

# THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

## Résumé

---

- Orientation:** Médecine vétérinaire
- Titre de la thèse en français :** Pathogénie cellulaire et moléculaire du stress oxydatif dans l'ostéo-arthropathie dégénérative équine
- Titre de la thèse en anglais :** Cellular and molecular pathogenesis of oxidative stress in equine degenerative osteoarthropathy
- Candidat :** Nicole SCHNEIDER
- Promoteur :** Professeur Didier SERTEYN
- Département et Service :** Département des Sciences cliniques - clinique équine, Secteur de Chirurgie et d'Anesthésie, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique
- Date de la défense publique :** 29 mai 2007
- Composition du Jury :** F. Rollin (Président), D. Serteyn, G. Deby, Y. Henrotin, N. Crevier-Denoix, A. Gothot, N. Antoine, M. Balligand, A. Gabriel, V. Busoni, T. Art.

### DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

L'ostéo-arthropathie dégénérative affecte fréquemment les chevaux, et particulièrement le cheval de trait ardennais (Lejeune *et al.*, 2002). Les nombreuses recherches consacrées à cette pathologie montrent un phénomène inflammatoire et un déséquilibre entre la production des enzymes dégradant le cartilage et l'intensité du processus de régénération (Landoni *et al.*, 1996). On observe donc des dégâts à la surface du cartilage : fibrillation, érosion, ulcération, formation d'ostéophytes, sclérose de l'os sous-chondral et remodelage ostéochondral (Reboul *et al.*, 1996). Tous les éléments anatomiques sont concernés, avec une libération de médiateurs par les chondrocytes et les synoviocytes : cytokines, métalloprotéases, prostanoïdes (Cadore

et Donabedian, 1997), leucotriènes, et espèces activées de l'oxygène et de l'azote (RNOS : reactive nitrogen and oxygen species). La formation des RNOS est souvent invoquée en relation avec des phénomènes d'anoxie-réoxygénation cycliques, liés au trauma ou à la surcharge articulaire, à un épanchement ou à un œdème de la capsule articulaire. Les travaux consacrés à la production des RNOS dans l'articulation l'attribuent habituellement aux chondrocytes et des observations biochimiques récentes ont révélé une augmentation des concentrations sanguines d'un produit oxydé caractéristique de la dégradation du cartilage, signe d'un métabolisme oxydant intra-articulaire (Lejeune *et al.*, 2007).

Peu de travaux sont consacrés à l'étude directe d'une production d'espèces

radicales par les chondrocytes et les synoviocytes. L'objectif du travail était donc d'étudier la capacité des chondrocytes et des synoviocytes articulaires équins à produire des RNOS sous l'effet de l'anoxie-réoxygénation. Il nécessitait la mise au point d'un modèle de culture des chondrocytes équins (Sanchez *et al.*, 2002), d'un modèle de culture des synoviocytes équins (Georgescu *et al.*, 1988) et d'un modèle de co-culture chondrocytes-synoviocytes pour imiter les interactions entre ces deux types cellulaires dans l'articulation où les chondrocytes matures sont nourris par diffusion à partir du liquide synovial à basse tension en oxygène (Grimshaw et Mason, 2000).

Pour induire l'activité oxydante, nous avons soumis les cellules en culture à plusieurs cycles d'anoxie-réoxygé-

nation, sur base de l'hypothèse qu'un traumatisme aigu ou chronique peut modifier le débit sanguin dans la membrane synoviale et initier des cycles d'anoxie-réoxygénation (par œdème et hypoxie tissulaire transitoire), avec une production intra-articulaire de RNOS, capables de déclencher des dommages tissulaires participant au développement de la pathologie articulaire.

Pour tenir compte des conditions en oxygène existant dans l'articulation et du rôle du glucose ajouté au milieu de culture dans la résistance à l'anoxie, les chondrocytes ont été cultivés avec des concentrations variables en glucose (0, 1 et 4,5 g/l de milieu), combinées aux tensions d'oxygène de 1 % (hypoxie), 5 % (équivalent à la normoxie *in vivo*) et 21 % (condition hyperoxique prise comme référence par rapport à la littérature internationale).

L'étude du métabolisme oxydant est effectuée en mesurant la consommation d'oxygène [oxymétrie mesurant la réponse mitochondriale (Mouithys-Mickalad *et al.*, 2002)], la production globale de RNOS [estimée par la mesure de l'éthylène, produit par l'attaque d'un substrat par les RNOS (Deby-Dupont *et al.*, 2005)] et la production d'espèces radicalaires [par résonance paramagnétique électronique (RPE) couplée au « *spin trapping* »].

