

Université de Montréal

**Étude de la microarchitecture trabéculaire du sillon  
parasagittal et du condyle du métacarpe distal chez le  
cheval de course, à la naissance et chez l'adulte.**

par Nicolas ANNE-ARCHARD

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires option sciences cliniques

Août 2016

© Nicolas ANNE-ARCHARD, 2016

# Résumé

**Points justifiant l'étude :** L'étiologie des fractures condyliques (CF) n'est pas encore complètement déterminée à l'heure actuelle. Une composante développementale dans la maladie est suspectée.

**Objectifs :** Étudier la microarchitecture du site prédisposé aux fractures du MCIII et la comparer à celle d'un site contrôle chez le poulain nouveau-né ainsi qu'étudier l'effet de l'âge et de l'activité athlétique sur cette microarchitecture.

**Type d'étude :** Étude transversale.

**Méthodes :** La portion distale du MCIII de poulains nouveau-nés ainsi que de chevaux d'âge variable ( $n = 24$ ) a été sectionnée afin d'obtenir deux échantillons (coupes frontales latéro-dorsale et latéro-palmaire) chacun d'eux contenant le site prédisposé (sillon parasagittal) et le site contrôle (condyle). Chaque échantillon a ensuite été traité pour histomorphométrie et l'étude de l'orientation des trabécules.

**Résultats :** L'os trabéculaire des nouveau-nés dans le sillon parasagittal formait un réseau moins connecté ( $p=0.001$ ) et montrait une quantité d'os compact inférieure ( $p = 0.0004$ ) à celle de la portion latérale du condyle, traduisant la présence d'une fragilité théorique de l'os dans la zone prédisposée. Les différences observées chez les nouveau-nés persistent, pour certaines d'entre elles, avec l'âge et l'activité athlétique. Les principaux changements observés chez les individus plus âgés et entraînés montrent une augmentation de la quantité d'os compact et de la connectivité trabéculaire, l'évolution est rapide chez les jeunes et ralentie ensuite. L'orientation trabéculaire change drastiquement avec l'âge et l'entraînement pour s'aligner avec le plan sagittal sauf en région parasagittale palmaire où les changements sont plus subtils.

**Conclusion :** A la naissance, les poulains présentent des différences de microarchitecture entre le site prédisposé aux CF et le site contrôle. L'adaptation trabéculaire à l'âge et à l'exercice a été confirmée. L'orientation trabéculaire change également, sauf au site d'initiation des CF qui conserve une orientation proche de celle des nouveau-nés.

**Mots-clés :** Equin, Fracture condyliques, Boulet, Os trabéculaire, Histomorphométrie, Exercice, Développement

# *Abstract*

**Reasons for performing study:** The aetiology of condylar fractures (CF) is not completely understood and a developmental cause has been previously suggested.

**Objectives:** To investigate the bone microarchitecture of the metacarpal fracture-prone site, to compare it to a control site in neonates and to investigate changes associated with maturation and athletic activity.

**Study design:** Cross-sectional study.

**Methods:** Distal metacarpi of neonates, yearlings and adult racehorses ( $n = 24$ ) were sectioned to obtain 2 frontal subchondral slabs (latero-dorsal and latero-palmar) each one containing a prone site (parasagittal groove) and a control site (condyle). Each slab-section was processed for quantitative trabecular histomorphometry and trabecular orientation assessment.

**Results:** The trabecular bone in the parasagittal groove (prone site) of neonates consisted in a looser network ( $p = 0.001$ ) and had a lower bone fraction ( $p = 0.0004$ ) resulting in a theoretically weaker bone architecture when compared to the condyle. The differences observed in neonates between the 2 regions remained over time especially for parameters assessing bone quantity despite being significant only sporadically. Main changes over time include first a rapid increase in bone fraction and connectivity, which slowed down in the older group. Trabecular orientation changed drastically over time to become mainly aligned with the sagittal plane, except in the palmar parasagittal groove area where changes were subtler.

**Conclusions:** At birth there are evident differences in neonatal foal subchondral bone microarchitecture between the CF predilected site and a control site. Trabecular bone adaptation is confirmed with maturity and athletic activity. The trabecular orientation showed drastic changes but not in the CF initiating area, which retained an immature-like orientation pattern.

**Keywords:** Equine, Condylar Fracture, Fetlock, Trabecular Bone, Histomorphometry, Exercise, Development.

# *Table des matières*

<b>RESUME.....</b>	<b>II</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>III</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....</b>	<b>IX</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>REVUE DE LITTERATURE.....</b>	<b>5</b>
<b>1 DESCRIPTION D'UNE ARTICULATION SYNOVIALE PHYSIOLOGIQUE.....</b>	<b>6</b>
1.1 ORGANISATION GENERALE D'UNE ARTICULATION ADULTE.....	7
1.2 CARTILAGE ARTICULAIRE ADULTE.....	8
1.2.1 STRUCTURE MACROSCOPIQUE.....	8
1.2.2 STRUCTURE MICROSCOPIQUE.....	8
1.3 L'os.....	11
1.3.1 L'OS SOUS-CHONDRAL.....	12
<b>2 DEVELOPPEMENT DES OS LONGS ET DE LEURS SURFACES ARTICULAIRES .</b>	<b>14</b>
2.1 ÉLABORATION DE LA MATRICE CARTILAGINEUSE, MODELE DE L'OS DEFINITIF ET INDIVIDUALISATION DES OS.....	14
2.2 FORMATION DU CENTRE D'OSSIFICATION PRIMAIRE.....	14



<b>2.3</b>	<b>VASCULARISATION EPIPHYSAIRE ET FORMATION DU CENTRE D’OSSIFICATION SECONDAIRE .</b>	<b>14</b>
	.....	
<b>2.4</b>	<b>FORMATION DU CENTRE D’OSSIFICATION SECONDAIRE ET DEVELOPPEMENT EPIPHYSAIRE ...</b>	<b>15</b>
	.....	
<b>2.5</b>	<b>OSSIFICATION ENDOCHONDRALE .....</b>	<b>17</b>
2.5.1	STRATIFICATION HISTOLOGIQUE ET FONCTIONNELLE DU CARTILAGE DE CROISSANCE .....	17
2.5.2	REGULATION DE L’OSSIFICATION ENDOCHONDRALE .....	18
<b>2.6</b>	<b>MATURATION DU CARTILAGE ARTICULAIRE .....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>CROISSANCE EN LONGUEUR DE L’OS ET FIN DU DEVELOPPEMENT OSSEUX.....</b>	<b>20</b>
<b>2.8</b>	<b>CONSEQUENCES DE LA BIOMECANIQUE SUR LE DEVELOPPEMENT ARTICULAIRE.....</b>	<b>21</b>
<b>2.9</b>	<b>SPECIFICITES DE L’ARTICULATION METACARPO-PHALANGIENNE.....</b>	<b>22</b>
2.9.1	RAPPELS ANATOMIQUES.....	22
2.9.2	BIOMECANIQUE DU BOULET .....	22
<b>3</b>	<b><u>AFFECTIONS ARTICULAIRES DU BOULET CHEZ LE CHEVAL ATHLETE.....</u></b>	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>OSTEOCHONDROSE.....</b>	<b>24</b>
3.1.1	DEFINITION .....	24
3.1.2	PRESENTATION CLINIQUE ET DIAGNOSTIC .....	25
3.1.3	PHYSIOPATHOLOGIE.....	25
3.1.4	HEREDITE .....	26
3.1.5	SITES PREDISPOSES .....	26
3.1.6	DIAGNOSTIC.....	27
3.1.7	TRAITEMENT.....	27
<b>3.2</b>	<b>MALADIE OSTEOCHONDRALE PALMAIRE DU BOULET.....</b>	<b>28</b>
3.2.1	PHYSIOPATHOLOGIE ET CARACTERISTIQUES LESIONNELLES.....	29
3.2.1	DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT .....	31
<b>3.3</b>	<b>FRACTURES CONDYLAIRES.....</b>	<b>33</b>

3.3.1	ÉPIDEMIOLOGIE .....	33
3.3.2	PHYSIOPATHOLOGIE.....	33
3.3.3	DIAGNOSTIC.....	37
3.3.4	TRAITEMENT.....	38
<b>4</b>	<b><u>METHODES HISTOLOGIQUES EMPLOYEES DANS NOTRE INVESTIGATION ...</u></b>	<b>41</b>
4.1	FIXATION .....	41
4.2	COLORATION SAFRANIN O FAST GREEN .....	41
	<b><u>ARTICLE.....</u></b>	<b>44</b>
	<b><u>DISCUSSION .....</u></b>	<b>72</b>
	<b><u>CONCLUSION.....</u></b>	<b>78</b>
	<b><u>BIBLIOGRAPHIE .....</u></b>	<b>80</b>

# *Liste des tableaux*

Tableau 1 : Classification radiographique des lésions d'OC du boulet, d'après McIlwraith et al. (2005) ..... 27

# *Liste des figures*

Figure 1 : Localisation préférentielle des fractures condyliques du cheval : sillon parasagittal latéral .....	2
Figure 2 : Schéma d'une articulation synoviale.....	7
Figure 3 : Régulation de l'homéostasie du cartilage articulaire .....	9
Figure 4 : Structure de la fibre de CII, polymère de triples hélices (apport personnel) .....	10
Figure 5 : Structure microscopique du cartilage articulaire.....	11
Figure 6 : Structure tridimensionnelle (microscopie électronique) de la surface du cartilage calcifié.....	13
Figure 7 : Structure tridimensionnelle (microscopie électronique) de l'os trabéculaire, d'après Liu et al. (2011).....	13
Figure 8 : Vascularisation épiphysaire du MTIII du poulain de 2 semaines, Olstad et al. (2009) .....	15
Figure 9 : Différentes étapes du développement épiphysaire, adapté d'après Rivas et Shapiro (2002).....	16
Figure 10 : Ossification endochondrale, description histologique et fonctionnelle .....	18
Figure 11 : Schéma de la régulation multifactorielle simplifiée de l'ossification endochondrale.....	19
Figure 12: Cartilage articulaire stratifié d'un poulain nouveau-né .....	20
Figure 13: Schéma récapitulatif du développement et de la croissance des os longs (apport personnel) .....	21
Figure 14 : Anatomie de la région métacarpo-phalangienne du cheval.....	22
Figure 15 : Hyperextension du boulet et forces associées, adapté d'après Brama et al. (2009) .....	23
Figure 16 : « Photo-finish » d'une course de galop, d'après Bertone (2014).....	23
Figure 17 : OC de la crête latérale de la trochlée fémorale d'un poulain de 5 mois (flèche), d'après Laverty et Girard (2013) .....	24
Figure 18 : Biomécanique du boulet : phase d'hyperextension.....	29
Figure 19 : Illustration des lésions caractéristiques de la maladie ostéocondrale palmaire .....	31
Figure 20 : Radiographie du boulet d'un cheval atteint d'ostéocondrose traumatique.....	32
Figure 21 : Illustration des modifications osseuses liées à l'entraînement intensif chez le cheval de course. ....	35
Figure 22 : Anisotropie trabéculaire du MCIII distal et plan de clivage des fractures condyliques .....	37
Figure 23 : Fracture complète déplacée (1) et incomplète non déplacée (2) du condyle latéral du MCIII.....	38
Figure 24 : Radiographies post-opératoires d'une fracture métacarpienne condylienne latérale.....	39
Figure 25 : Fracture para-sagittale métatarsienne.....	40

# *Liste des sigles et abréviations*

ADAMTs : A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs.....	18
C : Collagène.....	10
CF : Condylar fracture / Fracture condyliare.....	II
CII : collagène de type II.....	9
GAGs : Glycosaminoglycanes.....	9
GH : Growth Hormone - Hormone de croissance.....	19
MCIII : 3ème Métacarpe.....	2
MEC : Matrice Extra-Cellulaire.....	18
MMP : Matrix MetalloProteinase.....	18
MTIII : 3ème Métatarse.....	3
OC : Osteochondrosis – Ostéochondrose.....	24
PAL : Phosphatase Alcaline.....	18
PGs : Protéoglycanes.....	8
SOFG : Safranin O Fast Green.....	41

*À Magali pour ton amour, ton soutien au quotidien, pour tout ce que nous partageons depuis le début, pour être ce que tu es. Merci à toi.*

*À mes parents qui me soutiennent depuis le début, à Maxime, et au reste de ma famille sur qui j'ai toujours pu compter. Merci à vous tous.*

# *Remerciements*

Au Dre Sheila Laverty, ma directrice, pour m'avoir encadré, recadré, dirigé et pour avoir partagé, à la fois son expérience incroyable et ses connaissances, merci beaucoup.

Au Dre Christine Theoret pour avoir accepté la présidence de ce jury,

Au Dr Sylvain Nichols pour sa participation à l'évaluation de ce travail,

À Hélène Richard pour son aide technique, ses conseils avisés, sa bonne humeur et sa perspicacité. Ta présence au laboratoire n'a pas de prix.

À Gabrielle Martel pour ses conseils, ses corrections et pour avoir réalisé la première partie du projet qui m'a permis de faire mon étude.

À Béatriz et Valentin, mes collègues de laboratoire avec qui ce fût un plaisir de travailler.

# *Introduction*



La fracture condyliare (CF) du 3<sup>ème</sup> métacarpe (MCIII) est une blessure orthopédique commune chez le cheval de course (Bassage Ii, 2014; Parkin *et al.*, 2004a, b; Parkin *et al.*, 2006; Zekas *et al.*, 1999a, b) le plus fréquemment rencontrée dans le sillon parasagittal latéral du métacarpe /tarse à la limite entre la portion latérale du condyle et la crête sagittale (Jacklin et Wright, 2012; Parkin *et al.*, 2006; Rick *et al.*, 1983). Les facteurs de risque de cette fracture sont notamment l'entraînement intensif (Whitton *et al.*, 2010) et la course en terrain ferme ou difficile (Parkin *et al.*, 2005).

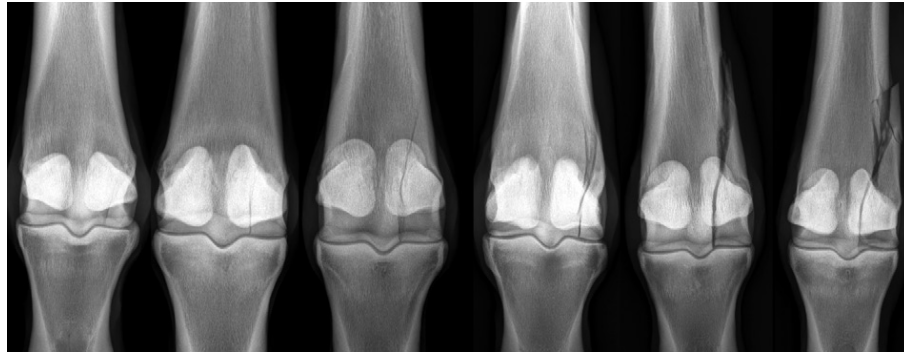


Figure 1: Localisation préférentielle des fractures condyliaires du cheval : sillon parasagittal latéral d'après Richardson (2003)

L'os sous chondral du MCIII distal est composé d'une plaque sous-chondrale relativement dense et compacte sur laquelle repose un réseau de trabécules parallèles au plan sagittal et connectées par de courtes entretoises (Martig *et al.*, 2014). La résistance de l'os sous-chondral est déterminée par la quantité d'os compact et sa qualité microarchitecturale (Ammann et Rizzoli, 2003; Mitra *et al.*, 2005; Seeman et Delmas 2006). Cette microarchitecture n'est pas statique même chez le cheval adulte et est perpétuellement modifiée par les contraintes biomécaniques s'exerçant sur l'os (Huiskes *et al.*, 2000) pour s'adapter aux contraintes prédominantes. Les trabécules s'alignent avec l'axe de ces contraintes afin de fournir la résistance maximale (Barak *et al.*, 2011) en suivant la loi de Wolff (Wolff, 1892). Le dépôt d'os néoformé sur les trabécules existantes, encore appelé modelage osseux, en réponse à la mise en charge cyclique de cet os trabéculaire entraîne un épaissement des trabécules (Cornelissen *et al.*, 1999; Firth *et al.*, 1999a) et une augmentation de la fraction d'os compact (Boyde et Firth, 2005; Firth *et al.*, 1999b; Noble *et al.*, 2016) rendant l'os plus résistant.

L'apparition de micro-fractures dans tout os utilisé est un phénomène normal. Ces micro-fractures sont ensuite réparées via un remodelage ciblé. Cependant, à certaines localisations et secondairement à la pratique d'un entraînement intensif, elles ont tendance à s'accumuler (Muir *et al.*, 2006) plus rapidement qu'elles ne sont réparées. Cette accumulation, qui a lieu notamment dans le sillon parasagittal du MCIII ou du MTIII chez le cheval athlète, est considérée comme étant, au moins en partie, à l'origine des CF (Drum *et al.*, 2007; Dubois *et al.*, 2014; Muir *et al.*, 2008; Radtke *et al.*, 2003; Stepnik *et al.*, 2004; Turley *et al.*, 2014). Les lacunes résultant de la résorption ostéoclasique, une des étapes nécessaires à la réparation de ces micro-fractures, fragilisent aussi la structure et favorisent l'apparition des fractures macroscopiques (Riggs *et al.*, 1999a; Whitton *et al.*, 2010).

En effet la présence, même en petite quantité, de ces micro-fractures et de la résorption ostéoclasique associée fragilise significativement l'os trabéculaire, diminue sa résistance à la fatigue mécanique (Goff *et al.*, 2015; Hernandez *et al.*, 2006; Hernandez *et al.*, 2014) et peut conduire à l'apparition des CF (Dubois *et al.*, 2014; Lacourt *et al.*, 2012; Norrdin et Stover, 2006; Stover *et al.*, 1992).

Curieusement, ni l'âge, ni le nombre de courses effectuées ne sont associés au degré de lésion au niveau du sillon parasagittal du MCIII (Parkin *et al.*, 2006). De plus ces fractures sont aussi rencontrées chez des pur-sang parfois âgés de 2 ans ou moins et pas plus tard que dans les 2 mois suivant le début de l'entraînement intensif. Cela veut dire que ces fractures peuvent avoir lieu avant l'adaptation complète de l'os sous-chondral et notamment avant que la fraction d'os compact n'ait atteint celle des chevaux plus âgés (Whitton *et al.*, 2010). L'ensemble de ces trouvailles suggère que des changements pathologiques peuvent être présents dès le début de la carrière d'athlète. Récemment, des lésions ont d'ailleurs été repérées dans l'os sous chondral ainsi que dans le cartilage articulaire du sillon parasagittal par Boyde et Firth (2008) sur des chevaux non entraînés. Firth *et al.* (2009) ont aussi observé des zones radio-transparentes au niveau du cartilage articulaire calcifié et dans l'os sous chondral de la même région chez des chevaux âgés de seulement 17 mois. Ces deux derniers travaux permettent donc de suspecter une prédisposition, une mauvaise adaptation ou une anomalie développementale du MCIII équin ayant lieu avant même qu'il soit soumis aux contraintes mécaniques extrêmes de l'entraînement intensif et que cette composante développementale puisse le prédisposer plus tard aux CF.

La structure trabéculaire du MCIII distal de cheval adulte est anisotropique car les trabécules sont majoritairement alignés avec le plan sagittal (Boyde *et al.*, 1999; Thomason, 1985) mais cette structure n'a jamais été comparée entre le site prédisposé (sillon parasagittal) et la portion latérale du condyle, un site non concerné par cette maladie. De plus nous n'avons pas pu identifier d'information quantitative dans la littérature scientifique concernant la microarchitecture trabéculaire ou l'orientation trabéculaire de cette même région chez le poulain nouveau-né ou comment celle-ci évolue avec le développement et l'entraînement.

# *Revue de Littérature*

# 1 Description d'une articulation synoviale physiologique

Les articulations sont les jonctions entre les différents os du squelette des vertébrés. Elles permettent à la fois sa cohésion mais aussi, pour certaines, sa capacité à se mouvoir en permettant les mouvements des os entre eux. Il existe plusieurs types d'articulations dans l'organisme que l'on classe de deux façons.

Premièrement la classification fonctionnelle avec : les articulations mobiles, ou diarthroses, les articulations semi-mobiles, ou amphiarthroses et les articulations immobiles, ou synarthroses.

