine articular cartilage and synovial fluid in response to aging and osteoarthritis. *Am. J. Vet. Res.*, 1998, **59**, 786-790.
- CADORE J.L., DONABEDIAN M. Implications des cytokines dans la pathogénie des phénomènes articulaires chez le cheval. *Prat. Vet. Equine*, 1997, **29**, 31-39.
- CHOCKALINGAM P.S., ZENG W., MORRIS E.A., FLANNERY C.R. Release of hyaluronan and hyaladherins (aggrecan G1 domain and link proteins) from articular cartilage exposed to ADAMTS-4 (aggrecanase 1) or ADAMTS-5 (aggrecanase 2). *Arthritis Rheum.*, 2004, **50**, 2839-2848.
- CHU S.C., YANG S.F., LUE K.H., HSIEH Y.S., WU C.L., LU K.H. Regulation of gelatinases expression by cytokines, endotoxin, and pharmacological agents in the human osteoarthritic knee. *Connect. Tissue Res.*, 2004, **45**, 142-150.
- CLEGG P.D., CARTER S.D. Matrix metalloproteinase-2 and-9 are activated in joint diseases. *Equine Vet. J.*, 1999, **31**, 324-330.
- DE BARI C., DELL'ACCIO F., TYLZANOWSKI P., LUYTEN F.P. Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane. *Arthritis Rheum.*, 2001, **44**, 1928-1942.
- DEMASI M., CLELAND L.G., COOK-JOHNSON R.J., JAMES M.J. Effects of hypoxia on the expression and activity of cyclooxygenase 2 in fibroblast-like synoviocytes: interactions with monocyte-derived soluble mediators. *Arthritis Rheum.*, 2004, **50**, 2441-2449.
- DIMOCK A.N., SICILIANO P.D., MCILWRAITH C.W. Evidence supporting an increased presence of reactive oxygen species in the diseased equine joint. *Equine Vet. J.*, 2000, **32**, 439-443.
- DOBBIE J.W., HIND C., MEIJERS P., BODART C., TASIAUX N., PERRET J., ANDERSON J.D. Lamellar body secretion: ultrastructural analysis of an unexplored function of synoviocytes. *Br. J. Rheumatol.*, 1995, **34**, 13-23.
- EDWARDS J.C.W. The nature and origins of synovium: experimental approaches to the study of synoviocyte differentiation. *J. Anat.*, 1994, **184** (Pt 3), 493-501.
- EDWARDS J.C.W. Fibroblast biology. Development and differentiation of synovial fibroblasts in arthritis. *Arthritis Res.*, 2000, **2**, 344-347.
- FABRY G. Ultrastructural changes in synovium and cartilage in experimental hemarthrosis in dogs. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 1990, **109**, 21-29.
- FELL H.B., GLAUERT A.M., BARRATT M.E., GREEN R. The pig synovium. I. The intact synovium in vivo and in organ culture. *J. Anat.*, 1976, **122**, 663-680.
- FERNANDES J.C., MARTEL-PELLETIER J., PELLETIER J.P. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology*, 2002, **39**, 237-246.
- FREAN S.P., BRYANT C.E., FRÖLING I.L., ELLIOTT J., LEES P. Nitric oxide production by equine articular cells *in vitro*. *Equine Vet. J.*, 1997, **29**, 98-102.
- FREAN S.P., LEES P. Effects of polysulfated glycosaminoglycan and hyaluronan on prostaglandin E2 production by cultured equine synoviocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, **61**, 499-505.
- FULLER C.J., BARR A.R., SHARIF M., DIEPPE P.A. Cross-sectional comparison of synovial fluid biochemical markers in equine osteoarthritis and the correlation of these markers with articular cartilage damage. *Osteoarthr. Cartil.*, 2001, **1**, 49-55.
- GALLERON S., BORDERIE D., PONTEZIERE C., LEMARECHAL H., JAMBOU M., ROCH-ARVEILLER M., EKINDJIAN O.G., CALS M.J. Reactive oxygen species induce apoptosis of synoviocytes *in vitro*. Alpha-tocopherol provides no protection. *Cell Biol. Int.*, 1999, **23**, 637-642.