## RÉSULTATS

### Culture des chondrocytes

Les chondrocytes équins sont isolés à 21% d'O<sub>2</sub> par triple digestion enzymatique du cartilage, mis en billes d'alginate et cultivés à 1%, 5% ou 21% d'O<sub>2</sub> pendant 12 jours en milieu Dulbecco's Modified Eagle's Medium à 4,5g/L de glucose, avec antibiotiques, fongicide

et additifs nutritifs. A chaque changement de milieu (tous les 3 jours), un échantillon de culture a servi pour compter les cellules vivantes, apoptotiques et nécrotiques et l'étude morphologique en microscopie. Nous voulions réaliser une culture de longue durée avec maintien du phénotype cellulaire et délimiter la durée de résistance des chondrocytes à l'anoxie. Ces premières études cinétiques ont montré une bonne viabilité des cellules à 5% d'O<sub>2</sub>, une souffrance cellulaire (augmentation des cellules en apoptose) surtout en fin de culture à 21% d'O<sub>2</sub> et une survie à 1% d'O<sub>2</sub> soit une excellente résistance à l'anoxie, attribuée à la concentration élevée en glucose présente dans le milieu de culture. Une seconde série d'études cinétiques a été effectuée avec les mêmes paramètres d'oxygénation, mais en faisant varier les concentrations en glucose : 4,5 g/L (concentration de référence), 1 g/L (proche de la concentration physiologique normale) et 0 g/L (étude de la résistance à la fois à l'anoxie et à l'absence de substrat énergétique). Elle a montré que :

- 5 % d'O<sub>2</sub> représentent la meilleure condition de culture pour les chondrocytes, particulièrement en association avec 1 g/L de glucose,
- 4,5 g/l de glucose ont un effet défavorable sur la survie cellulaire à long terme dans toutes les conditions d'oxygénation,
- les chondrocytes sont capables de survivre aux conditions les plus drastiques : anoxie et absence de glucose.

L'étude morphologique en microscopie optique et électronique confirme les altérations cellulaires à 21 % d'O<sub>2</sub> et le bon état des chondrocytes équins à 5 % d'O<sub>2</sub> et à 1 g/L de glucose, conditions les plus proches des condi-

tions physiologiques. Elle montre également la présence de nombreuses vésicules lipidiques, substrat énergétique possible pour la survie des cellules aux conditions drastiques d'anoxie et d'absence de glucose.

### Culture des synoviocytes

Les synoviocytes équins sont isolés à partir de la membrane synoviale du grasset, par une digestion enzymatique (collagénase) de courte durée afin d'éviter une contamination par les fibroblastes de la subintima. Ils sont cultivés en monocouche à 37°C sous 21 % d'O<sub>2</sub> et 5 % de CO<sub>2</sub>, en milieu HAM's F12 enrichi par le sérum bovin fœtal et sous couverture antibiotique et fongicide. À côté de ce modèle classique, ils ont aussi été cultivés sous 10 % d'O<sub>2</sub> comme condition proche des conditions *in vivo* et sous 5% d'O<sub>2</sub> pour tester leur résistance à l'anoxie. Nous avons observé que les synoviocytes équins :

- sont plus susceptibles à la contamination bactérienne que les chondrocytes et doivent être isolés à partir d'une membrane synoviale prélevée un délai court après la mort de l'animal.
- se maintiennent en vie à 21 % d'O<sub>2</sub> avec une croissance très lente, meurent presque tous après 4 à 5 jours à 5 % d'O<sub>2</sub>, mais se multiplient à 10 % d'O<sub>2</sub> et peuvent être maintenus en culture durant plusieurs mois.
- forment des tapis de cellules confluentes et alignées, mais aussi des structures à trois dimensions, contenant des cellules oligodendritiques, typiques des synoviocytes.

En cours de culture, des cellules petites et arrondies se détachent à partir du tapis cellulaire, même non à confluence. Elles sont vivantes, restent

flottantes en culture pendant plusieurs semaines, puis s'attachent et deviennent des cellules « *fibroblast-like* ». Il pourrait s'agir de synoviocytes A, de type macrophagique.