Deuxièmement la classification morphologique avec : les articulations fibreuses (les os sont liés par du tissu conjonctif fibreux), les articulations cartilagineuses (les os sont reliés entre eux par un massif cartilagineux et les articulations synoviales (structure complexe associant différents tissus aux propriétés mécaniques spécialisées - cf. paragraphe 1.2.1 ci-dessous pour la description exhaustive).

Dans la suite de ce travail ne seront abordées que les articulations diarthroïdiales ou synoviales.

Leur position stratégique à la jonction des os et leur rôle d'articulation au sens mécanique du terme les soumettent à des exigences extrêmes. Ces articulations devront notamment résister à des contraintes mécaniques (pression, cisaillement) majeures : l'enregistrement, par Hodge *et al.* (1986), de la pression s'exerçant sur le cartilage articulaire de la hanche humaine a montré qu'elle pouvait atteindre 18 MPa. Au niveau du MCIII distal du cheval au galop elle a été estimée par Harrison *et al.* (2014) à 252 MPa (soit environ mille fois plus que la pression d'un pneu de voiture).

Les articulations doivent aussi offrir le minimum de résistance aux mouvements ou forces de frottement afin de minimiser les pertes énergétiques, mais aussi afin d'assurer leur pérennité. En effet, au-delà de l'importance des contraintes mentionnées ci-dessus, les articulations vont de plus devoir les supporter tout au long de la vie de l'individu. Cela représente un nombre très important de cycles surtout pour les organismes très actifs (cheval de sport) et/ou à longue espérance de vie (homme). La description faite ci-dessous permet de mieux comprendre en quoi l'articulation répond aux exigences auxquelles elle est confrontée.

## 1.1 Organisation générale d'une articulation adulte

Une articulation diarthrodiale, ou synoviale, typique est constituée d'au moins deux os (Figure 2, 1) dont les surfaces en contact sont recouvertes de cartilage articulaire (Figure 2, 2). Ce dernier sera détaillé dans la partie 1.2 ci-dessous. Entre les deux couches de cartilage se trouve le liquide synovial (Figure 2, 3). Ce liquide est contenu et produit par la membrane synoviale qui recouvre la capsule articulaire (Figure 2, 4) dans sa partie interne (König *et al.*, 2009).

Cette alternance cartilage-liquide synovial-cartilage permet le mouvement des os l'un par rapport à l'autre avec un coefficient de frottement très faible. Ceci permet la fluidité des mouvements et limite également l'énergie musculaire nécessaire à leur réalisation. Le peu de frottement permet aussi de limiter la dégradation du cartilage articulaire, un tissu dont les capacités régénératives sont limitées.

Les ligaments (Figure 2, 5), autres composants articulaires, sont des structures cylindriques ou en bande composées de tissu conjonctif fibreux qui stabilisent et limitent le mouvement articulaire en reliant les os entre eux (Frank *et al.*, 1999).

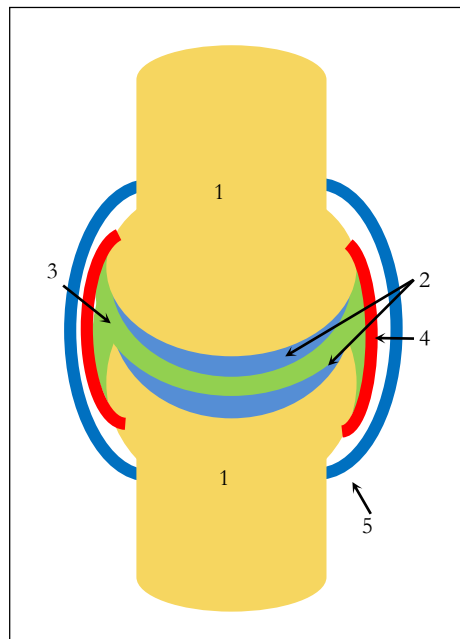


Figure 2 : Schéma d'une articulation synoviale  
1 : os, 2 : cartilage articulaire, 3 : liquide synovial, 4 : membrane synoviale et capsule articulaire, 5 : ligaments externes (apport personnel)

## 1.2 Cartilage articulaire adulte

### 1.2.1 Structure macroscopique

A l'œil nu, le cartilage articulaire apparaît comme une fine surface translucide, blanchâtre, homogène et avasculaire. Il est observé à l'extrémité de tous les os qui sont en contact dans une articulation synoviale saine (Figure 2). Cette position stratégique lui confère un rôle d'interface capital au bon fonctionnement de l'articulation.

Ses propriétés biomécaniques sont essentielles à sa fonction (Chevalier et Richette, 2005) : il est résistant aux contraintes mécaniques de compression et de cisaillement qui sont très élevées dans une articulation (notamment celles du squelette appendiculaire). Sa surface très lisse et lubrifiée par le liquide synovial permet des mouvements à très faible coefficient de frottement. Il joue également le rôle d'amortisseur en absorbant en partie l'énergie qui lui est transmise lors des mouvements et des impacts

### 1.2.2 Structure microscopique

Le cartilage articulaire adulte est un tissu sans nerf ni vaisseau sanguin, essentiellement composé de matrice extracellulaire et d'une population cellulaire unique et peu abondante : les chondrocytes.

#### 1.2.2.1 Composition cellulaire

Les chondrocytes, cellules d'origine mésenchymateuse, sont relativement peu nombreux (2 à 10% du volume cartilagineux). Notamment au niveau de la tête du fémur chez l'humain, on compte seulement 10 000 cellules/mm<sup>3</sup> (Muir, 1995). Ils sont répartis dans l'ensemble du cartilage articulaire, exceptée dans la couche la plus superficielle nommée *lamina splendens*. Leur approvisionnement en nutriments se fait par diffusion depuis le liquide synovial et l'os sous chondral.

Les chondrocytes sont les responsables de l'homéostasie du cartilage articulaire. Pour assurer cette fonction, ils sont capables de produire ou de dégrader la matrice extracellulaire du cartilage articulaire (collagène, protéoglycanes (PGs), glycoprotéines) (Figure 3).

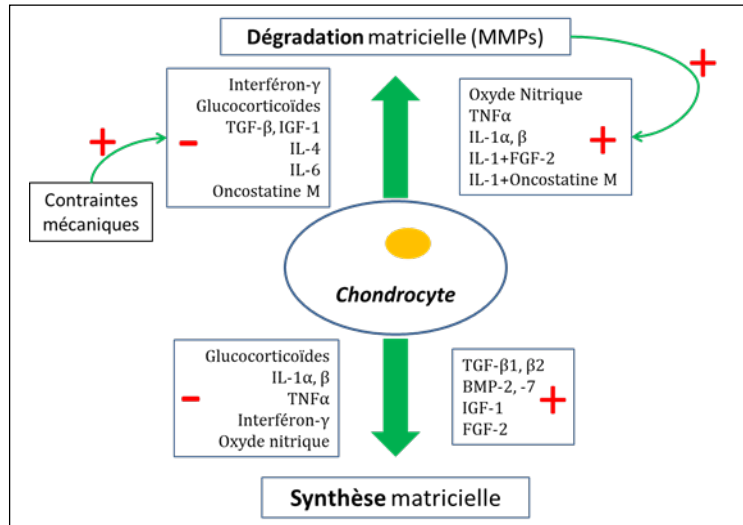


Figure 3 : Régulation de l'homéostasie du cartilage articulaire

Influences des différents facteurs intervenant, adapté d'après Mayne (2001). Les besoins en nutriments et en oxygène limités des chondrocytes (Maroudas et al., 1998) en raison du faible turnover moléculaire et cellulaire du cartilage articulaire (Quinn et al., 2005), font que leur isolement relatif au sein d'un tissu avasculaire n'est pas limitant au maintien de l'homéostasie du cartilage articulaire. (+ : action stimulante, - : action inhibitrice)

### 1.2.2.2 Composition moléculaire

#### 1.2.2.2.1 Composition moléculaire générale

La matrice extracellulaire est composée d'eau (60-85%), et de macromolécules (protéines et glycosaminoglycanes (GAGs)). Elle est responsable de la résistance mécanique du tissu cartilagineux.

Le collagène est l'armature fibreuse du cartilage articulaire lui permettant de résister aux contraintes de cisaillement. Les PGs sont des molécules très hydrophiles qui comblent ainsi les vides du maillage de collagène à l'aide du grand nombre de molécules d'eau qu'elles attirent. Elles permettent au cartilage articulaire de résister aux pressions importantes qu'il subit (Robin Poole, 2001).

La matrice extracellulaire contient majoritairement du collagène de type II (CII) et des macromolécules comme l'acide hyaluronique et les agréganes, une association covalente d'une protéine centrale et de GAGs hydrophiles capable de se fixer sur l'acide hyaluronique. Elle contient également, en quantité limitée, des glycoprotéines comme la fibronectine, qui participent à la cohésion de la matrice et à la connexion du chondrocyte à celle-ci (Gendelman et al., 2003).

Cette ultrastructure moléculaire complexe confère au cartilage articulaire ses propriétés de résistance mécanique et permet aux chondrocytes de maintenir son homéostasie. La structure et la fonction du collagène sont détaillées dans le paragraphe 1.2.2.2.2 ci-dessous.



#### 1.2.2.2.2 Le collagène, une famille de molécules essentielle au cartilage articulaire

Les collagènes (C) sont des protéines présentes dans la plupart des matrices extracellulaires, notamment celle des tissus de soutien ou encore dans les lames basales. Il en existe une grande variété et ne seront abordés ici que les différents types présents dans les articulations.

Dans l'articulation, au niveau du cartilage hyalin, se trouve majoritairement du CII (Mayne, 2001). Le CII est constitué de molécules de tropocollagène de 300nm de longueur (Figure 4) assemblées en grand nombre pour former une longue fibre. Il est structurellement essentiel au cartilage articulaire car il représente environ 50 à 66% de son poids sec (Eyre *et al.*, 2006; Mayne, 2001). Sa résistance mécanique à la traction (ainsi que son organisation tridimensionnelle) explique l'importance des contraintes qu'il est capable de subir.

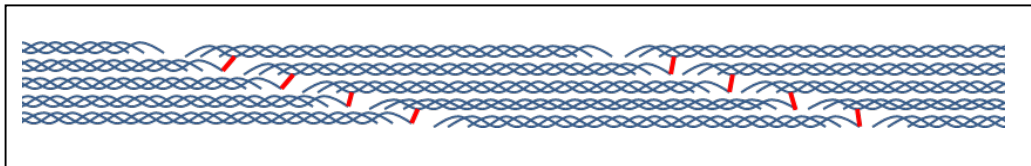


Figure 4 : Structure de la fibre de CII, polymère de triples hélices (apport personnel)

#### 1.2.2.3 Stratification microscopique

Le cartilage présente plusieurs zones distinguables d'après différents critères : l'aspect et le nombre de chondrocytes, la quantité de PGs et l'orientation des fibres de collagène. Plusieurs études (Benninghoff, 1925; Grunder, 2006) s'accordent, à l'aide de différentes techniques, à décrire une même organisation des fibres de collagène dans le cartilage articulaire chez tous les vertébrés étudiés (lapin, porc, cheval et homme, (Kaab *et al.*, 1998)).

La zone superficielle est la zone exposée aux forces de frottement, car elle se situe en surface. C'est une zone fine très riche en CII, où les fibres sont parallèles à la surface articulaire (Changoor *et al.*, 2011; Poole *et al.*, 2001). La *lamina splendens* est une fine couche acellulaire qui recouvre cette zone. Elle est parfois absente chez certaines espèces (Pritzker et Aigner, 2010).

La zone intermédiaire est une zone plus riche en PGs. Les fibres de CII sont dans des directions aléatoires et pour cela cette zone est qualifiée également de « zone de transition » (Mahjoub *et al.*, 2012).

- La zone profonde : les fibres de CII sont elles aussi perpendiculaires à la surface articulaire et parallèles entre elles.

- La « Tidemark » : il s'agit de la fine bande fortement calcifiée qui sépare la zone profonde de la zone calcifiée.
- La zone calcifiée se différencie de la zone profonde car elle est calcifiée et séparée de celle-ci par la tidemark. La ligne cimentée ou calcifiée, la sépare de l'os sous chondral. Les fibres de CII de la zone profonde traversent la tidemark et assurent une bonne liaison entre les deux couches (Madry *et al.*, 2010).

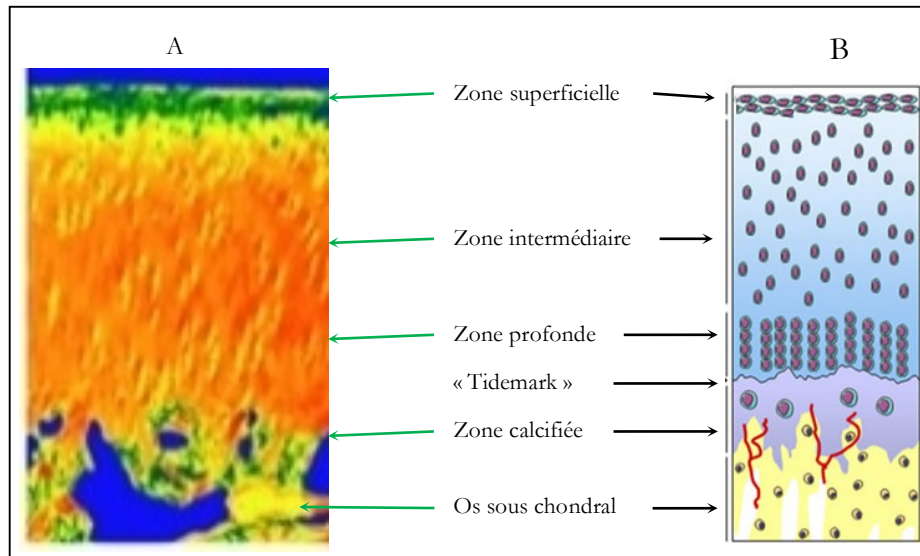


Figure 5 : Structure microscopique du cartilage articulaire  
Adapté de A : Hughes *et al.* (2005) et B : Mahjoub *et al.* (2012)

Cette stratification cellulaire et moléculaire complexe permet l'adéquation du cartilage articulaire à sa fonction ainsi qu'aux exigences mécaniques qu'elle impose : faibles forces de frottement, absorption des chocs, résistance dans le temps. Le cartilage présente de plus des caractéristiques qui varient en fonction de sa localisation au sein de l'articulation et des contraintes mécaniques auxquelles il est exposé (Hytinen *et al.*, 2009).

### 1.3 L'os

On rencontre plusieurs types d'os dans l'organisme que l'on peut classifier en fonction de leur forme : les os longs, les os courts, les os plats, les os irréguliers et les os sésamoïdes (König et Liebich, 2009).

Les os longs, tels que le fémur ou le radius par exemple, ont une organisation caractéristique : un fût central appelé diaphyse ainsi que deux extrémités appelées épiphyses. Au sein de ces os, deux types de tissu osseux existent : l'os compact et l'os trabéculaire. Le premier est effectivement compact, très résistant et constitue le cortex, la partie externe tubulaire des os longs. Le deuxième type de tissu osseux appelé os trabéculaire ou encore os spongieux est rencontré dans les extrémités (épiphyses et métaphyses). Contrairement à l'os compact, l'os spongieux est lacunaire et est formé par un réseau de trabécules interconnectés dont l'organisation modulable permet à chaque épiphyse d'avoir une forme propre et ainsi d'assurer la correspondance entre les surfaces articulaires tout en conservant une résistance mécanique (König et Liebich, 2009). L'os sous chondral que l'on trouve en dessous du cartilage articulaire est majoritairement composé d'os trabéculaire.

### ***1.3.1 L'os sous-chondral***

L'os sous-chondral est l'os présent sous le cartilage articulaire. Il est présent aux épiphyses des os longs. Il est divisé en deux zones : la plaque sous chondrale, en contact avec le cartilage articulaire, et l'os trabéculaire sous chondral.

#### *1.3.1.1 La plaque sous chondrale*

La plaque sous chondrale est constituée d'os compact. Elle est en contact étroit avec le cartilage articulaire et le supporte. La liaison entre le cartilage calcifié et celle-ci se fait soit grâce à des protrusions de la partie calcifiée dans la plaque sous chondrale, soit par des pores qui, en augmentant la surface de contact entre les deux structures, augmentent la résistance mécanique de cette interface (Figure 6) (Liu *et al.*, 2011). En effet, contrairement à la tidemark, aucune fibre ne traverse la jonction zone calcifiée - os sous chondral, d'où l'importance de ces reliefs au niveau de l'interface.

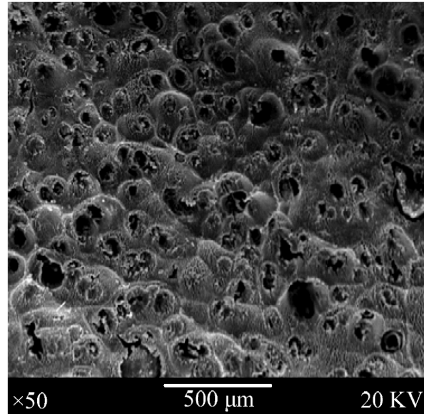


Figure 6 : Structure tridimensionnelle (microscopie électronique) de la surface du cartilage calcifié. On observe ici une surface très rugueuse faisant face à la plaque sous chondrale, d'après Liu *et al.* (2011)

La plaque sous chondrale est structurellement semblable à l'os compact cortical (peu poreuse et peu vascularisée (Henrotin *et al.*, 2009)) mais est plus fine et l'orientation des canaux de Havers y est différente.

#### 1.3.1.2 Os trabéculaire sous chondral

Cette zone est constituée d'os spongieux dont l'architecture tridimensionnelle forme un réseau (Liu *et al.*, 2011). Elle assure à la fois élasticité et résistance à la compression. En effet, cet os trabéculaire sous chondral participe activement, par sa déformation élastique (10 fois supérieure à celle de l'os cortical compact, (L. Radin, 2001)), à l'amortissement des contraintes s'exerçant au niveau de l'articulation (comme le fait également le cartilage articulaire). La souplesse relative de cette zone permet aussi une correspondance quasi parfaite des surfaces articulaires lors de la mise en charge (L. Radin, 2001) et ainsi un travail harmonieux de l'articulation. Les fibres de collagène de l'os trabéculaire sont perpendiculaires à la surface articulaire, globalement alignées sur le réseau de trabécules macroscopiques (Figure 7) (Reznikov *et al.*, 2015).

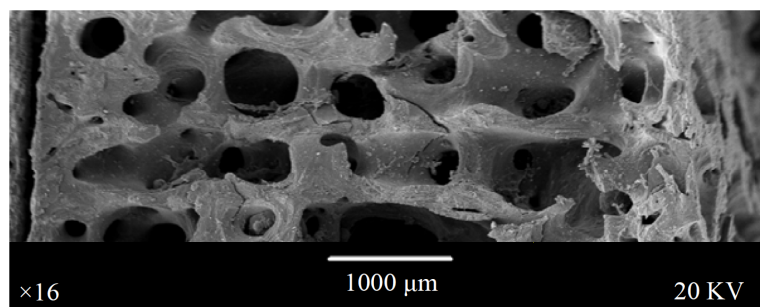


Figure 7 : Structure tridimensionnelle (microscopie électronique) de l'os trabéculaire, d'après Liu *et al.* (2011)

## **2 Développement des os longs et de leurs surfaces articulaires**

Après avoir décrit les articulations et les os matures, il est important ici de considérer les étapes de leur développement, afin de mieux comprendre certaines maladies développementales, ainsi que leur structure adulte.

### **2.1 Élaboration de la matrice cartilagineuse, modèle de l'os définitif et individualisation des os**

L'ébauche de membre se forme au stade embryonnaire et est constituée de cellules mésenchymateuses. Ces cellules vont se condenser et se différencier pour donner le cartilage (chondrocytes et matrice extracellulaire typique). Au sein de cette ébauche cartilagineuse du membre, se développent alors au niveau des futures articulations, les interzones. Ces dernières sont à l'origine des tissus de l'articulation (Reissis et Abel, 2012; Rivas et Shapiro, 2002).