- GÄNGEL H., RAHN A. Zur Frage der diagnostischen Verwertbarkeit der Enzymaktivitäten in der Synovia bei Gelenkerkrankungen des Pferdes. *Mh. Vet.-Med.*, 1992, **47**, 17-24.
- GEORGESCU H.I., MENDELOW D., EVANS C.H. HIG-82: an established cell line from rabbit periarticular soft tissue, which retains the «activatable» phenotype. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 1988, **24**, 1015-1022.
- GIATROMANOLAKI A., SIVRIDIS E., ATHANASSOU N., ZOIS E., THORPE P.E., BREKKEN R.A., GATTER K.C., HARRIS A.L., KOUKOURAKIS I.M., KOUKOURAKIS M.I. The angiogenic pathway "vascular endothelial growth factor/flk-1(KDR)-receptor" in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J. Pathol.*, 2001, **194**, 101-108.
- GRIGOLO B., ROSETI L., FIORINI M., FACCHINI A. Enhanced lipid peroxidation in synoviocytes from patients with osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 2003, **30**, 345-347.
- GROOTVELD M., HENDERSON E.B., FARRELLA., BLAKED.R., PARKES H.G., HAYCOCK P. Oxidative damage to hyaluronate and glucose in synovial fluid during exercise of the inflamed rheumatoid joint. Detection of abnormal low-molecular-mass metabolites by proton-n.m.r. spectroscopy. *Biochem. J.*, 1991, **273** (Pt 2), 459-467.
- GUICHEUX J., PALMER G., RELIC B., MEZIN F., CAVERZASIO J., APOSTOLIDES P., GAUCHAT

- J.F., GABAY C., GUERNE P.A. Primary human articular chondrocytes, dedifferentiated chondrocytes, and synoviocytes exhibit differential responsiveness to interleukin-4: correlation with the expression pattern of the common receptor gamma chain. *J. Cell Physiol.*, 2002, **192**, 93-101.
- HENROTIN Y.E. Les enzymes et leur inhibiteurs : pathogénie de l'arthrose. In: Henrotin Y.E., Approche expérimentale de la pathogénie et du traitement de l'arthrose. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade d'Agrégé de l'Enseignement Supérieur. Faculté de Médecine : Université de Liège, 2003, 13-14.
- HERNVANN A., AUSSEL C., CYNOBER L., MOATTI N., EKINDJIAN O.G. IL-1 beta, a strong mediator for glucose uptake by rheumatoid and non-rheumatoid cultured human synoviocytes. *FEBS Lett.*, 1992, **303**, 77-80.
- HILLS B.A., CRAWFORD R.W. Normal and prosthetic synovial joints are lubricated by surface-active phospholipid: a hypothesis. *J. Arthroplasty*, 2003, **18**, 499-505.
- INOUE K., MASUKO-HONGO K., OKAMOTO M., NISHIOKA K. Induction of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-3 (stromelysin) by interleukin-1 in human articular chondrocytes and synoviocytes. *Rheumatol. Int.*, 2005, **26**, 93-98.
- ISHIGURO N., ITO T., ITO H., IWATA H., JUGESSUR H., IONESCU M., POOLE A.R. Relationship of matrix metalloproteinases and their inhibitors to cartilage proteoglycan and collagen turnover: analyses of synovial fluid from patients with osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 1999, **42**, 129-136.
- IWANAGA T., SHIKICHI M., KITAMURA H., YANASE H., NOZAWA-INOUE K. Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. *Arch. Histol. Cytol.*, 2000, **63**, 17-31.
- JACKSON J.R., MINTON J.A., HO M.L., WEI N., WINKLER J.D. Expression of vascular endothelial growth factor in synovial fibroblasts is induced by hypoxia and interleukin 1beta. *J. Rheumatol.*, 1997, **24**, 1253-1259.
- JAMES M.J., CLELAND L.G., ROFE A.M., LESLIE A.L. Intraarticular pressure and the relationship between synovial perfusion and metabolic demand. *J. Rheumatol.*, 1990, **17**, 521-527.