La culture a été caractérisée par la mise en évidence de la protéine produit du gène 9,5 par immunocytochimie. Certains synoviocytes, attachés ou flottants, possèdent la capacité de phagocytose.

### **Co-culture des synoviocytes et chondrocytes équins**

En tenant compte des meilleures conditions de culture pour chaque type cellulaire, nous avons établi un modèle de co-culture en milieu mixte DMEM/Ham's F-12 (1 : 1) à 10% d'O<sub>2</sub>, où les synoviocytes adhèrent dans les puits d'une boîte de culture tandis que les chondrocytes sont inclus en billes d'alginate dans des inserts plongés dans les puits de culture. Avant la co-culture, les synoviocytes sont répartis en puits et les chondrocytes en billes d'alginate sont pré-cultivés isolément pendant 48 heures sous 10 % d'O<sub>2</sub>.

### **Métabolisme oxydant des chondrocytes et des synoviocytes sous l'effet de l'anoxie-réoxygénation**

Les cellules sont soumises à trois cycles d'anoxie (30 minutes) suivie de réoxygénation avec mesure continue de la consommation d'O<sub>2</sub>. Après la troisième réoxygénation, l'échantillon cellulaire est transféré dans une cellule de RPE pour la mesure des espèces radicalaires.

La consommation d'O<sub>2</sub> des chondrocytes est très faible et estimée à 20,5 pmol d'O<sub>2</sub>/min/10<sup>6</sup>chondrocytes, soit 26 fois moindre que celle d'une lignée cellulaire continue comme les promonocytes THP1. Elle est peu modifiée par trois cycles d'anoxie/réoxygénation sauf lorsque les chon-

drocytes ont été cultivés à 21 % d'O<sub>2</sub> avant les essais (augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub>). En RPE, aucune espèce radicalaire n'a pu être mise en évidence. Ces résultats confirment la résistance à l'anoxie grâce à un métabolisme anaérobie.

Les synoviocytes présentent une activité oxydante de base (sans stimulation préalable), variable d'un lot de cellules à l'autre, qui augmente (de manière dose-dépendante) sous l'effet d'une stimulation au phorbol myristate acétate et peut être attribuée à une activité enzymatique de type NADPH oxydase (NOX).

La consommation d'O<sub>2</sub> par les synoviocytes est importante ( $\pm$  1 nanomole d'O<sub>2</sub>/min/10<sup>6</sup>cellules) et chaque cycle d'anoxie-réoxygénation ralentit cette consommation, avec apparition de dommages mitochondriaux. A la fin du troisième cycle d'anoxie-réoxygénation, la RPE montre une production d'espèces radicalaires identifiées comme dérivées de l'anion superoxyde au niveau mitochondrial ou de peroxydes lipidiques.

Les synoviocytes sont donc plus aptes que les chondrocytes à réagir à l'anoxie-réoxygénation par une réponse oxydante.

### **Interaction entre synoviocytes et chondrocytes équins en co-culture**

Les effets de la co-culture se traduisent sur la production de PGE<sub>2</sub>, un médiateur capable d'influencer les chondrocytes. Elle est doublée et due principalement aux synoviocytes.

On peut ainsi suggérer que l'anoxie-réoxygénation a un effet de « priming » sur les synoviocytes ou qu'ils subissent l'effet de médiateurs libérés par les chondrocytes.

## **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES**

Notre travail s'inscrivait dans la ligne des données de la littérature scientifique internationale, apporter des informations nouvelles sur le rôle du métabolisme oxydant au niveau articulaire, en étudiant spécifiquement les deux types cellulaires principaux de l'articulation, les chondrocytes et les synoviocytes, et en utilisant un modèle d'agression apte à induire une activité oxydante au niveau cellulaire. Notre choix s'est porté sur un modèle d'anoxie-réoxygénation qui est de plus en plus impliquée dans la production de RNOS, qui s'accompagne d'une réaction inflammatoire (Roy et Mac Cord, 1982 ; Saris et Eriksson, 1995 ; Andreyev *et al.*, 2005) et parce que son rôle est invoqué dans les pathologies articulaires (Allen *et al.*, 1989).

En premier lieu, il fallait développer des modèles de cultures primaires des cellules articulaires équines, chondrocytes et synoviocytes, et établir les meilleures conditions expérimentales d'anoxie-réoxygénation.