### **2.2 Formation du centre d'ossification primaire**

Les chondrocytes situés au milieu de l'ébauche cartilagineuse s'hypertrophient et le périchondre situé de part et d'autre de cette zone se différencie en périoste. La couche interne de ce même périoste permet la croissance en épaisseur de la diaphyse (en vert sur la Figure 13). Le centre d'ossification primaire est né.

La colonisation vasculaire du centre de la diaphyse permet le début de l'ossification endochondrale via le centre d'ossification primaire avec la mise en place des plaques de croissance métaphysaires, ce qui rend la croissance en longueur de l'os possible (Rivas et Shapiro, 2002). Simultanément, la matrice cartilagineuse poursuit son développement centrifuge en épaisseur via la croissance interstitielle ; elle est simultanément remplacée par de l'os au niveau du front d'ossification (Pazzaglia *et al.*, 2011).

### **2.3 Vascularisation épiphysaire et formation du centre d'ossification secondaire**

La vascularisation de l'os joue un rôle prépondérant dans le développement de ce dernier et permet de comprendre les étapes ultérieures du processus.

Elle a pour origine le périchondre. Au niveau de la future diaphyse, comme vu ci-dessus, l'invasion vasculaire de la matrice cartilagineuse permet au centre d'ossification primaire de fonctionner et ainsi à l'os de croître en longueur et en épaisseur.

Le cartilage épiphysaire est vascularisé précocement lors de la vie fœtale (surtout chez les grandes espèces animales, à partir de 130 jours de gestation chez le cheval (Shingleton *et al.*, 1997)), à la différence du cartilage articulaire qui demeure avasculaire. Ces vaisseaux permettent de satisfaire les besoins du centre d'ossification secondaire responsable de l'ossification épiphysaire. La formation du centre d'ossification secondaire en tant que telle est abordée au paragraphe 2.4. L'intégralité de l'épiphysaire est ainsi vascularisée (Lecocq *et al.*, 2008). La Figure 8 illustre la vascularisation du MCIII distal chez le poulain.

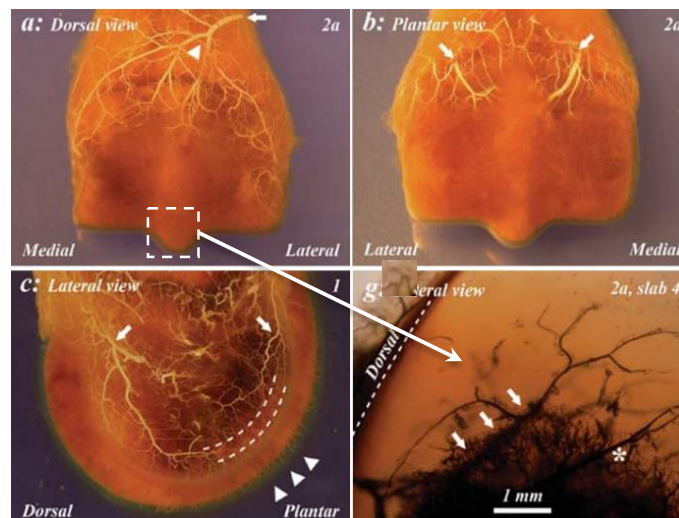


Figure 8 : Vascularisation épiphysaire du MCIII du poulain de 2 semaines, Olstad *et al.* (2009)

*a* : ramification de l'artère métatarsienne dorsale, *b* : branches médiale et latérale de l'artère plantaire commune, *c* : vaisseaux en arc de cercle parallèles à la surface articulaire dont sont issus des fins vaisseaux rayonnants leur étant perpendiculaires et irriguant le cartilage épiphysaire, *d* : vaisseaux d'origine sous chondrale traversant le front d'ossification au niveau de la crête dorsale.

## 2.4 Formation du centre d'ossification secondaire et développement épiphysaire

Les premiers noyaux d'ossification apparaissent et fusionnent entre eux pour former le centre d'ossification secondaire. Des vaisseaux épiphysaires l'envahissent ensuite via sa plaque de croissance. Dans un second temps vient le développement épiphysaire : il permet la formation harmonieuse des extrémités des os longs et donc la correspondance parfaite des surfaces articulaires diarthroïdiales.

C'est via la fine régulation de l'ossification endochondrale (cf. paragraphe 2.5) que ce développement se fait correctement (Mackie *et al.*, 2008; Rivas et Shapiro, 2002). Le complexe cartilagineux articulaire et épiphysaire se met en place, formé du cartilage articulaire superficiel, du cartilage épiphysaire et finalement du front d'ossification du centre d'ossification secondaire (Figure 9) (Carlson *et al.*, 1986).

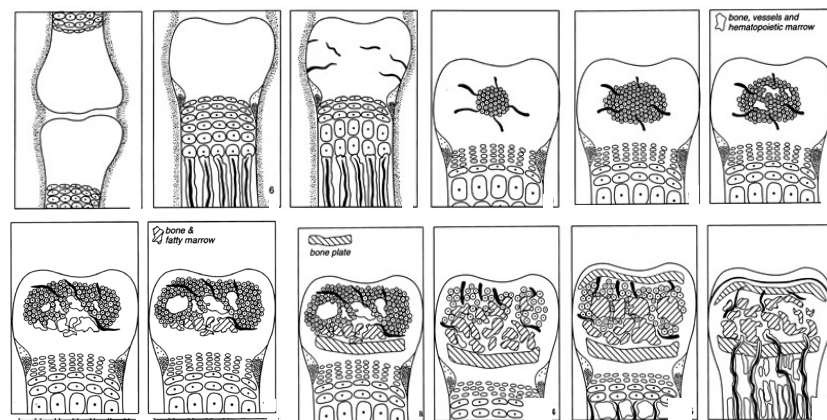


Figure 9 : Différentes étapes du développement épiphysaire, adapté d'après Rivas et Shapiro (2002)

1 : COPs formés, 2 : Formation de la physe, 3 : Vascularisation du cartilage épiphysaire, 4 : Hypertrophie chondrocytaire et formation du COS, 5 : Invasion vasculaire du CE, 6 : Début de la formation d'os et de moelle osseuse, 7 : Augmentation de la taille du COS et diminution de l'épaisseur du CE, 8 : Le COS devient hémisphérique, 9 : Développement de la moelle osseuse et formation de la plaque osseuse épiphysaire, 10 : Extension maximale du COS, 11 : Involution du COS et formation de la plaque osseuse sous chondrale, 12 : Résorption de la physe, communication entre les circulations épiphysaires et métaphysaires et calcification du cartilage articulaire profond (COP : centre d'ossification primaire - COS : centre d'ossification secondaire).

Avec la croissance et le développement de l'épiphyse les canaux cartilagineux non incorporés dans le centre d'ossification secondaire dégénèrent via le processus de « chondrification » au cours duquel ils sont comblés par du fibrocartilage (Ytrehus *et al.*, 2004). La progression du front d'ossification s'accompagne également de l'avancée des vaisseaux sous chondraux, ces derniers rentrent alors en contact avec certains canaux cartilagineux (et leurs vaisseaux d'origine péri-chondriale) et forment des anastomoses. Cette étape est considérée comme critique et serait capable d'engendrer une ischémie et une nécrose cartilagineuse et ostéochondrose si elle ne se déroule pas correctement (McCoy *et al.*, 2013; Olstad *et al.*, 2008).

## 2.5 Ossification endochondrale

Le processus d'ossification endochondrale est une étape primordiale du développement osseux. Il a lieu au niveau des plaques de croissance ou physes *i.e.* à la jonction entre l'os néoformé (front d'ossification) et le cartilage de croissance au niveau de la métaphyse et de l'épiphyse (cf. Paragraphe 2.4, p. 15). L'intérêt de l'ossification endochondrale réside dans le maintien de la fonction principale du squelette, *i.e.* le soutien, et cela alors qu'il est en pleine croissance.

### 2.5.1 Stratification histologique et fonctionnelle du cartilage de croissance

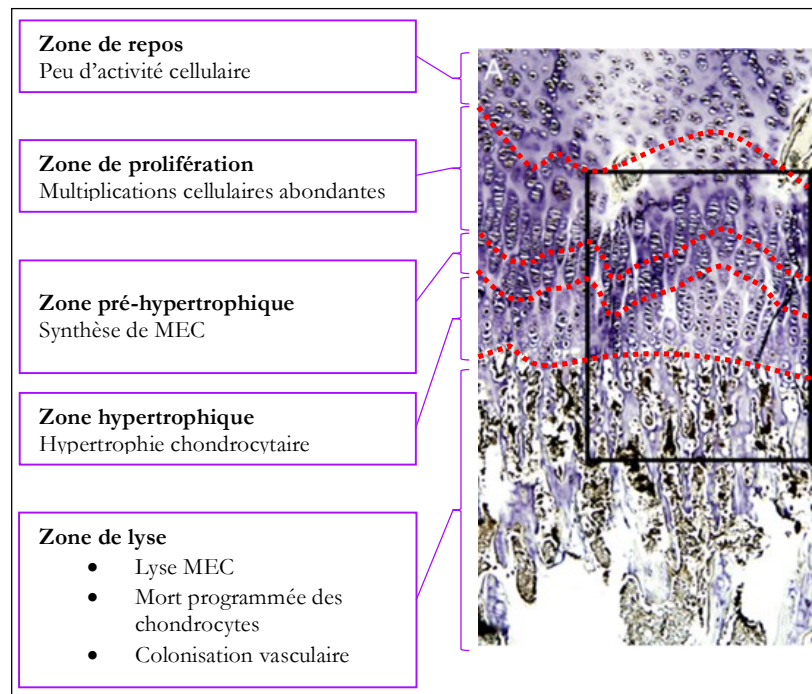
Le cartilage de croissance montre une structure et un métabolisme typiques et différents des autres cartilages. Les divisions cellulaires y sont fréquentes et la synthèse de matrice extracellulaire abondante (Robin Poole, 2001) contrairement au cartilage articulaire notamment. De plus, la population chondrocytaire montre une stratification spatiale et temporelle liée aux différentes étapes phénotypiques que vont subir ces cellules lors de l'ossification endochondrale.

Depuis le cartilage articulaire et jusqu'au front d'ossification, les différentes zones observables dans le cartilage de croissance sont (cf. Figure 10 p. 18) (Changoor *et al.*, 2011; Mackie *et al.*, 2008) :

- La zone de repos : les chondrocytes y sont au stade germinale. Leur métabolisme est quasi nul.
- La zone de prolifération : les chondrocytes sont en multiplication. Ils s'aplatissent parallèlement au front d'ossification et se regroupent en agrégats.
- La zone pré-hypertrophique : les chondrocytes augmentent leur synthèse de matrice extracellulaire typique du cartilage et s'écartent ainsi les uns des autres.
- La zone hypertrophique : les chondrocytes augmentent énormément de volume (cytoplasmique) et une partie de la matrice extracellulaire péri-cellulaire est lysée. Cette augmentation drastique de volume cytoplasmique permet l'élongation au sens strict.
- La zone de lyse : avant leur mort, les chondrocytes produisent de nombreuses enzymes et facteurs nécessaires à la poursuite du processus. Les enzymes MMP13 (Matrix MetalloProteinase 13), MMP9 et ADAMTs (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin motifs) participent activement à la dégradation de la matrice extracellulaire restante.



De nombreux facteurs de croissance (cf. paragraphe correspondant ci-dessous) régulent après la mort des chondrocytes, la colonisation de la zone de lyse par de nombreux acteurs : vaisseaux sanguins, ostéoclastes, précurseurs d'ostéoblastes et cellules de moelle osseuse. A peine cette colonisation démarrée, les ostéoclastes vont participer à la dégradation du reste de la matrice extracellulaire cartilagineuse synthétisée auparavant et les ostéoblastes vont utiliser ce qu'il en reste comme modèle pour fabriquer la matrice osseuse ou ostéoïde grâce notamment à la phosphatase alcaline (PAL).



*Figure 10 : Ossification endochondrale, description histologique et fonctionnelle  
Photomicrographie d'après Laverty et Girard (2013)*

L'ossification endochondrale consiste donc au remplacement progressif du cartilage de croissance par de l'os. C'est conjointement à la croissance interstitielle du cartilage que ce processus permet à la fois la croissance en longueur de l'os et le développement des épiphyses.

### **2.5.2 Régulation de l'ossification endochondrale**

Cette régulation est complexe et multifactorielle (cf. Figure 11 p. 19) ; plusieurs niveaux existent et sont détaillés ci-dessous.

L'ossification endochondrale est sous contrôle de l'hormone de croissance (GH : « Growth Hormone ») et des hormones thyroïdiennes. Ces hormones sont en effet capables d'induire la sécrétion chondrocytaire de nombreux facteurs au mode d'action paracrine et d'enzymes intervenant dans le processus d'ossification endochondrale. Les chondrocytes sont aussi capables de produire d'autres facteurs de régulation indépendamment de leur stimulation par ces hormones (Mackie *et al.*, 2011) (Figure 11).

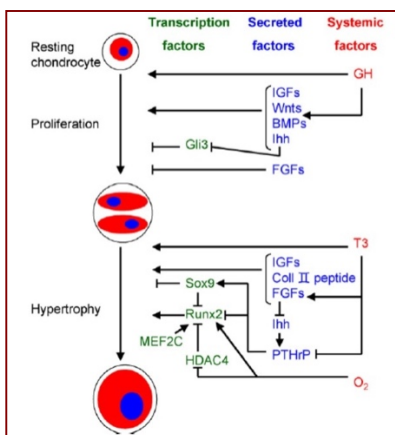


Figure 11 : Schéma de la régulation multifactorielle simplifiée de l'ossification endochondrale.

Facteurs systémiques en rouge, sécrétés en bleus et transcrits en vert, les flèches indiquent une stimulation, les connecteurs à fin orthogonale une inhibition (Mackie *et al.*, 2008) (GH: Growth hormone, PTHrP: parathyroid hormone-related peptide, Ihh: Indian hedgehog, IGFs: Insulin-like growth factors, BMP: Bone morphogenetic protein, FGF: Fibroblast growth factor, HDAC4: Histone deacetylase-4, MEF2C: myocyte enhancer factor-2C, T3: Triiodothyronine).

## 2.6 Maturation du cartilage articulaire

Les différentes étapes de maturation sont similaires chez tous les mammifères étudiés mais elles diffèrent dans la durée nécessaire à leur accomplissement. Il n'existe pas, initialement, d'orientation privilégiée des fibres de CII. Cependant, au fur et à mesure de la maturation du cartilage articulaire, les fibres vont s'orienter et ainsi permettre la formation de la structure adulte en arcades (Benninghoff, 1925; Cluzel *et al.*, 2013; Julkunen *et al.*, 2010; van Turnhout *et al.*, 2011).

Chez le poulain on distingue, avant même la naissance, une structure stratifiée composée des 4 couches décrites chez l'adulte (Lecocq *et al.*, 2008). Le cartilage évolue d'une structure quasi isotrope vers une structure complexe et stratifiée telle que décrite au paragraphe 1.2, p. 8 (Figure 12).

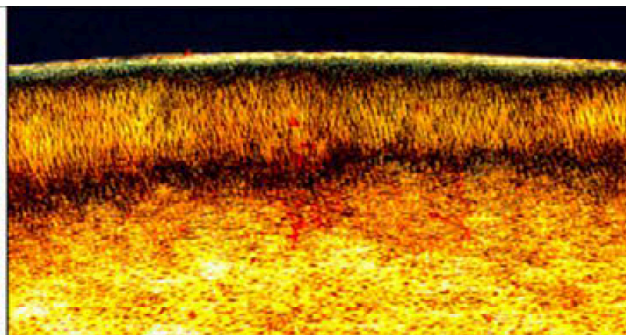


Figure 12: Cartilage articulaire stratifié d'un poulain nouveau-né  
Photomicrographie (lumière polarisée - barre d'échelle : 500 $\mu$ m) d'après Cluzel et al. (2013)

## 2.7 Croissance en longueur de l'os et fin du développement osseux

La forme de l'os définitif est quasi atteinte à ce stade mais pas sa longueur, pour cela l'ossification endochondrale (décrite au paragraphe 2.5 ci-dessus) persiste au niveau de la plaque de croissance jusqu'à obtention de la taille adulte. La plaque de croissance se minéralise alors et les vascularisations épiphysaires et métaphysaires s'interconnectent. La « tidemark » se forme à la base du cartilage articulaire (cf. paragraphe 1.2.2.3 p. 10), le développement osseux est achevé (Rivas et Shapiro, 2002).

Le développement des os longs est donc un processus complexe qui permet à l'os d'assurer sa fonction de soutien sans interruption alors qu'il grandit. Ce développement cesse lorsque l'organisme atteint sa taille adulte. Chez le cheval, les articulations et les os sont complètement fonctionnels à la naissance ce qui permet au poulain de se lever dans les 15 minutes qui suivent sa naissance et de suivre sa mère au galop quelques heures après.

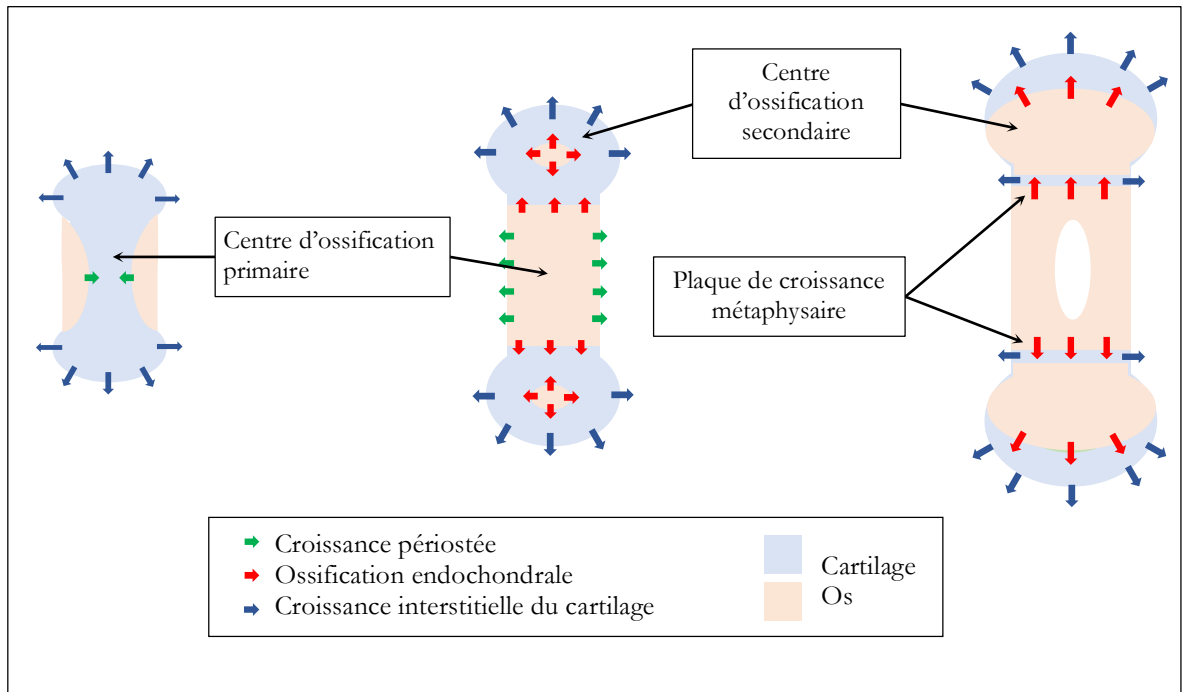


Figure 13: Schéma récapitulatif du développement et de la croissance des os longs (apport personnel)

## 2.8 Conséquences de la biomécanique sur le développement articulaire

Il a été montré (Brommer *et al.*, 2005) que chez le poulain à la naissance, d'un point de vue mécanique le cartilage articulaire est homogène (bien que la structure soit d'ores et déjà stratifiée) et qu'il diffère du cartilage articulaire adulte. D'après ce travail et celui de Cluzel *et al.* (2013), les propriétés mécaniques et l'organisation en couches du cartilage se mettent en place progressivement suite aux stimulations mécaniques physiologiques *in utero* et dans les premiers mois de la vie du poulain, devenant définitives à l'âge de 18 mois.