- JOUGLIN M., ROBERT C., VALETTE J.P., GAVARD F., QUINTIN-COLONN F., DENOIX J.M. Metalloproteinases and tumor necrosis factor-alpha activities in synovial fluids of horses: correlation with articular cartilage alterations. *Vet. Res.*, 2000, **31**, 507-515.
- JOVANOVIC D., PELLETIER J.P., ALAAEDDINE N., MINEAU F., GENG C., RANGER P., MARTEL-PELLETIER J. Effect of IL-13 on cytokines, cytokine receptors and inhibitors on human osteoarthritis synovium and synovial fibroblasts. *Osteoarthr. Cart.*, 1998, **6**, 40-49.
- JOVANOVIC D.V., MINEAU F., NOTOYA K., REBOUL P., MARTEL-PELLETIER J., PELLETIER J.P. Nitric oxide induced cell death in human osteoarthritic synoviocytes is mediated by tyrosine kinase activation and hydrogen peroxide and/or superoxide formation. *J. Rheumatol.*, 2002, **29**, 2165-2175.
- KARATAY S., KIZILTUNC A., YILDIRIM K., KARANFIL R.C., SENEL K. Effects of different hyaluronic acid products on synovial fluid levels of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in knee osteoarthritis. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2004, **34**, 330-335.
- KITAMURA H.P., YANASE H., KITAMURA H., IWANAGA T. Unique localization of protein gene product 9.5 in type B synoviocytes in the joints of horses. *J. Histochem. Cytochem.*, 1999, **47**, 343-351.
- KITAMURA H., OKUMURA M., SATO F., KIMOTO K., KOHAMA M., HASHIMOTO Y., TAGAMI M., IWANAGA T. Increased concentrations of protein gene product 9.5 in the synovial fluid from horses with osteoarthritis. *Jpn. J. Vet. Res.*, 2001, **49**, 115-123.
- KNORTH H., DORFMULLER P., LEBERT R., SCHMIDT W.E., WITTENBERG R.H., HEUKAMP M., WIESE M., WILLBURGER R.E. Participation of cyclooxygenase-1 in prostaglandin E2 release from synovitis tissue in primary osteoarthritis in vitro. *Osteoarthr. Cart.*, 2004, **12**, 658-666.
- KOBAYASHI K., MATSUZAKA S., YOSHIDA Y., MIYAUCHI S., WADA Y., MORIYA H. The effects of intraarticularly injected sodium hyaluronate on levels of intact aggrecan and nitric oxide in the joint fluid of patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthr. Cart.*, 2004, **12**, 536-542.
- KOLOMYTKIN O.V., MARINO A.A., WADDELL D.D., MATHIS J.M., WOLF R.E., SADASIVAN K.K., ALBRIGHT J.A. IL-1 beta-induced production of metalloproteinases by synovial cells depends on gap junction conductance. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2002, **282**, C1254-1260.
- KOPPENOL W.H. The Haber-Weiss cycle : 70 years later. *Redox Rep.*, 2001, **6**, 229-234.
- KRAUS V.B., HUEBNER J.L., FINK C., KING J.B., BROWN S., VAIL T.P., GUILAK F. Urea as a passive transport marker for arthritis biomarker studies. *Arthritis Rheum.*, 2002, **46**, 420-427.
- KURZ B., STEINHAGEN J., SCHÜNKE M. Articular chondrocytes and synoviocytes in a co-culture system : influence on reactive oxygen species-induced cytotoxicity and lipid peroxidation. *Cell Tissue Res.*, 1999, **296**, 555-563.
- LANDONI M.F., FOOT R., FREAN S., LEES P. Effects of flunixin, tolfenamic acid, R(-) and S(+) ketoprofen on the response of equine synoviocytes to lipopolysaccharide stimulation. *Equine Vet. J.*, 1996, **28**, 468-475.
- LAPADULA G., NICO B., CANTATORE F.P., LA CANNA R., RONCALI L., PIPITONE V.

- Early ultrastructural changes of articular cartilage and synovial membrane in experimental vitamin A-induced osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 1995, **22**, 1913-1921.