De la mise au point du modèle de culture des chondrocytes, nous avons retenu trois observations importantes, la résistance des chondrocytes à l'anoxie pendant plus de dix jours de culture (en accord avec des travaux antérieurs), leur sensibilité à 21 % d'O<sub>2</sub>, condition reconnue comme hyperoxique par rapport aux conditions *in vivo*, et leur résistance à l'absence d'oxygène et de glucose. La résistance des chondrocytes à l'anoxie rend difficile l'établissement d'un modèle d'anoxie-réoxygénation sur ces cellules en culture. Elle s'explique par les conditions « naturelles » existant dans le cartilage où la tension en O<sub>2</sub> se situe vers 7 % (Grimshaw

et Mason, 2000) et où la production des substrats énergétiques nécessaires aux cellules suppose un métabolisme anaérobie (voie de la glycolyse). La résistance des chondrocytes équins aux conditions extrêmes de privation quasi totale d'O<sub>2</sub> et de glucose peut être attribuée à un métabolisme basé sur l'utilisation de substrats lipidiques. Des analyses préliminaires (coloration positive à l'Oil Red-O, mesure des lipides intracellulaires) ont effectivement permis d'identifier des réserves lipidiques importantes dans les chondrocytes équins et il serait intéressant de poursuivre les recherches dans ce sens. Nos travaux devraient aussi être poursuivis par l'étude des effets de la variation de la concentration en glucose et de la tension en O<sub>2</sub> sur les proportions de cellules vivantes, nécrotiques et apoptotiques.

Cette résistance des chondrocytes posait la question de leur rôle initiateur potentiel dans le développement des pathologies articulaires liées à l'anoxie-réoxygénation et incitait à mettre au point un modèle de culture des synoviocytes équins, second type de cellules articulaires qui peuvent intervenir dans le développement de l'OAD.

Les synoviocytes équins se multiplient régulièrement à 10 % d'O<sub>2</sub> (condition d'oxygénation proche des conditions physiologiques) et peuvent être maintenus en culture longtemps. À 21 % d'O<sub>2</sub>, ils survivent, mais se multiplient lentement. Ils ne résistent pas à une période de 24 à 48 h d'anoxie. Les conditions *in vivo* expliquent la sensibilité des synoviocytes à l'anoxie : ces cellules sont en contact avec la circulation sanguine d'une part et avec le liquide synovial d'autre part. Elles reçoivent un apport limité en O<sub>2</sub> via le

liquide synovial, mais sont oxygénées par le flux sanguin.

Après les modèles de culture, nous avons abordé l'étude du métabolisme oxydant des chondrocytes et synoviocytes équins sous l'effet de cycles d'anoxie-réoxygénation, en envisageant la réponse mitochondriale (estimée par la mesure de la consommation d'O<sub>2</sub>), la production globale de RNOS (estimée par la mesure de l'éthylène, produit de l'oxydation d'un substrat par les RNOS) et la production d'espèces radicalaires (mesurée en RPE). Nous n'avons pu mettre en évidence ni une production de RNOS ni une production d'espèces radicalaires par les chondrocytes soumis aux cycles d'anoxie-réoxygénation. Il nous est impossible de comparer nos résultats aux données publiées antérieurement puisqu'il n'existe aucune étude comparable à celle que nous avons menée avec des techniques originales. Nos résultats négatifs ne sont pourtant pas inattendus si l'on considère la remarquable résistance des chondrocytes lorsqu'ils sont cultivés en anoxie et leur très faible utilisation d'O<sub>2</sub> en toutes conditions d'oxygénation.

À l'opposé des chondrocytes, les synoviocytes équins consomment rapidement l'O<sub>2</sub> dissous dans le milieu, sont capables de produire des RNOS en l'absence de stimulation et peuvent augmenter cette production sous l'effet d'une stimulation par des agents endogènes (cytokines) ou exogènes (comme l'acétate de phorbol myristate). L'utilisation d'inhibiteurs choisis a permis de relier cette production de RNOS à l'activité d'enzymes à flavine comme NOX ou NOS.