Il a également été montré qu'au fur et à mesure de la croissance, des différences biomécaniques apparaissent au sein du cartilage articulaire d'une même articulation et que ces différences sont liées aux variations des contraintes auxquelles est exposé ce dernier (Al Mohamad *et al.*, 2014; Brama *et al.*, 2000a; Brama *et al.*, 2000b, 2002; Brama *et al.*, 1999; Brama *et al.*, 2001). En effet, les contraintes mécaniques participant à la maturation du cartilage, des variations spatiales de celles-ci engendrent des différences biochimiques ou structurales au niveau du cartilage articulaire comme notamment la teneur en PGs ou en CII (Brama *et al.*, 2009; Brommer *et al.*, 2005; Hyttinen *et al.*, 2009).

La mise en charge et l'utilisation de l'articulation chez le nouveau-né est donc nécessaire à l'obtention des performances du cartilage articulaire mature, présent chez l'adulte. Même si présente, une utilisation du membre différée dans le temps ne permettra pas une maturation compensatoire tardive, le cartilage articulaire n'aura alors jamais ses caractéristiques optimales (Brama *et al.*, 2000b).

## 2.9 Spécificités de l'articulation métacarpo-phalangienne

### 2.9.1 Rappels anatomiques

L'articulation métacarpo-phalangienne se situe à l'extrémité distale du membre thoracique. En raison de sa configuration, cette articulation autorise surtout les mouvements de flexion-extension mais ne tolère que des mouvements latéraux très limités.

La capsule articulaire forme deux culs-de-sac synoviaux, un dorsal et l'autre palmaire (en rouge sur la Figure 14 ci-dessous).



Figure 14 : Anatomie de la région métacarpo-phalangienne du cheval  
On note l'extension de la capsule articulaire (en rouge) sur l'image de gauche et certains tendons et ligaments sur l'image de droite, d'après König et Liebich (2009); König *et al.* (2009)

### 2.9.2 Biomécanique du boulet

C'est l'articulation du membre distal soumise aux charges les plus importantes chez le cheval (Harrison *et al.*, 2010), notamment car l'appareil ligamento-tendineux du boulet est capable d'emmagasiner de l'énergie élastique lors de l'hyperextension pour ensuite la libérer (cf. Figure 15 ci-dessous). Cela permet d'améliorer l'efficacité de la locomotion mais a pour inconvénient d'exercer des forces très importantes sur l'articulation métacarpo-phalangienne (Harrison *et al.*, 2014).

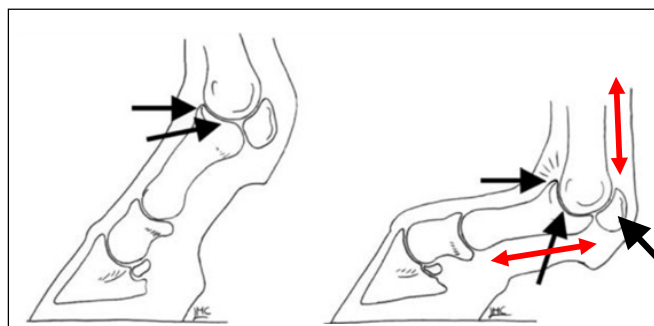


Figure 15 : Hyperextension du boulet et forces associées, adapté d'après Brama et al. (2009)  
 Les flèches noires désignent les points de pression maximale, les flèches rouges, les forces de traction dans l'appareil suspenseur

### 3 Affections articulaires du boulet chez le cheval athlète

En 1998, les boiteries équinnes avaient une incidence annuelle de 8,5 à 13,7%, représentant un coût estimé jusqu'à 1 milliard de dollars par le département d'agriculture des États-Unis (Health et USDA:APHIS:VS, 2001). Cette importance en termes de prévalence et de coûts justifie la poursuite de leur étude. Ci-après sont présentés les affections articulaires les plus courantes chez le cheval de sport. Bien qu'également fréquentes, les maladies tendineuses et ligamentaires ne sont pas traitées dans ce travail.

Le boulet présente une amplitude articulaire remarquable de 240° : c'est l'amplitude articulaire la plus importante observée chez le cheval (Bertone, 2014; Nixon, 2012). Étant de plus une articulation distale, elle est soumise à des contraintes maximales liées à sa position proche de l'extrémité et à sa vitesse importante (citation Harrison 2010).

Cette biomécanique relativement extrême a des conséquences directes sur les affections touchant cette articulation, qui sont abordées dans les paragraphes suivants.



Figure 16 : « Photo-finish » d'une course de galop, d'après Bertone (2014)  
 Illustration de l'extrême extension du boulet secondaire aux contraintes maximales

## 3.1 Ostéochondrose

L'ostéochondrose est une maladie pouvant affecter de nombreuses articulations mais, égard au sujet de ce mémoire, elle sera ici détaillée uniquement dans l'articulation du boulet.

### 3.1.1 Définition

La définition de l'ostéochondrose (OC) est relativement complexe et a connu de nombreuses variations au cours des années. Aujourd'hui la communauté scientifique s'accorde à dire qu'il s'agit d'une affection du cartilage de croissance entraînant sa nécrose. C'est donc une maladie développementale.

Cette nécrose du cartilage de croissance, stade appelé *osteochondrosis latens* (Ytrehus *et al.*, 2007), peut avoir pour conséquence directe une perturbation du processus d'ossification endochondrale lorsque le front d'ossification rencontre le cartilage nécrotique au cours de sa progression. Il s'agit alors du stade *osteochondrosis manifesta*. Ce stade peut évoluer dans deux directions, soit la guérison spontanée via la résorption de la lésion, soit le stade *osteochondrosis dissecans*, caractérisé par la présence d'un volet cartilagineux se détachant parfois pour former un fragment libre dans l'articulation (Laverty et Girard, 2013) comme visible sur la Figure 17 ci-dessous. Malgré l'absence de consensus, de nombreux auteurs considèrent que les kystes sous chondraux font aussi partie des différentes formes d'OC (Nixon, 2012).

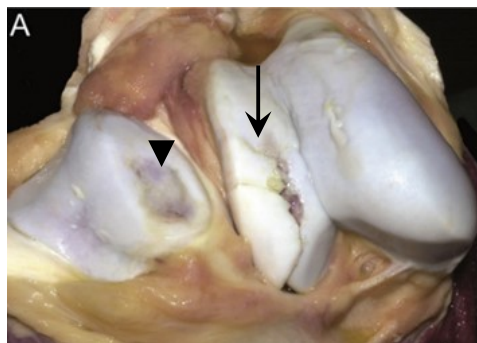


Figure 17 : OC de la crête latérale de la trochlée fémorale d'un poulain de 5 mois (flèche), d'après Laverty et Girard (2013) Un fragment important de cartilage ainsi qu'une lésion correspondant sur la patelle (tête de flèche) sont visibles ; la membrane synoviale est inflammatoire et épaissie.

L'OC est une affection présente chez les animaux en croissance, dans de multiples espèces (humaine, porcine, gallinacée, bovine et équine), pour lesquelles la présentation diffère quelque peu et l'impact clinique est variable (McCoy *et al.*, 2013).

Chez le cheval, les études sont pour la plupart rétrospectives. Elles montrent des résultats de prévalence globale variables : 44,3% pour Vos (2008), 50,7% pour Lykkjen *et al.* (2012), 67,5% pour Grevenhof *et al.* (2009) mais seulement 13% pour Jönsson *et al.* (2011). Les raisons pouvant expliquer ces différences sont, d'une part les différentes populations équinées étudiées mais aussi l'âge des animaux recrutés et les techniques diagnostiques utilisées (van Weeren, 2012). Autrefois considérée comme de l'OC, la maladie ostéochondrale palmaire ou « ostéochondrose traumatique » (Palmar Osteochondral Disease - POD en anglais) est dorénavant considérée comme une manifestation d'ostéoarthrose traumatique.

### **3.1.2 Présentation clinique et diagnostic**

La présentation clinique la plus fréquente consiste en une effusion articulaire, la boiterie n'est généralement constatée que lorsqu'un fragment libre ou partiellement libre est présent dans l'articulation (van Weeren, 2012). Le diagnostic est majoritairement radiographique mais l'échographie est un autre outil pertinent et complémentaire et qui parfois la surpasse dans l'exploration de l'OC chez le cheval, Relave *et al.* (2009) et Bourzac *et al.* (2009).

### **3.1.3 Physiopathologie**

Il s'agit d'une maladie multifactorielle : l'hérédité, la conformation anatomique, les traumatismes ou les déséquilibres alimentaires ont été identifiés comme facteurs prédisposant à l'OC (Lavery et Girard, 2013; Ytrehus *et al.*, 2007).

Plusieurs hypothèses sont retenues pour expliquer l'apparition de la maladie : la première explique l'OC par une nécrose ischémique du cartilage de croissance épiphysaire fragilisant le cartilage et empêchant le processus d'ossification endochondrale de progresser normalement (Ytrehus *et al.*, 2007) ; la seconde se base sur la fragilité du cartilage de croissance épiphysaire qui n'a pas les caractéristiques mécaniques du cartilage articulaire adulte, et ce d'autant plus que des biomarqueurs révèlent une altération du métabolisme du CII (un des constituants principaux du cartilage) chez les patients atteints (Lavery et Girard, 2013). Le remodelage cartilagineux qui a lieu lors de la vie fœtale (Lecocq *et al.*, 2008) pourrait aussi fragiliser le cartilage et expliquer l'apparition de lésions d'OC.



Des facteurs prédisposants ont aussi été identifiés : l'hérédité (0.07 à 0.32 pour le boulet d'après Distl (2013)), la conformation anatomique, les événements traumatiques ou les déséquilibres alimentaires (Laverty et Girard, 2013; Ytrehus *et al.*, 2007). Il reste encore cependant de nombreuses interrogations quant à la pathophysiologie de cette maladie complexe.

### **3.1.4 Hérité**

De nombreux travaux ont étudié l'héritabilité des fragments ostéochondraux chez le cheval (Hilla et Distl, 2014; Lykkjen *et al.*, 2013; Lykkjen *et al.*, 2014; Lykkjen *et al.*, 2012) mais peu se sont penchées sur les lésions de la crête sagittale du métacarpe. Pour les fragments ostéochondraux, l'héritabilité est faible à moyenne (0,21 à 0,48) (Hilla et Distl, 2014). L'héritabilité pour l'OC de la crête sagittale est faible également : 0,06 à 0,32 (Distl, 2013) (plus faible notamment que pour l'OC du grasset ou du jarret). La conséquence directe de ce constat est que le respect d'un plan de sélection ne permettra probablement pas de contrôler efficacement l'OC de la crête sagittale (Hilla et Distl, 2014).

### **3.1.5 Sites prédisposés**

L'OC est la plus fréquemment rencontrée au niveau des articulations suivantes : le tarse, le grasset (fémoro-patellaire) et le boulet. Au sein de chaque articulation, les localisations privilégiées de l'OC sont :

- Jarret (Dik *et al.*, 1999) :
  - Portion crâniale de la crête intermédiaire du tibia
  - Portion distale de la trochlée latérale du talus
  - Malléole médiale du tibia
- Grasset (Bourzac *et al.*, 2009; Dik *et al.*, 1999) :
  - Portion latérale de la trochlée fémorale
  - Moins fréquemment : partie médiale de la trochlée fémorale, trochlée axiale, partie distale de la patelle
- Boulet (Wright et Minshall, 2014) : portion dorsale de la crête sagittale du MCIII / MTIII

Il subsiste toujours un « flou » concernant l'appartenance de certaines lésions à l'OC comme les fragments dorso-proximaux de la phalange proximale ou les fragments ostéochondraux palmaires. Ces derniers sont considérés par certains auteurs (Denoix *et al.*, 2013; McIlwraith *et al.*, 2005; Ytrehus *et al.*, 2007) comme appartenant à l'OC alors que d'autres (van Weeren et Jeffcott, 2013), réfutent cette association.

Les lésions de la crête du MCIII sont par contre unanimement reconnues comme étant des lésions ostéochondrotiques (Denoix *et al.*, 2013; Nixon, 2012; Wright et Minshall, 2014).

### **3.1.6 Diagnostic**

L'OC de la crête est le plus souvent diagnostiquée chez des chevaux de 8 à 24 mois et peut être présente sur les quatre membres d'un même cheval (Nixon, 2012). La présentation clinique typique consiste en une effusion articulaire plus ou moins associée à une boiterie d'aspect variable et à un test de flexion du boulet généralement positif (McIlwraith, 2013; Nixon, 2012).

Quelle que soit leur localisation sur la crête, les lésions radiographiques sont classées en trois catégories :

*Tableau 1 : Classification radiographique des lésions d'OC du boulet, d'après McIlwraith et al. (2005)*

<b>Type I</b>	Seul un léger aplatissement ou défaut est visible
<b>Type II</b>	L'aplatissement ou défaut est associé à une fragmentation
<b>Type III</b>	Aplatissement ou défaut (+/- fragmentation) et présence d'un fragment libre

Les lésions kystiques sous chondrales (aussi considérées comme faisant partie de l'OC) sont retrouvées au niveau des zones de pression importante : condyles du MCIII ou proche de la fosse sagittale de P1 (Nixon, 2012).

### **3.1.7 Traitement**

Le traitement de l'OC du boulet dépend des lésions présentes : un traitement conservateur sera employé si aucun fragment n'est présent. Dans le cas contraire un traitement chirurgical par arthroscopie est conseillé (Nixon, 2012).

Pour les lésions de la crête sagittale, le traitement dépend, comme pour l'OC de manière générale, de la sévérité des lésions. Le traitement conservateur est conseillé pour les lésions de type I (cf. Tableau 1), avec un bon pronostic. Cependant, si les signes cliniques persistent, la chirurgie est conseillée (McIlwraith, 2013).

Pour les types II et III, l'arthroscopie est recommandée : curettage de la lésion jusqu'à l'os sous chondral sain et retrait du ou des fragment(s) libre(s).

Pour ces deux derniers types, le pronostic est moins bon que pour les lésions de type I, surtout si des lignes d'usure ou une érosion cartilagineuse sont présentes sur la première phalange (McIlwraith, 2013). Il est, dans ces deux cas, idéal d'opérer le plus rapidement possible avant l'apparition d'ostéoarthrose.

Pour tous types de lésions confondus, Richardson (2003) annonce un pronostic de 90% de chance de succès thérapeutique (conservateur ou chirurgical) pour l'OC du boulet.

Les lésions kystiques offrent quant à elles plusieurs alternatives thérapeutiques telles que les injections intra-articulaires de corticostéroïdes et d'acide hyaluronique (McIlwraith, 2013), un curettage par abord arthroscopique, un perçage trans-cortical sous contrôle fluoroscopique (Foerner *et al.*, 2006; Santschi, 2008; Santschi *et al.*, 2014) ou encore une greffe d'os spongieux, de chondrocytes ou de cellules souches mésenchymateuses agglomérées dans une colle de fibrine (Fortier et Nixon, 2005 ; Orved *et al.*, 2012).

### **3.2 Maladie ostéochondrale palmaire du boulet**

Il s'agit d'une affection fréquente chez le pur-sang jeune adulte (Nixon, 2012). Elle concerne la partie palmaire des condyles métacarpiens ou métatarsiens. Cette maladie a été premièrement considérée comme étant une manifestation d'ostéochondrose dissécante (Hornof *et al.*, 1981). Elle a ensuite été appelée ostéochondrose traumatique (Pool, 1996) mais est dorénavant reconnue comme étant de l'arthrose de surcharge/traumatique : elle se développe secondairement à de nombreux traumatismes répétitifs chez le cheval athlète (Barr *et al.*, 2009; Nixon, 2012).

### 3.2.1 Physiopathologie et caractéristiques lésionnelles

Cette maladie est, en partie, le fruit de la biomécanique extrême du boulet (cf. paragraphe 2.9.2 p. 22). En effet les lésions sont localisées au niveau de la zone de contacts des os sésamoïdes proximaux avec les condyles métacarpiens ou métatarsiens. Lors de l'appui, à haute vitesse, se produit une hyper-extension du boulet, l'appareil suspenseur est alors très sollicité et plaque avec force les sésamoïdes proximaux sur le MCIII/MTIII (Figure 18) (Harrison *et al.*, 2010).

Une composante vasculaire a aussi été suspectée par Alber *et al.* (2014); cette équipe a en effet montré que la perfusion de la partie palmaire des condyles est inférieure à celle de la partie dorsale ce qui pourrait diminuer la résistance ou la régénération de cette même zone. Cependant, leur étude ne démontre pas l'existence d'un lien de causalité entre leurs observations et la maladie ostéochondrale palmaire.

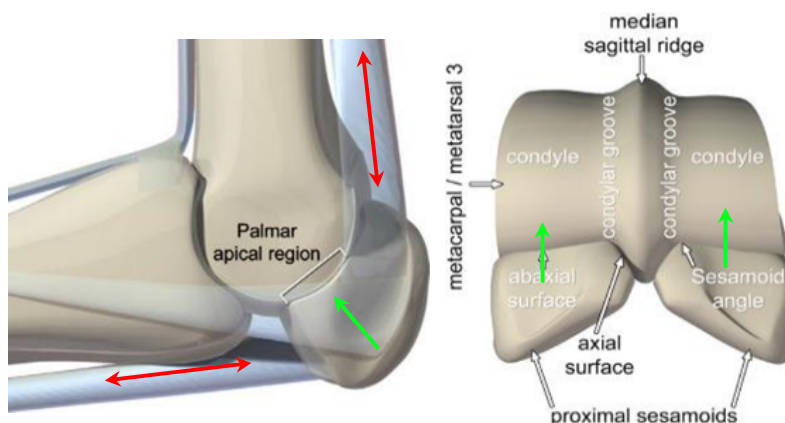


Figure 18 : Biomécanique du boulet : phase d'hyperextension

Lors de l'hyperextension du boulet, les forces majeures de traction (flèches rouges) dans l'appareil suspenseur se répercutent en forces de pression (flèche verte) entre les sésamoïdes proximaux et la partie palmaire des condyles métacarpiens, adapté d'après Santschi (2008)

Ces forces importantes appliquées de manière répétée lors de l'entraînement et de la course entraînent l'apparition de micro-fractures du cartilage calcifié et de l'os sous chondral (Bani Hassan *et al.*, 2016). En réponse à ces contraintes, l'os se modèle en augmentant sa fraction osseuse via le dépôt d'os néoformé sur les trabécules existantes (Muir *et al.*, 2008). Cependant, les micro-fractures existantes ne sont pas réparées car les contraintes trop fréquentes et/ou trop intenses liées à la pratique inhibent le remodelage physiologique de l'os permettant normalement de réparer ces lésions (Martig *et al.*, 2014; Martig *et al.*, 2013 ; Muir *et al.*, 2006; Whitton *et al.*, 2013). Ces anomalies, lorsqu'elles s'accumulent, conduisent à l'effondrement de l'os et la fragilisation du cartilage articulaire associé (Boyde *et al.*, 2011; Norrdin et Stover, 2006; Turley *et al.*, 2014), comme pour les autres lésions d'OA de surcharge, chez le cheval comme chez l'homme (Bertuglia *et al.*, 2015; Boyde *et al.*, 2014; Lacourt *et al.*, 2012).

La mise au repos permet la réactivation du remodelage et donc ainsi la réparation des micro-fractures. Il est donc important que le retour à l'exercice ne soit pas trop rapide (> 3 mois idéalement) car l'os en remodelage actif est particulièrement fragile et des lésions plus sévères que les lésions initiales peuvent apparaître si l'entraînement est repris trop rapidement (Hernandez *et al.*, 2006; Taylor *et al.*, 2004 ).