- LAUFER S. Role of eicosanoids in structural degradation in osteoarthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2003, **15**, 623-627.
- LEMBURG A.K. Histologische und immunohistologische Untersuchungen an der Synovialmembran von Hunden mit spontanem vorderen Kreuzbandabriss oder Polyarthritits. Dissertation, TiHo, Hannover 2001.[en ligne] (sans date) Adresse URL:[http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/lemburga\\_2001.pdf](http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/lemburga_2001.pdf). Consulté le 24 août 04.
- LIBERG P., MAGNUSSON L.-E., SCHOUGAARD H. Studies on the synovia in healthy horse with particular reference to the protein composition. *Equine Vet. J.*, 1977, **9**, 87-89.
- LIN C.W., PHILLIPS S.L., BRINCKERHOFF C.E., GEORGESCU H.I., BANDARA G., EVANS C.H. Induction of collagenase mRNA in lapine articular chondrocytes by synovial factors and interleukin-1. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1988, **264**, 351-354.
- LISIGNOLI G., GRASSI F., PIACENTINIA., COCCHINIB., REMIDDI G., BEVILACQUA C., FACCHINI A. Hyaluronan does not affect cytokine and chemokine expression in osteoarthritic chondrocytes and synoviocytes. *Osteoarthr. Cart.*, 2001, **9**, 161-168.
- LYNCH T.M., CARON J.P., ARNOZKY S.P., LLOYD J.W., STICK J.A., RENDER J.A. Influence of exogenous hyaluronan on synthesis of hyaluronan and collagenase by equine synoviocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 1998, **59**, 888-92.
- MARCOUILLER P., PELLETIER J.P., GUEVREMONT M., MARTEL-PELLETIER J., RANGER P., LAUFER S., REBOUL P. Leukotriene and prostaglandin synthesis pathways in osteoarthritic synovial membranes: regulating factors for interleukin 1beta synthesis. *J. Rheumatol.*, 2005, **32**, 704-712.
- MARINO A.A., WADDELL D.D., KOLOMYTKIN O.V., MEEK W.D., WOLF R., SADASIVAN K.K., ALBRIGHT J.A. Increased intercellular communication through gap junctions may contribute to progression of osteoarthritis. *Clin. Orthop.*, 2004, **422**, 224-232.
- MARTEL-PELLETIER J., MINEAU F., FAHMI H., LAUFER S., REBOUL P., BOILEAU C., LAVIGNE M., PELLETIER J.P. Regulation of the expression of 5-lipoxygenase-activating protein/5-lipoxygenase and the synthesis of leukotriene B(4) in osteoarthritic chondrocytes: role of transforming growth factor beta and eicosanoids. *Arthritis Rheum.*, 2004, **50**, 3925-3933.
- MAY S.A., HOOKE R.E., LEES P. Species restrictions demonstrated by the stimulation of equine cells with recombinant human interleukin-1. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1992a, **30**, 373-384.
- MAY S.A., HOOKE R.E., LEES P. Interleukin-1 stimulation of equine articular cells. *Res. Vet. Sci.*, 1992b, **52**, 342-348.
- MAY S.A., HOOKE R.E., LEES P. Inhibition of interleukin-1 activity by equine synovial fluid. *Equine Vet. J.*, 1992c, **24**, 99-102.
- MAY S.A., HOOKE R.E., LEES P. Equine chondrocyte activation by a variety of stimuli. *Br. Vet. J.*, 1992d, **148**, 389-397.
- MCILWRAITH C.W. Intra articular and systemic medication used in the treatment of equine traumatic joint disease. In: Geneva Congress of Equine Medicine and Surgery, Founex, 12<sup>th</sup> to 14<sup>th</sup> December 1999. Editions de Médecine et Hygiène: Chêne-Bourg 1999, 76-82.
- MOE S.M., BAILEY A.M. A coculture model of synoviocytes and bone for the evaluation of potential arthritis therapies. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 1999, **41**, 127-134.
- NAGAO M., ISHII S., KITAMURA K., AKINO T. Arachidonic acid metabolism in articular chondrocytes. *Clin. Orthop.*, 1991, **271**, 288-295.