L'oxymétrie a démontré que cette consommation d'oxygène par les synoviocytes est ralentie par les cycles

d'anoxie-réoxygénation, avec apparition d'altérations mitochondriales. Nous pouvions donc supposer que les synoviocytes étaient capables de produire des espèces radicalaires sous l'effet des cycles d'A/R, ce qui fut confirmé par les études en RPE couplée au spin trapping : elles ont montré la formation d'adduits de spin que, par comparaison avec des études antérieures, nous avons identifiés comme caractéristiques d'espèces radicalaires dérivées de l'anion superoxyde et d'une peroxydation lipidique. Quelles que soient l'origine et l'intensité des espèces radicalaires observées, leur formation indique que les synoviocytes équins, à la différence des chondrocytes, sont des cellules qui peuvent être stimulées par l'A/R et jouer un rôle important dans le développement des pathologies de l'articulation, peut-être celui de stimulateurs des chondrocytes. Il était donc intéressant de développer un modèle de culture permettant l'étude des interactions synoviocytes/chondrocytes. Les études d'interactions entre synoviocytes et chondrocytes ne sont pas nombreuses (Lin *et al.*, 1988 ; Sung *et al.*, 1988) et un modèle de co-culture des chondrocytes et des synoviocytes équins en lignée primaire n'avait jamais été tenté. La co-culture, faite à 10 % d'oxygène, n'a pas été menée au-delà de deux jours pour éviter la multiplication des synoviocytes. Nous avons aussi observé que, lorsque les synoviocytes sont soumis à une période d'anoxie avant la co-culture, ils paraissent subir un effet de « *priming* » et des variations importantes apparaissent dans la production de certains médiateurs inflammatoires comme la PGE<sub>2</sub>. Ces curieuses observations restent inexplicables et demandent des recherches supplémentaires, et surtout la répétition du nombre des essais.

En conditions normales, les synoviocytes produisent des facteurs qui activent la synthèse des collagénase, gélatinase et caséinase par les chondrocytes. Ils produisent aussi des médiateurs comme la PGE<sub>2</sub> et l'IL-1 qui ont des effets importants sur le cartilage. Ils libèrent des facteurs induisant des mécanismes protecteurs des chondrocytes vis-à-vis des ROS (Kurz *et al.*, 1999). Mais, lorsque les synoviocytes sont « perturbés » par l'A/R, la stimulation de leur métabolisme oxydant et leur capacité à produire des radicaux libres pourraient annuler leurs effets protecteurs.

Les résultats (tout à fait préliminaires) obtenus en co-culture sont stimulants, mais il ne faut pas perdre de vue que le modèle de co-culture créé pour étudier des interactions cellulaires réciproques ne reflète pas la réalité *in vivo* où les chondrocytes sont séparés des synoviocytes par le liquide synovial. L'absence de synovie pourrait

expliquer la perte cellulaire. Il faudra améliorer le modèle de co-culture en mettant au point un milieu de co-culture qui « imite » au mieux le liquide synovial.

Une grande partie des résultats présentés dans l'ensemble de ce travail ne peut pas être comparée aux données de la littérature scientifique internationale parce que les études sur cellules articulaires équine sont rares et menées sur des modèles différents des nôtres.

Il reste aussi beaucoup à faire pour localiser la production d'espèces radicalaires dans les synoviocytes, pour préciser leur cinétique de formation et leur origine : altérations mitochondriales ou activation d'enzymes oxydantes comme la NOX et la xanthine oxydase. Il faudra utiliser des inhibiteurs enzymatiques spécifiques ou travailler sur mitochondries isolées. Des études complémentaires seront nécessaires pour déterminer les effets

de l'anoxie-réoxygénation au niveau moléculaire et sur l'expression et l'activité des enzymes oxydantes (expression des NOX et NOS) et des facteurs inflammatoires (expression des cytokines, expression des COX). Ce type d'étude reste encore difficile faute d'accès aisé aux réactifs spécifiques à l'espèce équine. Les études des effets de l'anoxie-réoxygénation en co-culture doivent être complétées par des travaux de mise en évidence d'une activité oxydante.

En conclusion générale à ce travail sur les capacités oxydantes comparées des chondrocytes et des synoviocytes articulaires équins, on peut penser que les synoviocytes sont plus sensibles que les chondrocytes à réagir à l'anoxie-réoxygénation par une réponse oxydante et une libération de médiateurs inflammatoires qui pourraient jouer un rôle majeur dans l'OAD.