Les lésions macroscopiques de la surface articulaire sont variables et reflètent uniquement les derniers stades de la maladie (Pinchbeck *et al.*, 2013) :

- Grade I : Contusions de l'os sous chondral visibles à travers le cartilage articulaire (Figure 19, B) plus ou moins associées à une érosion cartilagineuse légère au niveau des condyles
- Grade II : Contusions importantes de l'os sous chondral, progression de l'érosion du cartilage articulaire : lignes d'usure et fibrillation, la crête sagittale est touchée (Figure 19, C)
- Grade III : Dégradation importante du cartilage articulaire, présence d'ulcérations, formation de cavités ou de fractures dans l'os sous chondral et parfois trabéculaire (Figure 19, D & E), collapsus de la surface articulaire, parfois présence de fracture condyloaire (Figure 19, F)

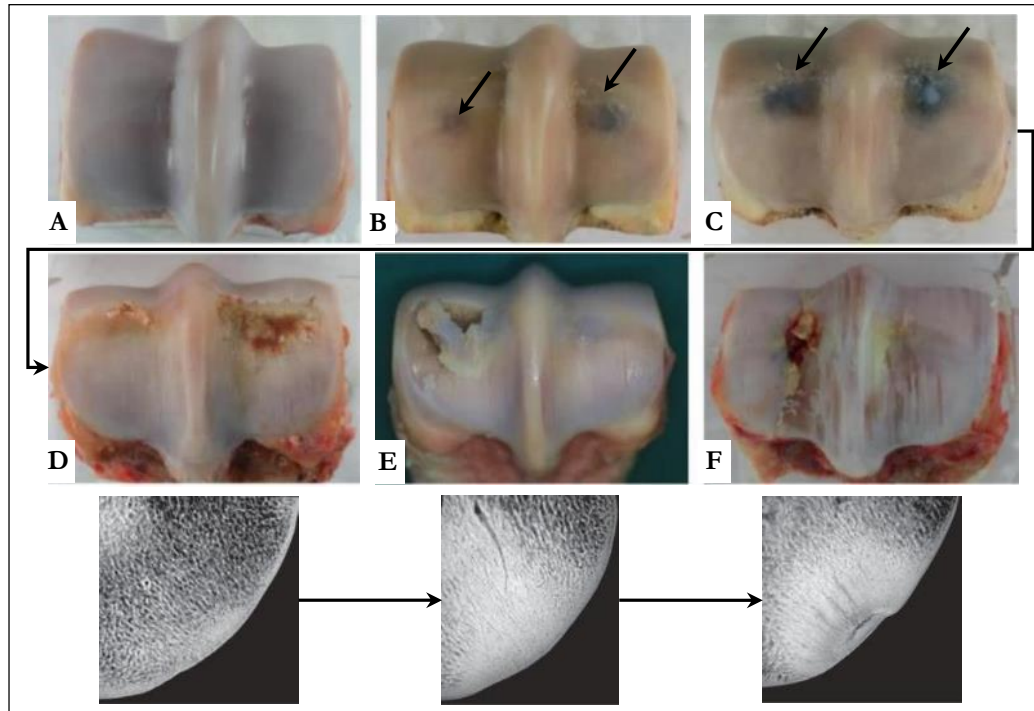


Figure 19 : Illustration des lésions caractéristiques de la maladie ostéochondrale palmaire  
 Photographies post-mortem montrant les lésions osseuses et cartilagineuses et microradiographies para-sagittales montrant la sclérose et la  
 nécrose de l'os sous-chondral. A : sain, B : grade I, C : grade II, D à F : différents grade III  
 Microradiographies : Pr. A. Boyde & photographies : Riggs et Pilsworth (2014)

### 3.2.1 Diagnostic et traitement

Les premiers stades de la maladie sont accompagnés de signes cliniques aspécifiques : boiterie bilatérale légère chez les chevaux de course, inconstante et parfois associée à un test de flexion légèrement positif et à une inflammation légère. Les stades avancés montrent, eux, une boiterie franche (Nixon, 2012).

La radiographie ne permet pas d'identifier les premiers stades de la maladie et pour améliorer la sensibilité de cet examen, il est recommandé de réaliser des vues obliques (Figure 20). Une vue dorso-palmaire en flexion ou une vue latéro-médiale permettent également de voir les lésions sous chondrales lorsque la maladie est au stade avancé (Nixon, 2012; O'Brien *et al.*, 1981).



Figure 20 : Radiographie du boulet d'un cheval atteint d'ostéochondrose traumatique  
Incidence dorsale 45° proximale 45° latérale-plantaro-disto-médiale oblique, zone radio-transparente compatible avec une nécrose focale de l'os sous chondral (flèche), d'après Riggs et Pilsworth (2014).

Souvent compliquée d'OA, il est fréquent de constater les signes radiographiques caractéristiques de la maladie secondaire : ostéophytes, entésophytes, sclérose sous chondrale générale et distension articulaire (Nixon, 2012).

La scintigraphie est un outil diagnostique sensible pour cette maladie mais malheureusement peu spécifique car il est parfois difficile de différencier un remodelage osseux naturel, en réponse à l'exercice, de la maladie ostéochondrale. Elle a pour avantage d'explorer l'intégralité du squelette en un seul examen mais son coût, son manque de spécificité et les contraintes en termes de radioprotection réservent cette modalité aux patients pour lesquels les autres examens n'apportent pas les réponses souhaitées.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou la tomodensitométrie nécessitent une anesthésie générale mais sont très utiles afin de mieux caractériser la maladie ou la détecter dans les premiers stades. L'IRM renseigne sur les lésions cartilagineuses et des tissus mous de manière générale alors que la tomodensitométrie évalue principalement les tissus osseux (bien que l'IRM puisse aussi en évaluer certains aspects). L'IRM réalisée sur le cheval debout s'est révélée plus sensible que la radiographie pour la détection de la maladie ostéochondrale palmaire (Powell, 2012; Zubrod *et al.*, 2004). Les lésions sont aussi visibles via l'utilisation d'IRM haut champ (1.5 T ou plus) et il est possible d'évaluer l'épaisseur du cartilage articulaire et son érosion ainsi que les lésions de l'os sous chondral (Olive *et al.*, 2010a; Olive *et al.*, 2010b).

La détection précoce permet d'initier le traitement plus rapidement et d'ainsi améliorer le pronostic. En effet, le traitement est très limité : l'accès chirurgical à la zone est difficile et très peu d'outils thérapeutiques sont disponibles pour traiter ce type de lésions (Nixon, 2012). Le repos est indiqué mais le pronostic reste réservé, la boiterie reprenant la plupart du temps rapidement avec l'exercice, avec une rechute des performances associée (Tull et Bramlage, 2011).

### **3.3 Fractures condyliaires**

#### ***3.3.1 Épidémiologie***

La fracture para-sagittale du condyle métacarpien ou métatarsien est une des fractures les plus fréquentes chez le cheval de course jeune adulte (à partir de 2-3 ans) (Parkin, 2008). Parfois qualifiée de fracture spontanée, elle apparaît, en l'absence d'événement traumatique majeur pour l'expliquer, lors de courses, d'entraînement à haute vitesse ou peu après ceux-ci.

Ces fractures peuvent être latérales ou médiales et parfois bilatérales, elles sont souvent localisées au niveau du sillon parasagittal palmaire (Firth *et al.*, 2009; Richardson, 2012). Chez le pur-sang anglais c'est la localisation latérale qui est la plus fréquente (Parkin *et al.*, 2006), le membre thoracique est le membre le plus atteint (77,8% pour Ramzan *et al.* (2015), 59,8% pour Jacklin et Wright (2012)) alors que chez le trotteur, les fractures condyliaires latérales sont observées aussi bien sur les membres thoraciques que pelviens (Richardson, 2012). Certaines études révèlent une prévalence plus élevée à droite sans pouvoir l'expliquer (Parkin *et al.*, 2006).

Les facteurs de risque identifiés sont notamment : un entraînement ne comportant pas ou peu de phases de galop, un entraînement trop intensif, un cheval débutant les courses à 3 ou 4 ans, les courses longues et sur terrain ferme ou irrégulier (Parkin *et al.*, 2005; Parkin, 2008; Stover, 2003; Whitton *et al.*, 2010). Dans les cas de fractures unilatérales, les lésions osseuses (micro-fractures) du sillon parasagittal sont tout de même souvent bilatérales voire présentes sur les quatre membres.

#### ***3.3.2 Physiopathologie***

Concernant la physiopathologie de ces fractures, tout n'est pas encore parfaitement établi. Cependant, l'accumulation de micro-fractures au niveau du sillon parasagittal dans le cartilage calcifié et dans l'os sous chondral semble être à l'origine de ces lésions (Parkin *et al.*, 2006; Rubio-Martinez *et al.*, 2010; Stepnik *et al.*, 2004; Trope *et al.*, 2015; Turley *et al.*, 2014; Whitton *et al.*, 2010).



On rencontre cette affection chez le cheval athlète chez qui l'exercice intensif a pour conséquence une adaptation de l'os appelée modelage qui consiste en un épaissement des trabécules via le dépôt d'os néoformé sur les trabécules existantes (Firth, 2006; Whitton *et al.*, 2010). Cette réponse physiologique de l'os permet de le rendre plus résistant aux contraintes mécaniques. Ce modelage a lieu tout particulièrement dans les zones exposées aux forces les plus élevées (Boyde et Firth, 2005) comme par exemple les portions médiale et latérale du condyle métacarpien distal (Harrison *et al.*, 2014).

Simultanément, le phénomène de fatigue osseuse entraîne l'apparition, elle aussi physiologique, de micro-fractures. En effet, l'os est capable d'endurer un nombre fini de cycles de charge avant rupture comme cela a été montré *in vitro* (Dubois *et al.*, 2014; Firth *et al.*, 2009; Martig *et al.*, 2014). Ce nombre limité de cycles est inversement lié à la charge appliquée à chaque cycle et à l'écart entre l'angle physiologique d'application de la charge et l'angle avec lequel elle est effectivement appliquée (Dubois *et al.*, 2014).

Le remodelage est, dans des circonstances normales, capable de compenser cette fatigue et les micro-fractures secondaires, en remplaçant l'os lésé par de l'os sain via l'action synchrone du couple ostéoclaste-ostéoblaste.

Cependant, lorsque l'exercice est très intense, ce remodelage est affecté et ne parvient pas à compenser l'apparition de nouvelles micro-fractures qui vont alors s'accumuler et fragiliser l'os (Holmes *et al.*, 2014; Martig *et al.*, 2014; Whitton *et al.*, 2010). L'augmentation concomitante de la charge de chaque cycle et du nombre de cycles appliqués alors que le remodelage osseux est potentiellement altéré augmente la probabilité d'apparition de fracture condylienne (Muir *et al.*, 2006).

On considère à l'heure actuelle que les fractures condyliennes sont des fractures de stress liées à l'exercice trop intense qui résultent à la fois de l'accumulation rapide de ces micro-lésions (Riggs, 1999; Riggs *et al.*, 1999a ; Whitton *et al.*, 2010 ) et de l'altération du remodelage osseux ne permettant pas de compenser l'apparition de ces micro-lésions (Bertuglia *et al.*, 2015; Whitton *et al.*, 2010 ).

L'autre hypothèse, qui n'est pas incompatible avec celle précédemment décrite, est que le remodelage fragilise l'os localement lors de sa première étape de résorption ostéoclasique. Cette résorption diminue la résistance osseuse localement et entraîne l'apparition de micro-fractures là où le remodelage est en cours (Bertuglia *et al.*, 2015; Lacourt *et al.*, 2012; Whitton *et al.*, 2010) (Figure 21). Certains auteurs pensent également que le modelage focal de l'os sous-chondral (Boyde et Firth, 2005 ; Rubio-Martínez *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2004 ) agit aussi comme facteur prédisposant en créant des différences de rigidité au sein du MCIII distal et concentrant ainsi les contraintes de cisaillement au site de fracture.

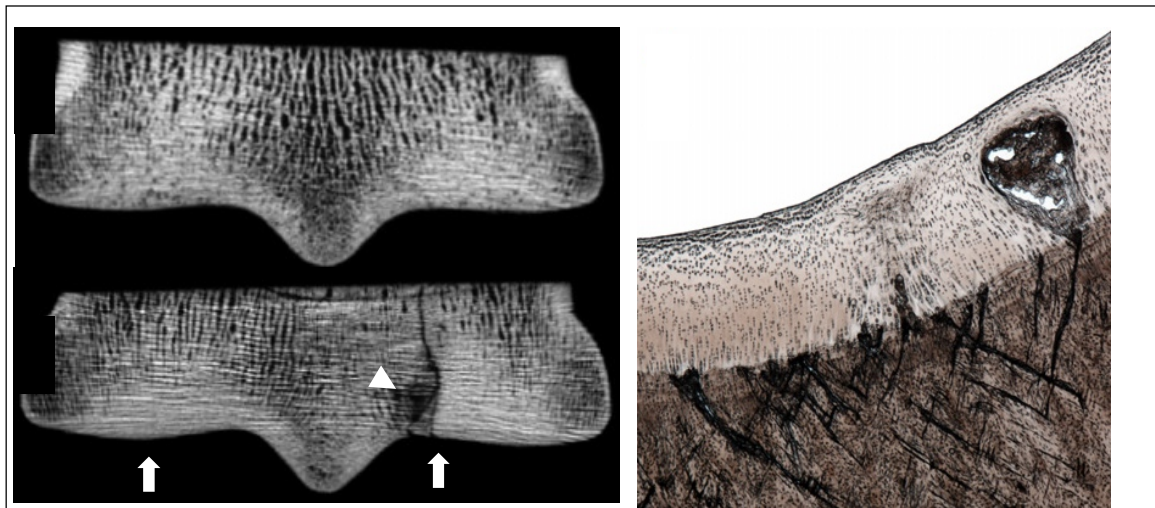


Figure 21 : Illustration des modifications osseuses liées à l'entraînement intensif chez le cheval de course. En haut à gauche : cheval non entraîné, en bas à gauche : fracture condylienne associée à une densification générale de l'os sous chondral (flèches) excepté au niveau du site de fracture (tête de flèche). Images 1 & 2 : images HR-pQCT de MCIII, d'après Whitton *et al.* (2010) ; Image 3 : Lésion sévère dans le cartilage du sillon parasagittal latéral (Turley *et al.*, 2014)

Le travail de Firth *et al.* (2009) soulève d'ailleurs une question intéressante sur l'aspect développemental de cette maladie et justifie son étude chez des poulains nouveaux nés. Ils ont en effet relevé la présence de zones radiotransparentes au niveau du sillon parasagittal chez des jeunes poulains n'ayant pas encore commencé l'entraînement. Ces anomalies pourraient être des signes précoces de fracture condylienne (Firth *et al.*, 2009).

Concernant la relative homogénéité des configurations de ces fractures condyliques : on sait depuis les premières dissections que l'os trabéculaire est structurellement anisotrope. En 1892, Julius Wolff énonce la loi, portant son nom, qui dit que cette anisotropie trabéculaire est intimement liée et secondaire aux contraintes mécaniques s'appliquant sur l'os (Wolff, 1892). Depuis, le modèle mathématique de cette loi a été critiqué (Skedros et Baucom, 2007) mais les observations générales ont tout de même été maintes fois vérifiées (Barak *et al.*, 2011; Biewener *et al.*, 1996; Boyle et Kim, 2011; Jang et Kim, 2008; Tsubota *et al.*, 2009).

Cette anisotropie a, sans surprise, été constatée au niveau du MCIII chez le cheval (Boyde et Firth, 2005; Boyde *et al.*, 1999; Ellis, 1994; Leahy *et al.*, 2010; Parkin *et al.*, 2006; Trope *et al.*, 2015). Plus spécifiquement, Boyde *et al.* (1999) ont observé un accroissement de cette anisotropie structurelle avec l'âge de l'animal ainsi qu'avec l'éloignement de la surface articulaire. Contrairement à la plaque sous chondrale compacte, relativement isotrope, l'os trabéculaire épiphysaire (et diaphysaire) possède une structure orientée. Cette anisotropie structurelle consiste en un alignement des trabécules dans le plan sagittal. Fait intéressant, les observations de cette même équipe (Boyde *et al.*, 1999) révèlent que le plan de clivage des fractures condyliques est parallèle avec la direction prédominante des trabécules, *i. e.* le plan parasagittal. Cela suggère que l'alignement parallèle des trabécules puisse engendrer une fragilité au sein de l'os trabéculaire et expliquer le plan de clivage caractéristique de ces fractures comme illustré dans la Figure 22.

Les fractures seraient donc au départ la conséquence d'une fragilisation du cartilage calcifié et de la plaque sous chondrale, jouant le rôle d'amorce de fracture qui pourrait ensuite se propager selon le plan de moindre résistance *i. e.* dans le plan sagittal, parallèlement à la direction prédominante des trabécules (Riggs, 1999).

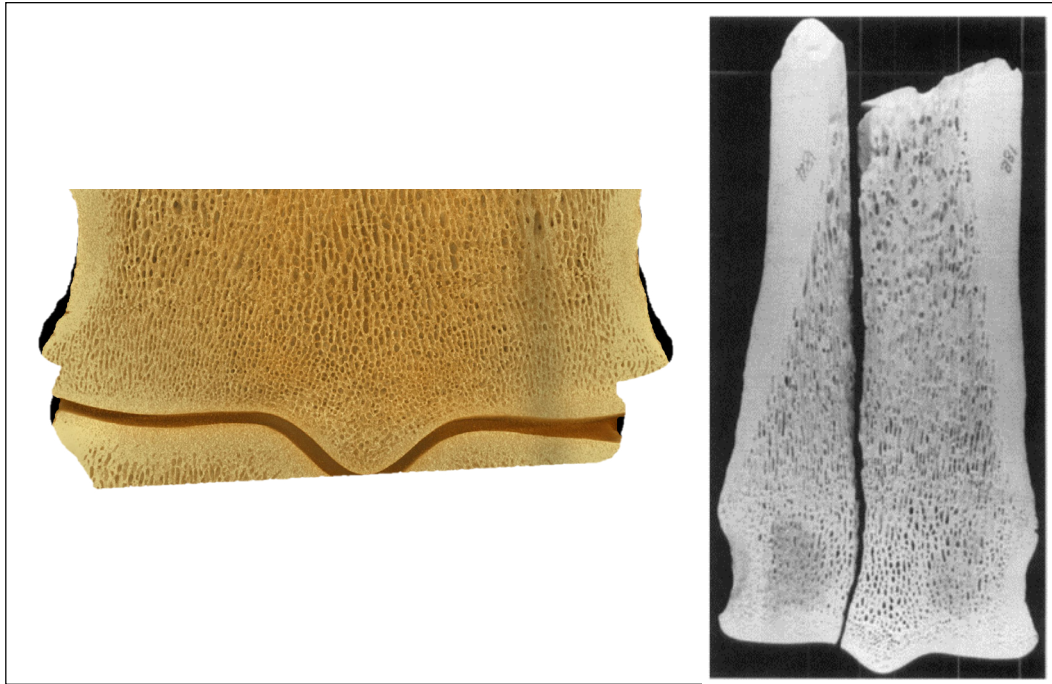


Figure 22 : Anisotropie trabéculaire du MCIII distal et plan de clivage des fractures condylières  
 A gauche : image obtenue par micro-tomodensitométrie d'une section frontale de MCIII distal (incluant la portion proximale de la phalange proximale) illustrant l'architecture trabéculaire, à droite : face dorsale d'une section frontale de MCIII distal atteint d'une fracture condylière (Boyde et al., 1999), on remarque la correspondance entre le plan de fracture et l'orientation des trabécules.

### 3.3.3 Diagnostic

Avant l'apparition d'une boiterie sévère, les chevaux peuvent présenter des prodromes et notamment une boiterie discrète (Richardson, 2012). Cette boiterie sera d'apparition brutale et franche (avec suppression d'appui) pour les fractures complètes ou déplacées mais les signes cliniques peuvent demeurer discrets pour les fractures incomplètes (Richardson, 2012). Le plus fréquemment, les chevaux atteints présentent un test de flexion positif et un gonflement de l'articulation léger à important en fonction de la gravité de la fracture (Bassage Ii, 2014).

Le diagnostic peut être complexe si la fracture est courte, mono-corticale et non déplacée (Bassage Ii, 2014). Dans ce contexte, la radiographie ne permettra pas toujours d'établir le diagnostic de fracture. Dans l'étude de Ramzan *et al.* (2015) notamment, 77.8% des diagnostics de fracture unicorticale furent obtenus par radiographie. Les autres cas (23.2%) ont nécessité l'emploi de l'IRM ; dans celle de Powell (2012), 35.8% des fractures diagnostiquées au niveau du boulet par IRM n'étaient pas détectables par radiographie.