- NAGASE H., KASHIWAGI M. Aggrecanases and cartilage matrix degradation. *Arthritis Res. Ther.*, 2003, **5**, 94-103.
- NEVO Z., SILVER J., CHOREV Y., RIKLIS I., ROBINSON D., YOSIPOVITCH Z. Adhesion characteristics of chondrocytes cultured separately and in co-cultures with synovial fibroblasts. *Cell Biol. Int.*, 1993, **17**, 255-273.
- NIO J., YOKOYAMA A., OKUMURA M., IWANAGA T. Three-dimensional ultrastructure of synoviocytes in the knee joint of rabbits and morphological changes in osteoarthritis model. *Arch. Histol. Cytol.*, 2002, **65**, 189-200.
- NIXON A.J., BROWER-TOLAND B.D., BENT S.J., SAXER R.A., WILKE M.J., ROBBINS P.D., EVANS C.H. Insulinlike growth factor-I gene therapy applications for cartilage repair. *Clin. Orthop.*, 2000, **379** Suppl., S201-213.
- O'CONNOR T.M., O'CONNELL J., O'BRIEN D.I., GOODE T., BREDIN C.P., SHANAHAN F.J. The role of substance P in inflammatory disease. *Cell. Physiol.*, 2004, **201**, 167-180.
- PANASYUK A., COLANTUONI G., KHATIB A.M., LOMRI A., MITROVIC D.R. Human synovium produces substances that inhibit DNA and stimulate proteoglycan and collagen synthesis by cultured human articular chondrocytes and synovial fibroblasts. *Scand. J. Rheumatol.*, 2003, **32**, 240-246.
- POLI A., COLEMAN P.J., MASON R.M., LEVICK J.R. Contribution of F-actin to barrier properties of the blood-joint pathway. *Microcirculation*, 2002, **9**, 419-430.
- PUNZIL., TODESCO S., TOFFANO G., CATENA R., BIGON E., BRUNI A. Phospholipids in inflammatory synovial effusions. *Rheumatol. Int.*, 1986, **6**, 7-11.
- REBOUL P., PELLETIER J.P., TARDIF G., CLOUTIER J.M., MARTEL-PELLETIER J. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. A role in osteoarthritis. *J. Clin. Invest.*, 1996, **97**, 2011-2019.

- RICHMAN A.I., SU E.Y., HO G. Jr. Reciprocal relationship of synovial fluid volume and oxygen tension. *Arthritis Rheum.*, 1981, **24**, 701-705.
- RITCHLIN C. Fibroblast biology. Effector signals released by the synovial fibroblast in arthritis. *Arthritis Res.*, 2000, **2**, 356-360.
- RONCHETTI P.I., GUERRA D., TAPARELLI F., BORALDI F., BERGAMIN G., MORI G., ZIZZI F., FRIZZIERO L. Morphological analysis of knee synovial membrane biopsies from a randomized controlled clinical study comparing the effects of sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate (Depomedrol) in osteoarthritis. *Rheumatology*, 2001, **40**, 158-169.
- SAKURAI H., KOHSAKA H., LIU M.F., HIGASHIYAMA H., HIRATA Y., KANNO K., SAITO I., MIYASAKA N. Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in inflammatory arthritides. *J. Clin. Invest.*, 1995, **96**, 2357-2363.
- SANDHU J.K., ROBERTSON S., BIRNBOIM H.C., GOLDSTEIN R. Distribution of protein nitrotyrosine in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 2003, **30**, 1173-1181.
- SAXNE T., PALLADINO M.A. Jr, HEINEGARD D., TALAL N., WOLLHEIM F.A. Detection of tumor necrosis factor alpha but not tumor necrosis factor beta in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis Rheum.*, 1988, **31**, 1041-1045.
- SCHÄFER D.B., WENDT D., MORETTI M., JAKOB M., JAY G.D., HEBERER M., MARTIN I. Lubricin reduces cartilage-cartilage integration. *Biorheology*, 2004, **41**, 503-508.