## REFERENCES

- ALLEN R.E., BLAKE D.R., NAZHAT N.B., JONES P. Superoxide radical generation by inflamed human synovium after hypoxia. *Lancet*, 1989, **29**, 282-283.
- ANDREYEV A.Y., KUSHNAREVA Y.E., STARKOV A.A. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Moscow)*, 2005, **70**, 200-214.
- CADORE J.L., DONABEDIAN M. Implications des cytokines dans la pathogénie des phénomènes articulaires chez le cheval. *Prat. Vet. Equine*, 1997, **29**, 31-39.
- DEBY-DUPONT G., MOUITHYS-MICKALAD A., SERTEYN D., LAMY M., DEBY C. Resveratrol and curcumin reduce the respiratory burst of Chlamydia-primed THP-1 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, **333**, 21-27.
- GEORGESCU H.I., MENDELOW D., EVANS C.H. HIG-82: an established cell line from rabbit periarthritic soft tissue, which retains the "activatable" phenotype. *In Vitro Cell Dev. Biol.*, 1988, **24**, 1015-1022.
- GRIMSHAW M.J., MASON R.M. Bovine articular chondrocyte function *in vitro* depends upon oxygen tension. *Osteoarthr. Cartil.*, 2000, **8**, 386-392.
- 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**, 555-63.
- 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.
- LEJEUNE J.P., SCHNEIDER N., DUVIVIER D.H., MICHAUX C., LEROY P., CAUDRON I., SERTEYN D. Arthropathie interphalangienne dégénérative juvénile chez le cheval ardennais : protocole d'évaluation morphométrique

- (Partie I). *Ann. Med. Vet.*, 2002, **146**, 113 – 120.
- LEJEUNE J.P., SERTEYN D., GANGL M., SCHNEIDER N., DEBY-DUPONT G., DEBERG M., HENROTIN Y. Plasma concentration of a type II-collagen derived peptide and its nitrated form in growing Ardenner sound horses and in horses suffering from juvenile digital degenerative osteoarthropathy. *Vet. Res. Commun.*, 2007, **31**, 591-601.
- 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.
- MOUITHYS-MICKALAD A., MATHY-HARTERT M., DU G., SLUSE F., DEBY C., LAMY M., DEBY-DUPONT G. Oxygen consumption and electron spin resonance studies of free radical production by alveolar cells exposed to anoxia: inhibiting effects of the antibiotic ceftazidime. *Redox Report*, 2002, **7**, 85-94.
- 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.
- ROY R.S., MCCORD J.M. Ischemia-induced conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Fed. Proceed.*, 1982, **41**, 767-772.
- SANCHEZ C., MATEUS M.M., DEFRESNE M.P., CRIELAARD J.M., REGINSTER J.Y., HENROTIN Y.E. Metabolism of human articular chondrocytes cultured in alginate beads. Longterm effects of interleukin 1beta and non-steroidal antiinflammatory drugs. *J. Rheumatol.*, 2002, **29**, 772-782.
- SARIS N.E.L., ERIKSSON K.O. Mitochondrial dysfunction in ischaemia-reperfusion. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 1995, **39**, 171-176.
- 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.
- SERTEYN D. Viability of equine articular chondrocytes in alginate beads exposed to different oxygen tensions. *Vet. J.*, 2004, **168**, 167-173.
- SCHNEIDER N., MOUITHYS-MICKALAD A.L., LEJEUNE J.P., DEBY-DUPONT G.P., HOEBEKE M., SERTEYN D.A. Synoviocytes, not chondrocytes, release free radicals after cycles of anoxia/re-oxygenation. *Biochem Biophys Res Commun.*, 2005, **334**, 669-673.
- SCHNEIDER N., HEIMANN M., LEJEUNE J.P., VERWILGHEN D.R., DEBY-DUPONT G.P., SERTEYN D.A. Histology of two rice bodies isolated from the stifle of an adult draught horse stallion. *J. Vet. Sci.*, 2006, **7**, 83-85.
- SCHNEIDER N., MOUITHYS-MICKALAD A., LEJEUNE J.P., DUYCKAERTS C., SLUSE F., DEBY-DUPONT G., SERTEYN D. Oxygen consumption of equine articular chondrocytes: influence of applied oxygen tension and glucose concentration during culture. *Cell Biol. Int.*, 2007, **31**, 878-886.
- SCHNEIDER N., LEJEUNE J.P., DEBY-DUPONT G., SERTEYN D. Le rôle des synoviocytes dans l'articulation diarthrodiale enflammée. Revue de littérature. *Ann. Med. Vet.*, 2007, **151**, 24-43.

#### **PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE**

- SCHNEIDER N., LEJEUNE J.P., DEBY C., DEBY-DUPONT G.P.,

#### **REMERCIEMENTS**

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'un projet mené par « Le Centre Européen du Cheval de Mont le Soie ».