Par contre, le diagnostic clinique et radiographique est trivial dès lors que la fracture est longue et déplacée. La caractérisation radiographique de la fracture sera cependant capitale afin de planifier la chirurgie et pour donner un pronostic au propriétaire (Richardson, 2012). Le pronostic peut être très variable selon la configuration de la fracture. La tomодensitométrie n'est souvent pas nécessaire au diagnostic mais permet dans certains cas de mieux évaluer l'extension d'une éventuelle fissure diaphysaire ou une fracture des os sésamoïdes proximaux parfois associée et peu visible en radiographie (Morgan *et al.*, 2006), voir Figure 23 ci-dessous.

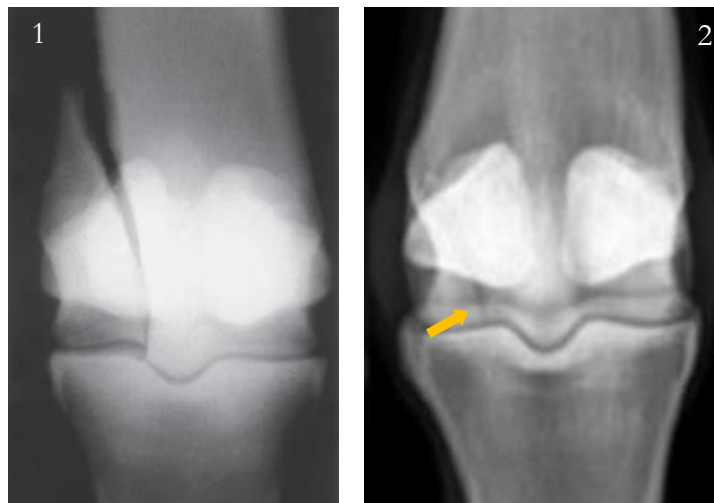


Figure 23 : Fracture complète déplacée (1) et incomplète non déplacée (2) du condyle latéral du MCIII  
d'après 1 : Bassage Ii (2014) 2 : Richardson (2012)

### 3.3.4 Traitement

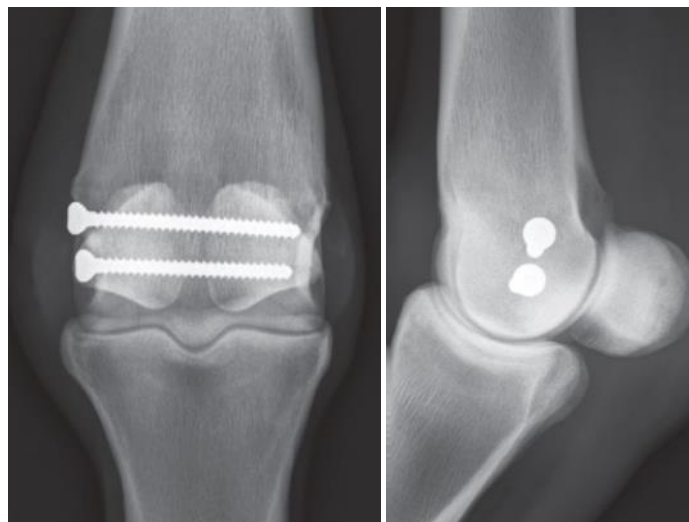
Si la fracture condylienne est suspectée, l'inspection par imagerie de la diaphyse de MCIII/MTIII est nécessaire car la lésion peut s'étendre proximale et changer radicalement la prise en charge de l'animal et le pronostic, surtout pour les fractures médiales (Richardson, 2012).

- Fractures du condyle latéral

Le traitement conservateur n'est pertinent que lorsque la fracture est incomplète et non déplacée (Bassage Ii, 2014). Dans le cas contraire, un traitement chirurgical s'impose (Richardson, 2012).

Pour les fractures latérales, le traitement de choix consiste à la réduction minimalement-invasive par pose de vis inter-fragmentaires en compression sous contrôle fluoroscopique (Figure 24). Si la fracture est déplacée, il est essentiel de veiller à la réduction appropriée de la fracture. Tout défaut de réduction concernant une fracture articulaire a des conséquences graves et entraîne le développement d'une ostéarthrose précoce et sévère. Il est donc dans ce cas capital de contrôler arthroscopiquement la réduction anatomique (Richardson, 2012), voir Figure 24 ci-dessous.

Le pronostic pour les fractures condylières latérales non déplacées est bon : 61 à 93% des chevaux courent avec succès après intervention (Ramzan *et al.*, 2015). Si la fracture est déplacée, le pourcentage de réussite de la chirurgie diminue: 18 à 48% de chevaux seront à même de courir. Il en est de même si une fracture de l'os sésamoïde ipsilatéral est présente. De manière générale le pronostic est meilleur pour une fracture du MCIII que du MTIII (Bassage Ii, 2014).



*Figure 24 : Radiographies post-opératoires d'une fracture métacarpienne condylière latérale Réduction par 2 vis inter-fragmentaires posées en compression, Images : Richardson (2012)*

- Fractures du condyle médial

Les fractures du condyle médial ont des configurations souvent différentes des localisations latérales (Jacklin et Wright, 2012; Riggs *et al.*, 1999a; Zekas *et al.*, 1999a). Il est en effet fréquent que le trait de fracture s'étende proximale sur la diaphyse (fracture spiroïde ou rectiligne, voir Figure 25) en raison de l'orientation différente des trabécules et de la façon dont elles sont connectées avec l'os cortical en région médiale (Boyde, 1999). Si ce n'est pas le cas et que l'on se trouve dans la configuration décrite pour les fractures latérales, le même traitement pourra être appliqué. Si par contre la diaphyse est affectée, le traitement sera différent : de nombreuses vis interfragmentaires devront être posées, voire une plaque « Dynamic Compression Plate » ou « Locking Compression Plate » en fonction de la configuration de la fracture et de la réduction obtenue (Richardson, 2012). Le pronostic est moins bon car le patient présente un risque important de fracture catastrophique notamment au réveil.



*Figure 25 : Fracture para-sagittale métatarsienne  
Celle-ci affecte le condyle médial et le tiers distal de la diaphyse - Image : Richardson (2012)*

## 4 Méthodes histologiques employées dans notre investigation

L'histologie, malgré l'avènement de nouvelles techniques d'imagerie médicale, reste une technique prépondérante dans l'étude des maladies orthopédiques, tant pour le cartilage que pour l'os. C'est la raison pour laquelle une brève description des techniques habituelles est faite ci-dessous.

### 4.1 Fixation

La fixation au formaldéhyde 10% est la plus répandue, cependant toutes les études ne sont pas unanimes à son sujet. Selon certains, elle ne permet pas d'éviter la fuite d'une partie des PGs, qui sont des molécules solubles, alors que selon d'autres il s'agit d'une méthode adéquate (Kiviranta *et al.*, 1984).

### 4.2 Coloration Safranin O fast green

La coloration Safranin-O-Fast-Green (SOFG) permet d'évaluer la quantité de PGs dans le cartilage. En effet, ce colorant se fixe spécifiquement sur les acides polysaccharidiques carboxylés ou sulfatés présents sur cette famille de molécules (Horvai, 2011; Rosenberg, 1971). Cette fixation est stœchiométrique pour Safranin O seul, mais il y a probablement compétition lorsque l'association SOFG est utilisée (Hyllested *et al.*, 2002). Cette coloration n'est donc pas utilisable de façon fiable pour une évaluation quantitative précise des PGs mais seulement pour une appréciation semi-quantitative estimée de ces derniers (Hyllested *et al.*, 2002). Les PGs sont colorés en rouge par la coloration SOFG et les os en bleu.



## *Hypothèses et objectifs*

Cette revue de littérature illustre les lacunes persistantes concernant l'étiopathogénèse des CF. Le fait que ces maladies soient précoces chez le cheval de sport amène à s'interroger sur la potentielle composante développementale et structurelle de cette maladie.

Ce travail a donc pour but, via l'étude histologique de MCIII de poulains nouveau-nés et de chevaux d'âge variable à l'entraînement, de rechercher des différences structurelles pouvant prédisposer à cette maladie.

Ceci nous a amené à formuler les hypothèses suivantes :

1. Des variations présentes dans la microarchitecture de l'os sous chondral du MCIII distal du cheval pourraient prédisposer aux CF latérales
2. Ces différences pourraient être présentes dès la naissance.

Pour tester ces hypothèses les objectifs suivants ont été formulés :

1. Décrire et caractériser la microarchitecture du MCIII distal au niveau du sillon parasagittal palmaire et dorsal ainsi qu'au niveau de la portion latérale du condyle à la fois palmaire et dorsale
2. Décrire l'évolution de cette microarchitecture avec l'âge et l'entraînement chez des groupes de chevaux d'âge variable
3. Comparer la microarchitecture du sillon parasagittal (le site prédisposé aux CF) à la portion latérale du condyle (un site contrôle).

# *Article*

*Title*

**DIFFERENCES IN THIRD METACARPAL BONE TRABECULAR MICROARCHITECTURE AT THE PARASAGITTAL GROOVE AND CONDYLE IN NEONATAL FOALS AND IN ADULT RACEHORSES**

*Authors*

N. Anne-Archard<sup>1</sup>, G. Martel<sup>1</sup>, U. Fogarty<sup>2</sup>, H. Richard<sup>1</sup>, G. Beauchamp<sup>3</sup>, S. Laverty<sup>1</sup>

*Affiliations*

1. Comparative Orthopedic Research Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal
2. Irish Equine Centre, Johnstown, County Kildare, Ireland
3. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal

*Key words*

Equine, Condylar Fracture, Fetlock, Trabecular Bone, Histomorphometry

*Funding sources*

Sheila Laverty's Comparative Orthopedic Research Laboratory is currently funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and also by a donation from Mr and Mrs John Magnier, Coolmore Stud, Fethard, Co Tipperary, Ireland.

## INTRODUCTION

Third metacarpal bone (MCIII) condylar fractures are a common orthopaedic injury in racehorses (Bassage *et al.*, 2014; Parkin *et al.*, 2004a, b; Parkin *et al.*, 2006; Zekas *et al.*, 1999a, b) and occur most frequently in the lateral parasagittal groove, at the junction of the condyle and the median sagittal ridge (Jacklin *et al.*, 2012; Parkin *et al.*, 2006; Rick *et al.*, 1983). Risk factors include intensive training (Whitton *et al.*, 2010) and racing on firmer than good-firm racetrack surfaces (Parkin *et al.*, 2005; Stover, 2003).

The subchondral bone of the distal metacarpus is composed of a subchondral plate that overlies a trabecular network of parallel plates interconnected with struts (Martig *et al.*, 2014). Subchondral bone strength is determined by bone quantity and quality including microarchitecture (Ammann *et al.*, 2003; Mittra *et al.*, 2005; Seeman *et al.*, 2006). Trabecular microarchitecture is modified by mechanosignals (Huiskes *et al.*, 2000) that align the trabeculae to the peak loading direction (Barak *et al.*, 2011; Boyde *et al.*, 2005) for maximal resistance (Wolff, 1892). Direct deposition of new bone in response to the cyclic loads of training thickens the trabeculae (Cornelissen *et al.*, 1999; Firth *et al.*, 1999a) and increases the subchondral bone fraction (Boyde *et al.*, 2005; Firth *et al.*, 1999b; Murray *et al.*, 2001; Noble *et al.*, 2016).

Microcracks occur in healthy bone as part of normal wear and tear. Microcracks are repaired by a targeted remodelling process that includes osteoclastic resorption where osteoclasts erode the bone surfaces (Bertuglia *et al.*, 2015; Lacourt *et al.*, 2012). However, microcracks may accumulate at specific locations in the bones of racehorses because of the excessive loads sustained during training and racing in combination with incomplete repair (Muir *et al.*, 2006). Small amounts of microscopic bone damage and osteoclastic resorption are associated with large reductions in a trabecular bone's Young's modulus, yield strength and fatigue life (Goff *et al.*, 2015; Hernandez *et al.*, 2014) and potentially lead to a complete fracture (Lacourt *et al.*, 2012; Norrdin *et al.*, 2006; Stover *et al.*, 1992). Microcracks have been identified in the parasagittal groove of the equine MCIII, where condylar fractures arise, and are considered to play a role in fracture initiation (Cruz *et al.*, 2008; Dubois *et al.*, 2014; Muir *et al.*, 2006; Riggs *et al.*, 1999a; Stepnik *et al.*, 2004; Whitton *et al.*, 2010).

Surprisingly, neither age, years in racing nor career race starts are associated with the degree of damage in the parasagittal grooves of equine MCIII's (Parkin *et al.*, 2006). Furthermore, metacarpal condylar fractures also occur in 2-year-old Thoroughbreds within the first 2 months of commencing training, prior to extensive subchondral bone adaptation. Taken together, these findings suggest that defects or pathological changes may already be present in the metacarpal parasagittal groove at the onset of their racing career. Recently, defects (Boyde et Firth, 2008; Doube *et al.*, 2010a) and radiolucencies (Firth *et al.*, 2009) have been identified in the calcified tissues in the palmar/plantar parasagittal MCIII grooves obtained from young untrained racehorses. The investigators speculated that condylar fractures in young racehorses may be due to an abnormality in development of the bone that is present before athletic activity begins (Firth *et al.*, 2009). Together, these studies suggest that there may be some early underlying developmental predisposition, maladaptation, or pathology at the parasagittal groove site in the equine metacarpal condyle, prior to undergoing the strains of training and racing, that may predispose it to later injury and bone failure at this site.

We hypothesized that subregional variations in subchondral bone trabecular microarchitecture may render the equine distal metacarpus vulnerable to condylar fractures at specific sites and that some of these differences are already present at birth.

The objectives of this investigation were 1) to describe and characterize the trabecular bone microarchitecture of the distal MCIII dorsal and palmar parasagittal groove and condyle in a group of newborn foals, 2) to describe regional trabecular bone architecture adaptation with maturation and athletic activity and 3) to compare the bone parameters measured at the parasagittal groove fracture-predilected site and at the lateral portion of the condyle.

## MATERIALS AND METHODS

The study protocol was approved by the institutional Animal Care and Use Committee and respected the guidelines of both the Canadian Council on Animal Care and the ARRIVE project (Kilkenny *et al.*, 2014).

*Neonatal foal metacarpal specimens:* To investigate neonatal trabecular bone architecture prior to major prolonged weightbearing events we employed distal MCIII of neonatal foals that were previously banked from cadavers for an investigation of joint development (Martel *et al.*, 2016a; Martel *et al.*, 2016b). One limb was included from each animal. The MCIII were from osteochondrosis predisposed (n=5) and control foals (n=3) as previously described (see Martel *et al.* (2016b) and Table 1). The specimens were wrapped in a wet gauze and stored in sealed plastic bags at -20°C until processed. Following a thaw, the MCIII were dissected free from soft tissues and fixed and stored in formalin for 24 hours until slab section and decalcification (in 15% EDTA).

*Metacarpal specimens to investigate adaptation to maturation and athletic activity:* MCIII of weanlings, yearlings and racehorses (n = 16 – Table 1), obtained following necropsy examination or collected from an abattoir, were harvested and dissected free from soft tissues and fixed and stored in formalin until processed. The osteochondral slabs were cut within already fixed bones and decalcified with formic acid (10%).

### Sample processing

The lateral hemi-metacarpus was selected for study as this is the site where the majority of fractures arise (Parkin *et al.*, 2006). Dorsal and palmar coronal osteochondral slabs were cut in the lateral condyle of each MCIII from all specimens included in the study (Fig. 1). The blocks were designed to incorporate the parasagittal groove, where the majority of metacarpal condylar fractures have been identified in racehorses (Goodrich *et al.*, 2014; Jacklin et Wright, 2012; Parkin, 2008; Parkin *et al.*, 2006; Parkin *et al.*, 2004c; Ramzan *et al.*, 2015; Whitton *et al.*, 2010) and the condyle, thereby permitted a comparison of the fracture-predilected site with rarely, or never affected sites, in the rest of the condyle. All the slabs were embedded in paraffin and sections (4.5 µm) were cut with a microtome (Leica/Reichert-Jung 2050) and stained with Safranin-O fast-green (Bertuglia *et al.*, 2015) to provide a good contrast between cartilage (red) and bone (blue).

## **Digital Image acquisition and analysis**

The histological sections were viewed with both bright field and polarized light microscopy and digitalized (Leica DM4000B microscope coupled with an Allied Vision Prosilica GT1920C camera and Panoptiq software - magnification: x25) for further image processing and analysis with Fiji software (Schindelin *et al.*, 2012). Polarized light was employed to enhance the contrast between trabeculae and the soft tissue components of the bone (Fig. 1). When a large blood vessel was observed, precluding a complete analysis, an additional section of the same sample was cut and processed instead. All the digital images were converted into 8-bit greyscale for processing (Fig. 1), thresholded and binarized. The trabecular-pixel values were set to 255 and other pixel values were set to 0 (Doube *et al.*, 2010b).

Four regions of interest (ROIs: 7 x 7mm) were investigated: the dorsal and palmar subregions of the lateral parasagittal groove, the most common origin of condylar fractures (Jacklin et Wright, 2012) and the dorsal and palmar subregions of the lateral condyle, that served as internal controls (Fig. 1 and supplementary figure S1 on line). The dorsal and palmar regions were also selected because of different loading conditions at these sites (Harrison *et al.*, 2014).

## **Bone microarchitecture parameters**

Parameters of bone quantity and quality, known to play a major role in bone strength (Ammann et Rizzoli, 2003; Mitra *et al.*, 2005; Seeman et Delmas 2006) were measured on the digital images to describe and compare the trabecular bone microarchitecture between ROIs (Fig. 1 & Table 1) and with age/adaptation to exercise.

*Bone quantity:* Parameters measured included trabecular spacing (Tb.Sp, the average width between trabeculae), trabecular thickness (Tb.Th, the average width of trabeculae) and bone fraction (B.Ar/T.Ar, the ratio between the bone area and the ROI area) measured with BoneJ (Doube *et al.*, 2010b), a Fiji plugin (see [www.bonej.org](http://www.bonej.org) for further details).



*Bone quality:* Parameters measured included the trabecular length (Tb.Le) and the number of trabecular junctions. The binarized images were skeletonized by progressive thinning to retain the central axis of each trabecula by “Skeletonize3D” (Fig. 1), a Fiji plugin, and were then analysed by “AnalyzeSkeleton” (Arganda-Carreras *et al.*, 2010). Additional bone quality parameters calculated from the “skeletonisation” data included the trabecular number (Tb.N), the ratio between the number of trabecula and the total trabecular length and the trabecular connectivity (Tb.C), the ratio between the junction number and the ROI area (Table 1).

### **Trabecular orientation assessment**

Trabecular orientation was also assessed in the frontal plane by applying a median filter to the initial greyscale image to decrease the heterogeneity of the trabeculae and then using “OrientationJ” (Rezakhaniha *et al.*, 2012) a Fiji plug-in based on structure tensors (Fig. 1.C), the output data of the plugin being the angular distribution of oriented-structure-pixels. In order to compare the ROIs to each other, the probability density function of each site was determined from the corresponding angular distribution and plotted (Fig. 1.C) (Rezakhaniha *et al.*, 2012). The accuracy of the plugin was validated by testing artificial images of known orientation and by testing selected images after various known rotations.

### **Statistical analysis**

A mixed linear model with the ROI as fixed factor and the animal as a random factor was employed to detect differences between ROIs in different age groups. A priori contrasts to compare pairs of means were performed adjusting the alpha level for each comparison with the sequential Benjamini-Hochberg procedure. In order to study the effect of age on each bone parameter, a mixed model of covariance analysis with the ROI as a fixed factor, the foal as a random factor and the age as a co-factor was used. The non-linear effect of age was modelled with polynomial terms of the first and second degree after centering the age data. Statistical analyses were performed with SAS 9.4 (Cary, N.C.). A  $p \leq 0.05$  was considered significant throughout.

## RESULTS

Specimens were categorized into groups based on their age: neonates (less than 3 days old, n = 8); 1-2 months (n = 5); 12 months (n = 5); 24 months (n = 3) and  $\geq 72$  months n = 3).

### Qualitative assessment

Neonatal foals: There was a subjective difference in the overall trabecular structure between the parasagittal groove and the condyle ROIs already immediately after birth. The parasagittal groove had less trabeculae and greater spaces between them when compared with the condyle. No visual differences were seen between the control and the OC-predilected group and between the dorsal and palmar ROIs.