- SCHÄFFLER A., EHLING A., NEUMANN E., HERFARTH H., TARNER I., SCHOLMERICH J., GAY S., MÜLLER-LADNER U. Adipocytokines in synovial fluid. *JAMA*, 2003, **290**, 1709-1710.
- SCHNEIDER N., MOUITHYS-MICKALAD A.L., LEJEUNE J.P., DEBY-DUPONT G.P., HOEBELE M., SERTEYN D.A. Synoviocytes, not chondrocytes, release free radicals after cycles of anoxia/re-oxygenation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, **334**, 669-673.
- SCHWARZ I.M., HILLS B.A. Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin. *Br. J. Rheumatol.*, 1998, **37**, 21-26.
- SHIKICHI M., KITAMURA H.P., YANASE H., KONNO A., TAKAHASHI-IWANAGA H., IWANAGAT. Three-dimensional ultrastructure of synoviocytes in the horse joint as revealed by the scanning electron microscope. *Arch. Histol. Cytol.*, 1999, **62**, 219-229.
- SKIOLDEBRANDE., LORENZO P., ZUNINO L., RUCKLIDGE G.J., SANDGREN B., CARLSTEN J., EKMAN S. Concentration of collagen, aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in synovial fluid from equine middle carpal joints. *Equine Vet. J.*, 2001, **33**, 394-402.
- SMITH M.D., BARG E., WEEDON H., PAPENGELIS V., SMEETS T., TAK P.P., KRAAN M., COLEMAN M., AHERN M.J. Microarchitecture and protective mechanisms in synovial tissue from clinically and arthroscopically normal knee joints. *Ann. Rheum. Dis.*, 2003, **62**, 303-307.
- STARK D.D., BRADLEY W.G. Chapter 38 Knee Bony Injuries. In: Corra E. Magnetic Resonance Imaging. Mosby by Greenwood G. St. Louis, Missouri. 1999, 837-840.
- STEFANOVIC-RACIC M., STADLER J., GEORGESCU H.I., EVANS C.H. Nitric oxide synthesis and its regulation by rabbit synoviocytes. *J. Rheumatol.*, 1994, **21**, 1892-1898.
- SUNG K., MENDELOW D., GEORGESCU H.I., EVANS C.H. Characterisation of chondrocyte activation in response to cytokines synthesised by a synovial cell line. *Biochim. Biophys. Acta*, 1988, **971**, 148-156.
- TAGUCHI K., HIRANO T., IWASAKI K., SUGIHARA H. Reconstruction culture system simulating human synovium: a three-dimensional collagen gel culture of synoviocytes. *Cell Struct. Funct.*, 1997, **22**, 443-453.
- TANIMOTO K., OHNO S., FUJIMOTO K., HONDA K., IJUIN C., TANAKA N., DOI T., NAKAHARA M., TANNE K. Proinflammatory cytokines regulate the gene expression of hyaluronic acid synthetase in cultured rabbit synovial membrane cells. *Connect. Tissue Res.*, 2001, **42**, 187-195.
- TODHUNTER R.J., FUBINI S.L., FREEMAN K.P., LUST G. Concentrations of keratan sulfate in plasma and synovial fluid from clinically normal horses and horses with joint disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1997, **210**, 369-374.
- TOLBOOM T.C., PIETREMAN E., VAN DER LAAN W.H., TOES R.E., HUIDEKOPER A.L., NELISSEN R.G., BREEDVELD F.C., HUIZINGA T.W. Invasive properties of fibroblast-like synoviocytes: correlation with growth characteristics and expression of MMP-1, MMP-3, and MMP-10. *Ann. Rheum. Dis.*, 2002, **61**, 975-980.
- TOPPETS V., PASTORET V., DE BEHR V., ANTOINE N., DESSY C., GABRIEL A. Morphologie, croissance et remaniement du tissu osseux. *Ann. Méd. Vét.*, 2004, **148**, 1-13.
- TRUMBLE T.N., TROTTER G.W., OXFORD J.R., McILWRAITH C.W., CAMMARATA S., GOODNIGHT J.L., BILLINGHURST R.C., FRISBIE D.D. Synovial fluid gelatinase concentrations and matrix metalloproteinase and cytokine expression in naturally occurring joint disease in the horses. *Am. J. Vet. Res.*, 2001, **9**, 1467-1476.
- TUCCI M.A., TSAO A., HUGHES J., BAKER R., BENGHUZZI H. Release of inflammatory cytokines by macrophages and synovial cells challenged with tumor necrosis factor. *Biomed. Sci. Instrum.*, 2002, **38**, 89-94.
- TULAMO R.M., BRAMLAGE L.R., GABEL A.A. The influence of corticosteroids on sequential clinical and synovial fluid parameters in joints with acute

- infectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.*, 1989a, **21**, 332-337.
- TULAMO R.M., BRAMLAGE L.R., GABEL A.A. Sequential clinical and synovial fluid changes associated with acute infectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.*, 1989b, **21**, 325-331.
- VANDENABEELE F., DE BARI C., MOREELS M., LAMBRICHTS I., DELL'ACCIO F., LIPPENS P.L., LUYTEN F.P. Morphological and immunocytochemical characterization of cultured fibroblast-like cells derived from adult human synovial membrane. *Arch. Histol. Cytol.*, **66**, 2003, 145-153.
- VAN DEN BOOM R., BRAMA P.A., KIERS G.H., DE GROOT J., VAN WEEREN P.R. Assessment of the effects of age and joint disease on hydroxyproline and glycosaminoglycan concentrations in synovial fluid from the metacarpophalangeal joint of horses. *Am. J. Vet. Res.*, 2004, **65**, 296-302.
- VANKEMMELBEKE M.N., ILIC M.Z., HANDLEY C.J., KNIGHT C.G., BUTTLE D. Coincubation of bovine synovial or capsular tissue with cartilage generates a soluble « Aggrecanase » activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, **255**, 686-691.
- VERGNE B., BERTIN P., BANNET C., PAIRET M., UEU L.P., RIGAUD M. Differential inhibition of COX-1 and COX-2 by NSAIDs in cultured synovial cells. [en ligne] (sans date) Adresse URL: [www.cpm.es/rheumaclub/cox2/pos7.htm](http://www.cpm.es/rheumaclub/cox2/pos7.htm). Consulté le 30 mai 2002.
- VIITANEN M., BIRD J., MAISI P., SMITH R., TULAMO R.M., MAY S. Differences in the concentration of various synovial fluid constituents between the distal interphalangeal joint, the metacarpophalangeal joint and the navicular bursa in normal horses. *Res. Vet. Sci.*, 2000, **69**, 63-67.
- VON RECHENBERG B., McILWRAITH C.W., AKENS M.K., FRISBIE D.D., LEUTENEGGER C., AUER J.A. Spontaneous production of nitric oxide (NO), prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) and neutral metalloproteases (NMPs) in media of explant cultures of equine synovial membrane and articular cartilage from normal and osteoarthritic joints. *Equine Vet. J.*, 2000, **32**, 140-150.
- WITTENBERG R.H., WILLBURGER R.E., KLEEMEYER K.S., PESKAR B.A. In vitro release of prostaglandins and leukotrienes from synovial tissue, cartilage, and bone in degenerative joint diseases. *Arthritis Rheum.*, 1993, **36**, 1444-1450.
- YAO Q., WANG S., GLORIOSO J.C., EVANS C.H., ROBBINS P.D., GHIVIZZANI S.C., OLIGINO T.J. Gene transfer of p53 to arthritic joints stimulates synovial apoptosis and inhibits inflammation. *Mol. Ther.*, 2001, **3**, 901-910.
- ZHANG X., MAO Z., YU C.J. Suppression of early experimental osteoarthritis by gene transfer of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10. *Orthop. Res.* 2004, **22**, 742-750.
- ZIMMERING T. Radiological and arthroscopic examination in comparison with light microscopical diagnosis of synovia of clinical sound fetlock joints of horses. Dissertation, TiHo Hannover 2000. [en ligne] (sans date) Adresse URL : [http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/zimmert\\_2000.pdf](http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/zimmert_2000.pdf).