Adaptation to maturity/athletic activity: There were also visual differences when foal and adult racehorse samples were compared qualitatively. In the mature racehorses the quantity of bone was greater, as expected, when compared with foals. The trabeculae were thicker and more aligned in the sagittal plane. There were no evident qualitative differences between dorsal and palmar ROIs in any specimens.

### Bone microarchitecture parameters

Data (mean  $\pm$  SD) for bone microarchitecture parameters measured at all ROIs is provided in Table 2.

No statistically significant differences were identified in the analyses of the trabecular bone parameter data between control and the OC-predilected neonatal foal groups so data from all the foals were pooled for subsequent analyses. In addition, no statistical differences were detected between the dorsal and palmar parasagittal groove or the dorsal and palmar condyle trabecular bone parameters. The bone microarchitecture data from the dorsal and palmar subregional ROIs were pooled for subsequent comparisons between the parasagittal groove and condyle ROIs.

Similarly, no statistical differences were detected between the dorsal and palmar parasagittal groove or the dorsal and palmar condyle in the other age groups. The data from the dorsal and palmar subregional ROIs were thus also pooled for subsequent comparisons in these groups.

Parameters of bone quantity:

Neonatal foals: The mean Tb.Sp was significantly higher ( $p = 0.004$ ) and the B.Ar/T.Ar lower ( $p = 0.0004$ ) in the lateral parasagittal groove ROI compared with the condyle (Table 2 and Fig. 2) but no significant differences in Tb.Th were detected.

Adaptation to maturity/athletic activity: Tb.Th and B.Ar/T.Ar values all increased with age/racing, but the rates of change decreased over time (positive first degree term respectively:  $p < 0.0001$  and  $p < 0.0001$ ; negative second degree term respectively:  $p < 0.0001$  and  $p < 0.0001$ ). Conversely, Tb.Sp values decreased with age/racing, but the rate of change also decreased with time (positive first degree term:  $p = 0.004$ ; negative second degree term:  $p < 0.05$ ).

Tb.Sp was significantly higher in the parasagittal groove ROIs of all age groups, except at 12 months. B.Ar/T.Ar, on the other hand, was significantly lower in the parasagittal groove ROIs in neonates, and in the 12 and 24 month-old groups but not in the 1-2 month-old or  $\geq 72$  month-old groups (Fig. 4 – Table 2).

When data from all specimens and all timepoints were combined and assessed, Tb.Sp was greater ( $p < 0.0001$ ) and the B.Ar/T.Ar lower ( $p < 0.0001$ ) in the lateral parasagittal groove compared with the condyle.

Parameters of bone quality

Neonatal foals: The Tb.Le was significantly greater ( $p = 0.0005$ ) in the parasagittal groove ROIs compared with the condyle whereas, in contrast, the Tb.N and Tb.C were both significantly lower ( $p = 0.0001$  and  $p = 0.001$ , respectively) (Fig. 2 & Table 2).

Adaptation to maturity/athletic activity: Tb.C and Tb.N values all increased with maturity but the rate of change decreased with time (positive first degree term respectively:  $p < 0.0001$  and  $p = 0.003$ ; negative second degree term respectively:  $p < 0.0001$  and  $p = 0.02$ ). Conversely, Tb.Le values all decreased with maturity/athletic activity and the rate of change decreased with time (positive first degree term respectively:  $p = 0.008$ ; negative second degree term respectively:  $p = 0.04$ ).

## **Trabecular orientation assessment**

An illustration of trabecular orientation in all groups is provided in Figure 4.

Neonatal foals: ROIs had a dominant trabecular orientation but also a second preferential direction, often almost orthogonal to the preponderant one (Fig. 4 A). The dominant trabecular orientation was approximately 45° to the sagittal plane *i.e.* directed towards the lateral aspect of the condyle resulting in a radiating distribution, originating from the centre of the epiphysis, and interconnected by smaller perpendicular trabeculae (2<sup>nd</sup> main direction visible on graphs – Fig. 4.A). In contrast to the measured bone parameters, the trabecular orientation was different between dorsal and palmar ROIs. The directional distribution of the trabeculae was slightly more anisotropic in the palmar ROIs than in the dorsal (Fig. 4 A) already at birth.

Adaptation to maturity/athletic activity: Trabeculae of the distal metacarpal epiphysis underwent adaptation by remodelling over time and changed orientation (Fig. 4). The orientation changed to align from a radiating orientation (described above) to a preponderant sagittal direction (Fig. 4 B). Although the direction is principally sagittal in mature racehorses, a slight deviation towards the middle of the lateral portion of the condyle is noticeable in all the ROIs, and particularly in the condyle ROIs. This adaptive remodelling response also resulted in an increased anisotropy *i. e.* trabeculae became more parallel to each other. Moreover, the second main direction was less pronounced in adults when compared with foals, indicating that the sagittal plates are predominant and connected through smaller struts in adults.

The palmar parasagittal ROI had a unique adaptation pattern over time, first aligning with the sagittal plane (12 month-old group) but then becoming less anisotropic in older horses (24 month-old and >72 month-old groups). As a result, the trabecular anisotropy at the palmar parasagittal ROI was not different when compared between foals and older horses, even if the main direction changed over time and is similar to that observed at other ROIs (Fig. 4 B).

Subjective comparisons between ROIs in different age groups: When all ROIs were examined together the remodelling process to align the trabeculae was least evident in the palmar parasagittal groove (both dorsal and palmar sites) compared with the condyle (Fig. 4 B). The anisotropy was also much higher in condyle ROIs when compared to parasagittal groove ROIs, as illustrated by more stretched polar curves (Fig. 4 B).

## DISCUSSION

The findings of this study provide novel insight into MCIII subchondral bone trabecular architecture in equine neonates and its adaptation to maturity and athletic activity in both the parasagittal groove, where fractures arise most commonly, and the condyle. First, immediately after birth and prior to sustained weightbearing, there were measureable differences in both bone quality and quantity between the parasagittal groove and condyle ROIs. Yet, only differences in bone quantity parameters persisted in mature racehorses. Second, trabecular orientation had a consistent pattern in neonates within all dorsal and palmar metacarpal ROIs, with palmar ROIs being slightly more anisotropic. However, the predominant trabecular orientation changed substantially with maturity and racing at all the ROIs except for the palmar parasagittal groove ROI that retained a more “immature” orientation pattern even in mature racehorses.

We first investigated MCIII subchondral trabecular bone microarchitecture in neonatal foals prior to major loading events. The differences in the trabecular pattern in the parasagittal groove and condyle observed already at birth underpin the importance of the *in utero* environment in preparing for post-natal weightbearing events. Although never studied in the equine species, subchondral bone trabecular characteristics in newborns of other species are known to be governed by two major factors: a genetic blueprint that dictates molecular signals to regulate structure and *in utero* remodelling orchestrated by biomechanical cues (Cunningham et al., 2009; Frost, 1990a, b; Gomez et al., 2007; Nowlan et al., 2010; Reissis et al., 2012; Sharir et al., 2011). Transarticular loads generated by muscle contractions with foetal movements serve, in part, as mechanosignals for *in utero* subchondral bone development (Sharir et al., 2011).

There were fewer and longer trabeculae with scarcer connections in the equine parasagittal groove compared to the condyle ROIs. The bone fraction was also lower, with greater spacing between trabeculae. Because trabecular microarchitecture is a direct reflection of trabecular bone strength (Ammann et Rizzoli, 2003; Hernandez *et al.*, 2001; Mittra *et al.*, 2005; Thomsen *et al.*, 2002), it can be surmised that this translates to a weaker subchondral bone in the parasagittal groove at birth in foals, compared with the condyle, but confirmation would require biomechanical testing.

Interestingly, it has already been suggested by Firth *et al.* (2009) that bone developmental differences before the MCIII undergoes substantial athletic activity may in some way be linked to condylar fractures and our findings support this line of thought (Boyde et Firth, 2008; Doube *et al.*, 2007; Doube *et al.*, 2010a; Firth *et al.*, 2009).

We next investigated MCIII subchondral trabecular bone changes in response to maturity and training. We confirm and extend the findings of others that equine MCIII trabecular bone changes with training (Boyde et Firth, 2005; Cornelissen *et al.*, 1999; Firth *et al.*, 2005; Firth *et al.*, 2000; Kawcak *et al.*, 2010; Muir *et al.*, 2006; Murray *et al.*, 2001; Whitton *et al.*, 2010) increasing bone fraction as is observed for the third carpal bone (Murray *et al.*, 2001). A rise in bone mineral density also occurs in the 1<sup>st</sup> phalanx subchondral bone in growing horses up to one year old (Holopainen *et al.*, 2008).

Not surprisingly, maturity was found to affect all measured bone parameters, but to different degrees. Age and training exerted a greater effect on bone quantity than quality. Bone quantity increased rapidly in young individuals and then slowed down. This increase resulted in a more compact structure: thicker and closer trabeculae and a higher bone fraction (B.Ar/T.Ar) (an approximate two-fold increase in adults compared to neonates). But, in the oldest specimens we suspect a reverse trend: an increase in trabecular spacing is likely to occur, similarly to that reported by Fürst *et al.* (2008) in the tibial and radial metaphyses of older horses ( $\geq 4$  years old) of various breeds. These investigators speculated that trabeculae may not be replaced in older horses, a phenomenon identified in elderly humans suffering from osteopenia.

The data presented here provide evidence that characteristics of the subchondral trabecular bone in the parasagittal groove (lower bone fraction) may render it weaker than the condyle. Our findings of a lower bone fraction and trabecular thickness and greater trabecular spacing in the parasagittal groove ROI are in agreement with those of Rubio Martinez et al., though employing different methodologies.

The sagittal ridges were compared to the condyles in the latter study (Rubio-Martinez *et al.*, 2008), whereas the parasagittal groove site, interposed between the sagittal ridge and condyles was investigated in the present study. In contrast to other studies that reported a higher bone fraction or bone mineral density in the palmar than in the dorsal area of the condyle of Thoroughbred racehorses (Boyde et Firth, 2005; Firth *et al.*, 2005; Riggs *et al.*, 1999b), we detected no significant differences in subchondral bone trabecular parameters between the corresponding dorsal and palmar ROIs in any age group, despite known different loading conditions occurring at these sites (Harrison *et al.*, 2014). The apparent discrepancy between these reports might be explained by the different technology employed or parameters assessed.

Lastly, we studied trabecular orientation at birth and shifts related to ageing and athletic activity. This assessment was made because of the characteristic pattern of lateral condylar fractures, arising in the parasagittal groove and coursing initially parallel to the sagittal plane (Boyde *et al.*, 1999; Parkin *et al.*, 2006; Radtke *et al.*, 2003; Zekas *et al.*, 1999a). Moreover, this parameter was of interest because of potential links to trabecular orientation (*i. e.* the fracture progresses through the path of least resistance, namely, between trabeculae aligned in the sagittal plane (Boyde *et al.*, 1999)). Trabecular orientation had a consistent common pattern in all the dorsal or palmar metacarpal ROIs in neonates. There was a moderate anisotropy with the dominant trabecular direction approximately 45° away from the sagittal plane, *i. e.* oriented towards the abaxial part of the condyle or even aligned with the radius of an imaginary circle centred in the middle of the secondary ossification centre.

This radiating trabecular orientation pattern in neonates may reflect the progressive pattern of endochondral ossification in the epiphysis (Gosman et Ketcham, 2009; Salle *et al.*, 2002). Alternatively, it may be the result of a genetic determination or *in utero* bone mechanomodelling in response to transarticular muscle forces (Frost, 1990a, b; Frost, 2001; Henderson et Carter, 2002; Kahn *et al.*, 2009; Nowlan *et al.*, 2010; Sharir *et al.*, 2011). Even if it is acknowledged that all these processes are especially important in precocial species to permit immediate ambulation at birth, equine MCIII subchondral bone is not fully mature and undergoes substantial changes from birth to skeletal maturity.

We observed drifts in the predominant MCIII subchondral bone trabecular orientation while horses mature and are trained. In growing foals and yearlings there is a progressive shift from the radiating trabecular orientation of neonates to a pattern where the majority of the trabeculae are aligned in the sagittal plane, slightly oriented towards the middle of the lateral portion of the condyle in agreement with Boyde *et al.* (1999) and Rubio-Martinez *et al.* (2010). Selective mechanosensitive trabecular bone resorption and production are the underlying mechanisms of this change (Huiskes *et al.*, 2000; Tanck *et al.*, 2001; Wolschrijn et Weijs, 2004) respecting Wolff's law (Frost, 1990a, b; Wolff, 1892) and, although not studied in the equine metacarpus, are believed to be a universal adaptive response of cancellous bone (Barak *et al.*, 2011; Huiskes *et al.*, 2000). The end result is trabecular alignment to the peak loading direction or axial compression in the case of the MCIII (Merritt *et al.*, 2010; Thomason, 1985) thereby increasing bone strength in that direction *i. e.* the sagittal plane.

The striking finding that the parasagittal groove ROI, unlike the other ROIs, develops and adapts differently, retaining a more immature-like orientation pattern in adults particularly in the palmar region is intriguing because this site is considered to be the origin of the majority of MCIII condylar fractures (Muir *et al.*, 2006; Radtke *et al.*, 2003; Riggs *et al.*, 1999a; Stepnik *et al.*, 2004). The subchondral bone trabecular orientation pattern we observed in the adult palmar parasagittal groove ROIs may result from an absence of remodelling or, alternatively, specific remodelling driven by different biomechanical forces focally at this site (Harrison *et al.*, 2014). Bone microdamage resulting from difference in bone stiffness across the distal metacarpus (Riggs *et al.*, 1999a, b) also could have contributed to this change. No microdamage was observed in the specimens we studied but specific methods were not employed to assess this. The higher anisotropy observed in the 12-month-old group supports the 2<sup>nd</sup> or 3<sup>rd</sup> hypothesis, namely this ROI had the same pattern as the other groups prior to intensive training but, subsequently, the trabecular orientation shifts and reverts to a more homogenous pattern; additional study would be required to confirm this.



While our study provides new insight into MCIII subchondral bone development and adaptation, at the parasagittal groove, certain limitations must be acknowledged. First, the samples were investigated in 2D from histological specimens. 3D processing employing micro-CT (Lacourt *et al.*, 2012; Rubio-Martinez *et al.*, 2008; Trope *et al.*, 2015) may have provided more accurate assessments of trabecular architecture especially for anisotropy and connectivity (Firth, 2004; Thomsen *et al.*, 2005) and is planned in future studies. The sample size, although limited, was still sufficient to demonstrate obvious differences between the ROIs in the neonates and for some parameters in adults, as well as trends over time. The unique contribution of training or racing could not be ascertained in the older group of horses as we did not have access to specimens of unraced Thoroughbred racehorses in this age group.

In conclusion, already at birth there are striking differences in subchondral bone trabecular microarchitecture between the parasagittal groove and condyle compatible with a weaker bone structure at this site. Adaptation of trabeculae is confirmed with maturity and increasing athletic activity, with the greatest adaptation measured in bone quantity parameters. The trabecular orientation had a unique and more immature orientation pattern in the palmar parasagittal grooves, compared to the dorsal site and condyles, and may reflect a weaker structure at this site. Further longitudinal studies and mechanical testing are required to validate and link these observations to the occurrence of condylar fractures in adults.

## TABLES

<b>Category</b>	<b>Age</b>	<b>Breed</b>	<b>N</b>
<b>Neonates OC</b>	< 3 do	Standardbred	5
<b>Neonates</b>	< 7 do	Standardbred	3
<b>Foals</b>	1 to 2 mo	Thoroughbred	5
<b>Yearlings</b>	12 mo	Thoroughbred	5
<b>Young adults</b>	24 mo	Thoroughbred	3
<b>Older horses</b>	72 to 84 mo	Thoroughbred	3

**Table 1: Horses from where bone-specimens were collected**

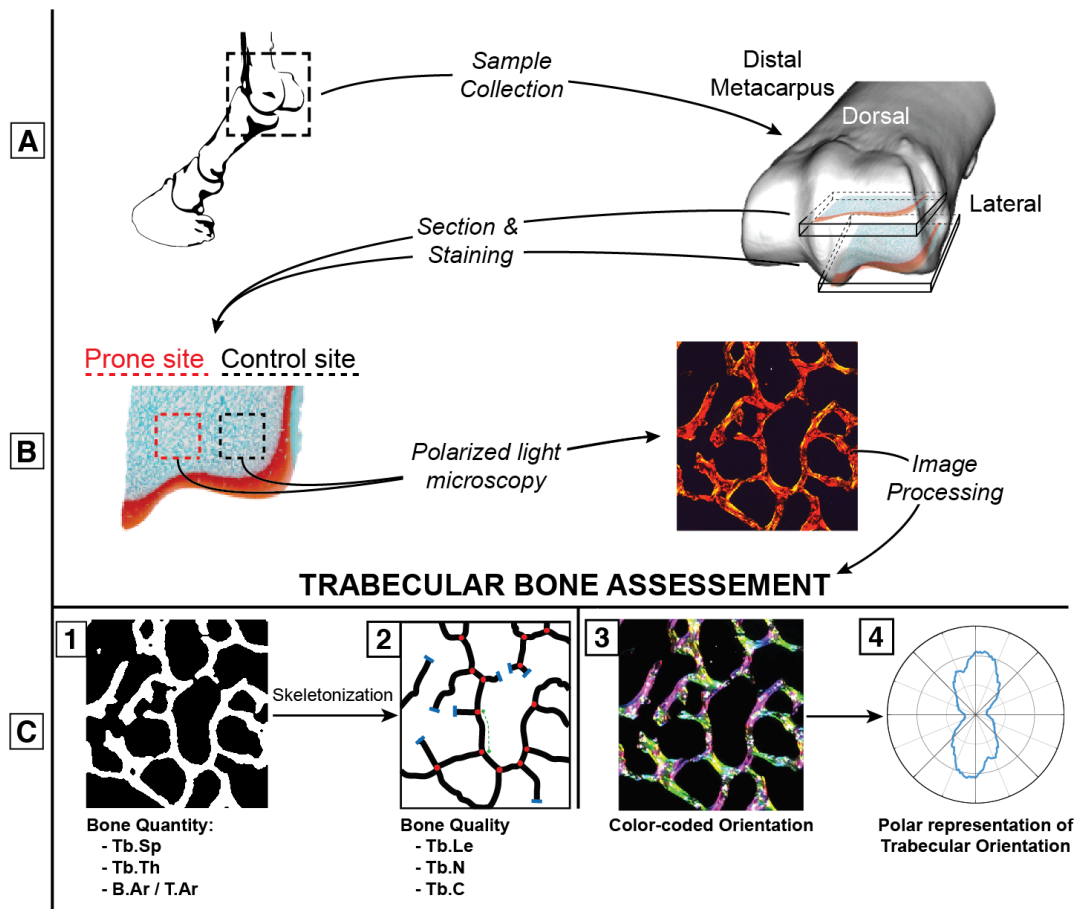
Neonates samples were collected at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Montréal (Martel *et al.*, 2016b) whereas the others came from the University of Dublin (courtesy of Dr Fogarty) - Neonates OC: OC-predilected neonates.

Trabecular parameter	NEONATES (n = 8)		1-2 MO (n = 5)		12 MO (n = 5)		24 MO (n = 3)		>72 MO (n = 3)	
	PSG	CONDYLE	PSG	CONDYLE	PSG	CONDYLE	PSG	CONDYLE	PSG	CONDYLE
<b>Spacing</b> Tb.Sp $\mu\text{m}$	465 $\pm$ 125*	355 $\pm$ 60	486 $\pm$ 40*	396 $\pm$ 31*	333 $\pm$ 65	423 $\pm$ 44	297 $\pm$ 70	256 $\pm$ 66	370 $\pm$ 72	250 $\pm$ 32
<b>Thickness</b> Tb.Th $\mu\text{m}$	148 $\pm$ 13	150 $\pm$ 20	199 $\pm$ 16	182 $\pm$ 25	247 $\pm$ 34	282 $\pm$ 44	337 $\pm$ 149	356 $\pm$ 103	331 $\pm$ 23	322 $\pm$ 37
<b>Bone fraction</b> B.Ar/T.Ar %	26.7 $\pm$ 4.6*	31.0 $\pm$ 4.4*	32.6 $\pm$ 5	32.5 $\pm$ 3	41.9 $\pm$ 3.7*	49.9 $\pm$ 7.6*	60.0 $\pm$ 12.2	64.9 $\pm$ 8.1	56.6 $\pm$ 1.7*	62.9 $\pm$ 5.4*
<b>Length</b> Tb.Le $\mu\text{m}$	316 $\pm$ 16*	276 $\pm$ 15*	337 $\pm$ 10	352 $\pm$ 10	278 $\pm$ 10	283 $\pm$ 10	248 $\pm$ 6	254 $\pm$ 6	266 $\pm$ 6	253 $\pm$ 6
<b>Number</b> Tb.N /mm	3.50 $\pm$ 0.50*	3.97 $\pm$ 0.33*	3.24 $\pm$ 0.6	3.17 $\pm$ 0.7	4.06 $\pm$ 0.9	4.04 $\pm$ 1.0	4.45 $\pm$ 0.8	4.31 $\pm$ 0.9	4.11 $\pm$ 0.71	4.31 $\pm$ 0.66
<b>Connectivity</b> Tb.Co /mm <sup>2</sup>	5.27 $\pm$ 1.81*	7.18 $\pm$ 1.62*	6.78 $\pm$ 2.2	7.3 $\pm$ 3.4	11.51 $\pm$ 4.6	13.09 $\pm$ 7.0	17.5 $\pm$ 7.6	16.4 $\pm$ 6.7	13.1 $\pm$ 4.7	16.4 $\pm$ 4.6

**Table 2: Trabecular bone data from the parasagittal groove or condyle ROIs in different age groups.**

Mean +/- SD values for each parameter measured at each site on the histological sections (Figure 1) - \* = a significant difference (p<0.05) between the parasagittal groove trabecular bone (PSG) and condylar bone parameters within this age group. (MO= months)

Figures

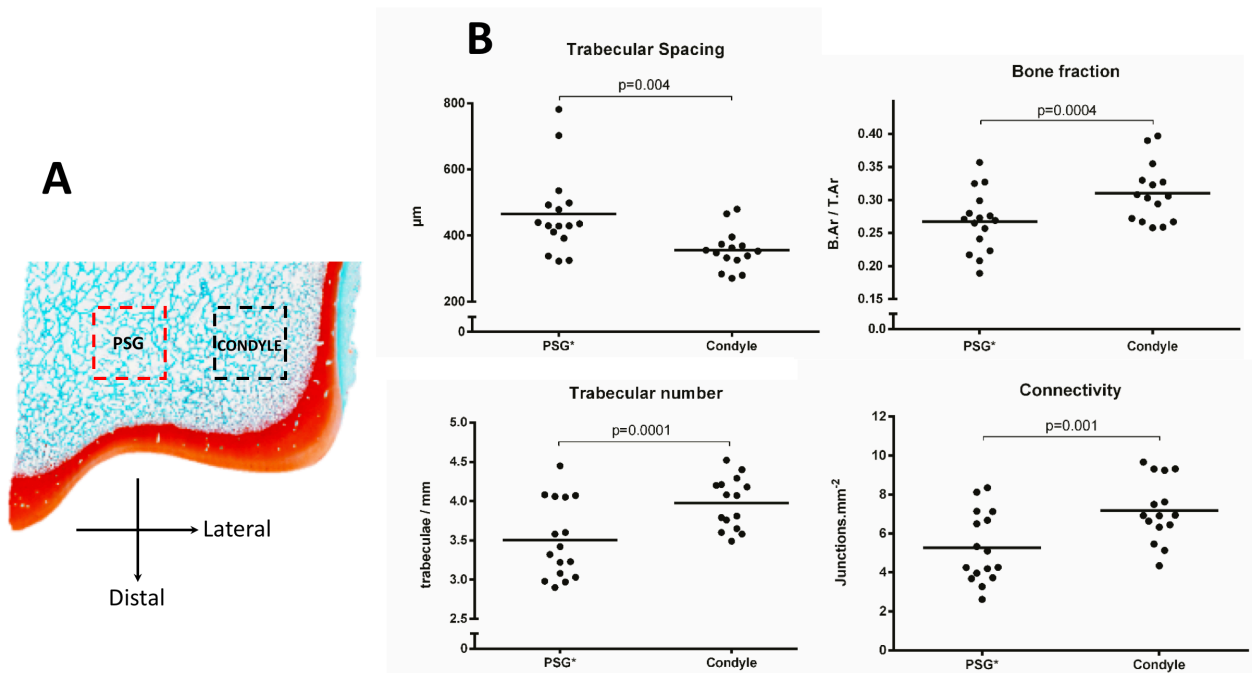


**Figure 1: Study Design**

**A.** Equine distal MCIII were harvested and sectioned in a coronal plane to provide a dorsal and palmar section from each metacarpal lateral condyle.

**B.** The sections were fixed, decalcified, stained with Safranin O-Fast green and polarized light microscopic images were digitalized. Two regions of interest (ROIs) indicated by broken squares (parasagittal groove and condyle) isolated from each digitalized section were processed independently.

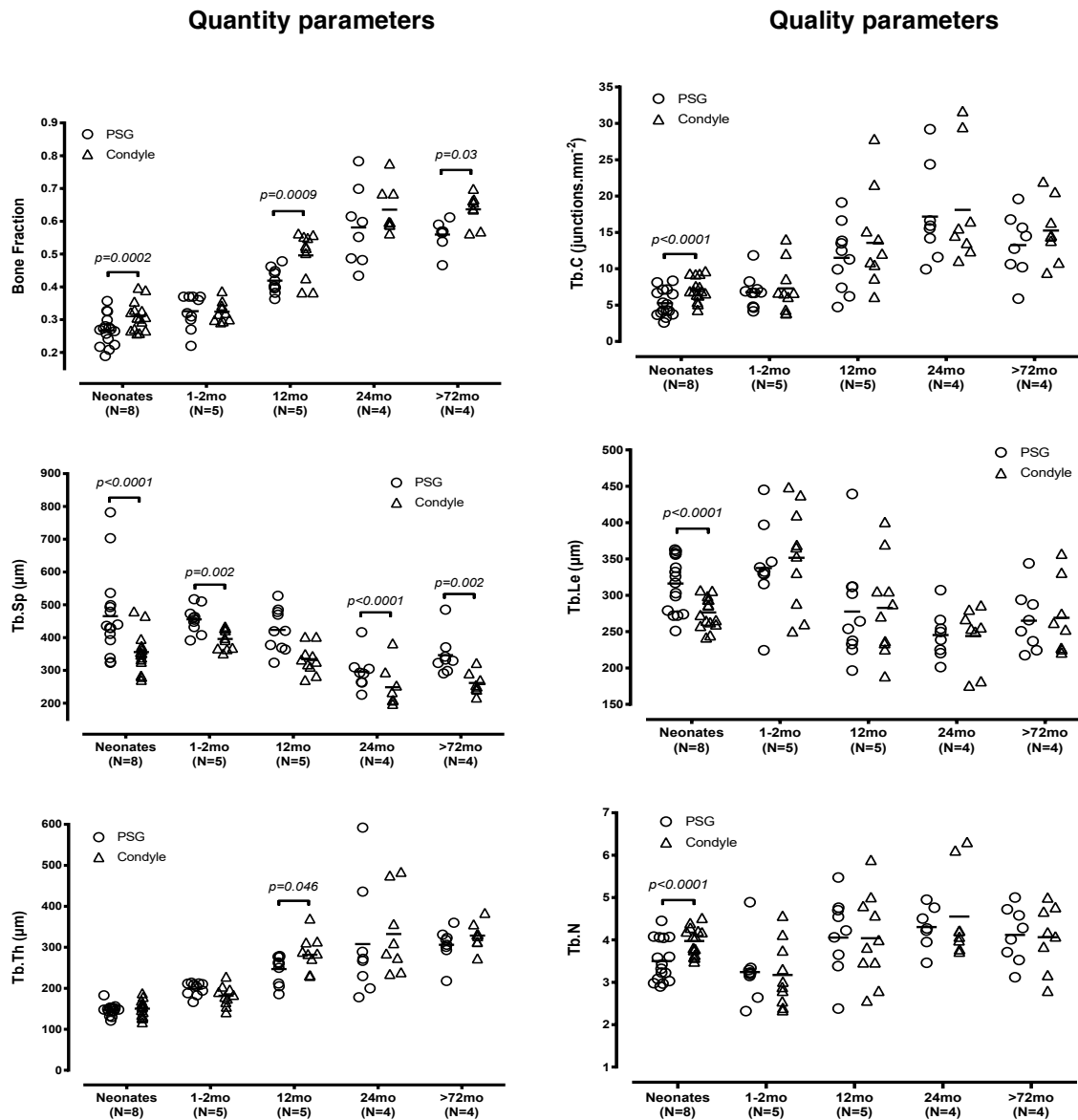
**C.** Bone quantity parameters were evaluated on a thresholded image (1) that was then skeletonised (2) for the characterization of the trabecular network (bone quality parameters). Trabecular orientation was determined on a grey scale image and illustrated on a corresponding color-coded image (3). Numerical values were also collected for polar representations of the direction of trabeculae (4).



**Figure 2: Differences in trabecular bone parameters in the metacarpal parasagittal groove and condyle in neonatal foals.**

**A.** Safranin O stained section that reveals articular cartilage stained red and bone stained blue. Broken squares highlight the parasagittal groove region of interest (ROI) or condyle ROI, which was a 7mm per side square. The parasagittal groove ROI is the site where most metacarpal condylar fractures occur.

**B.** Differences in trabecular bone parameters between the fracture predisposed parasagittal groove (PSG) site and control condylar site. Parameters where a statistically significant difference was detected between sites are illustrated. Trabecular spacing and bone fraction parameters reflect the bone quantity whereas trabecular number and connectivity parameters characterize the bone quality.

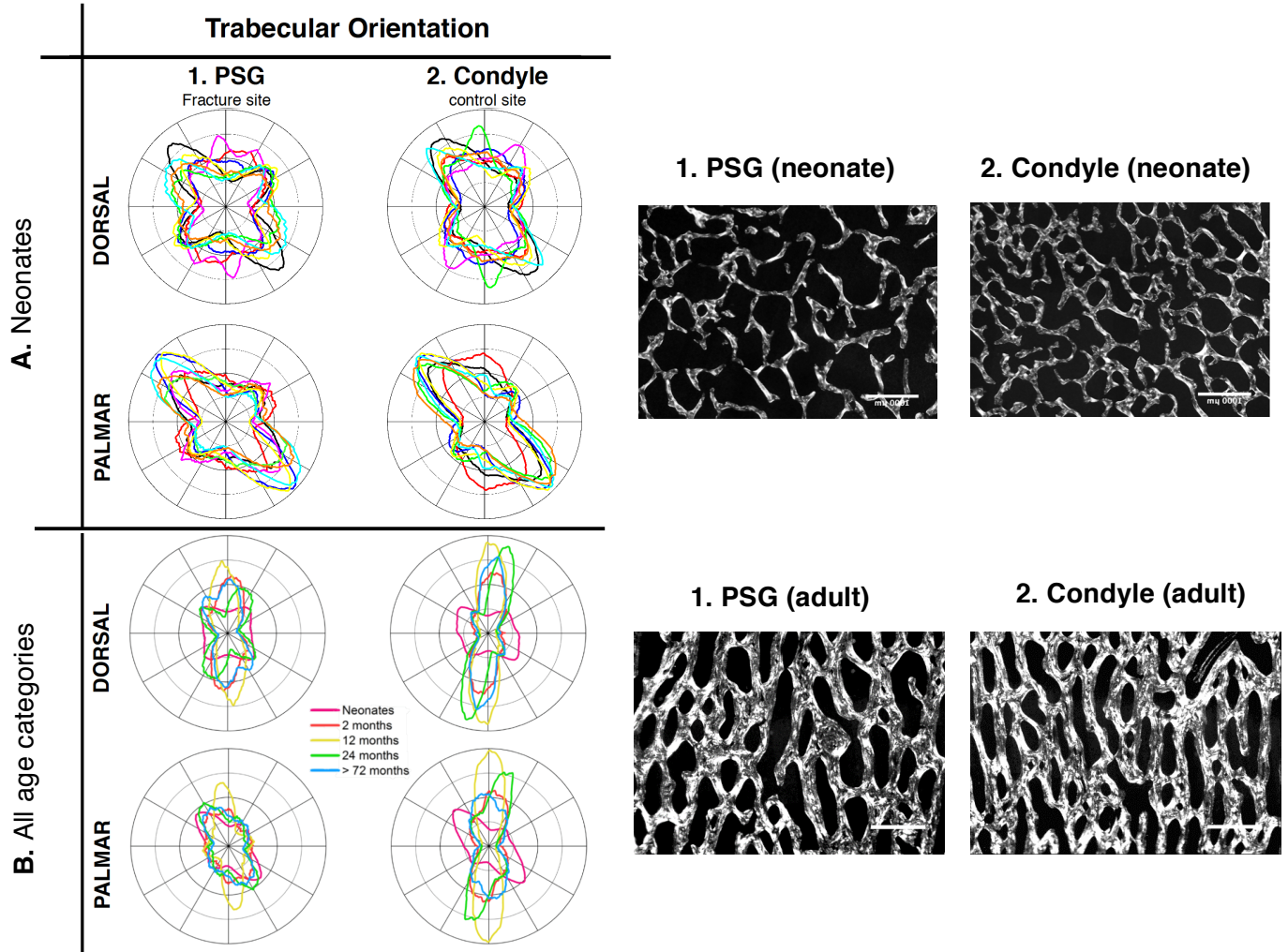


**Figure 3: Comparison of trabecular bone parameters in the metacarpal parasagittal groove (PSG) and the condyle in different age groups.**

Trabecular parameters related to bone strength (quality and quantity) between the fracture prone site (parasagittal groove site: PSG) and control site (condyle).

Statistically significant differences between ROIs in groups of different ages are illustrated. Parameters of bone quality (trabecular number, trabecular length, trabecular connectivity), although different at birth, were similar between sites for the rest of development.

Differences in bone quantity (bone fraction and spacing) were detected at birth between both sites and remained different, except for trabecular thickness, with increasing maturity and adaptation to exercise.



**Figure 4: Illustration of trabecular orientation and structure in the dorsal and palmar parasagittal groove and condyle ROIs in different age groups.**

Trabecular direction assessment (Rezakhaniha et al., 2012) for each ROI and photomicrographs of the subchondral bone trabeculae digitalized under polarized light and converted into a greyscale image to illustrate representative images. The distance from the central origin represents the proportion of trabeculae as a function of direction for each ROI.

A. Neonatal foal group predominant trabecular orientation. One line per foal and ROI (n= 8). Differences in dorsal and palmar sites, but not between ROIs, are evident. The images to the right illustrate a looser trabecular network with greater spaces between the trabeculae in the parasagittal groove. The trabeculae are longer and are also less connected than in the condyle.

B. Trabecular orientation in all groups combined. One line represents the mean for each age group at each ROI. Changes in the predominant pattern can be observed at all ROIs with age and training or racing. However, the least remodelling change is observed at the palmar ROI.

Scale bar is 1 mm, PSG: Parasagittal Groove



## REFERENCES

- Ammann, P., Rizzoli, R., 2003. Bone strength and its determinants. *Osteoporos. Int.* 14, 13-18.
- Arganda-Carreras, I., Fernández-González, R., Muñoz-Barrutia, A., Ortiz-De-Solorzano, C., 2010. 3D reconstruction of histological sections: Application to mammary gland tissue. *Microsc. Res. Tech.* 73, 1019-1029.
- Barak, M.M., Lieberman, D.E., Hublin, J.J., 2011. A Wolff in sheep's clothing: trabecular bone adaptation in response to changes in joint loading orientation. *Bone* 49, 1141-1151.
- Bassage Ii, L.H., 2014. 16 - Metacarpus/metatarsus, In: *Equine Sports Medicine and Surgery (Second Edition)*. W.B. Saunders, pp. 297-325.
- Bertuglia, A., Lacourt, M., Girard, C., Beauchamp, G., Richard, H., Laverty, S., 2015. Osteoclasts are recruited to the subchondral bone in naturally occurring post-traumatic equine carpal osteoarthritis and may contribute to cartilage degradation. *Osteoarthr. Cartilage*.
- Boyde, A., Firth, E., 2005. Musculoskeletal responses of 2-year-old Thoroughbred horses to early training. 8. Quantitative back-scattered electron scanning electron microscopy and confocal fluorescence microscopy of the epiphysis of the third metacarpal bone. *N. Z. Vet. J.* 53, 123-132.
- Boyde, A., Firth, E.C., 2008. High resolution microscopic survey of third metacarpal articular calcified cartilage and subchondral bone in the juvenile horse: Possible implications in chondro-osseous disease. *Microsc. Res. Tech.* 71, 477-488.
- Boyde, A., Haroon, Y., Jones, S., Riggs, C., 1999. Three-dimensional structure of the distal condyles of the third metacarpal bone of the horse. *Equine Vet. J.* 31, 122-129.
- Chang, G., Pakin, S.K., Schweitzer, M.E., Saha, P.K., Regatte, R.R., 2008. Adaptations in trabecular bone microarchitecture in Olympic athletes determined by 7T MRI. *J. Magn. Reson. Imaging* 27, 1089-1095.
- Cornelissen, B.P.M., van Weeren, P.R., Ederveen, A.G.H., Barneveld, A., 1999. Influence of exercise on bone mineral density of immature cortical and trabecular bone of the equine metacarpus and proximal sesamoid bone. *Equine Vet. J.* 31, 79-85.
- Cruz, A.M., Hurtig, M.B., 2008. Multiple pathways to osteoarthritis and articular fractures: is subchondral bone the culprit? *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 24, 101-116.
- Cunningham, C.A., Black, S.M., 2009. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J. Anat.* 214, 817-829.
- Doube, M., Firth, E., Boyde, A., 2007. Variations in articular calcified cartilage by site and exercise in the 18-month-old equine distal metacarpal condyle. *Osteoarthr. Cartilage* 15, 1283-1292.
- Doube, M., Firth, E., Boyde, A., Bushby, A., 2010a. Combined nanoindentation testing and scanning electron microscopy of bone and articular calcified cartilage in an equine fracture predilection site. *Eur. Cell. Mater.* 19, 242-251.
- Doube, M., Klosowski, M.M., Arganda-Carreras, I., Cordelières, F.P., Dougherty, R.P., Jackson, J.S., Schmid, B., Hutchinson, J.R., Shefelbine, S.J., 2010b. BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone* 47, 1076-1079.

- Dubois, M.-S., Morello, S., Rayment, K., Markel, M.D., Vanderby, R., Jr., Kalscheur, V.L., Hao, Z., McCabe, R.P., Marquis, P., Muir, P., 2014. Computed Tomographic Imaging of Subchondral Fatigue Cracks in the Distal End of the Third Metacarpal Bone in the Thoroughbred Racehorse Can Predict Crack Micromotion in an Ex-Vivo Model. *PLoS ONE* 9, e101230.
- Firth, E.C., 2004. Problems in quantifying bone response to exercise in horses: a review. *N. Z. Vet. J.* 52, 216-229.
- Firth, E.C., Delahunty, J., Wichtel, J.W., Birch, H.L., Goodship, A.E., 1999a. Galloping exercise induces regional changes in bone density within the third and radial carpal bones of Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.* 31, 111-115.
- Firth, E.C., Doube, M., Boyde, A., 2009. Changes in mineralised tissue at the site of origin of condylar fracture are present before athletic training in Thoroughbred horses. *N. Z. Vet. J.* 57, 278-283.
- Firth, E.C., Rogers, C.W., Doube, M., Jopson, N.B., 2005. Musculoskeletal responses of 2-year-old Thoroughbred horses to early training. 6. Bone parameters in the third metacarpal and third metatarsal bones. *N. Z. Vet. J.* 53, 101-112.
- Firth, E.C., Rogers, C.W., Jopson, N., 2000. Effects of racetrack exercise on third metacarpal and carpal bone of New Zealand thoroughbred horses. *J. Musculo. Neur. Inter.* 1, 145-147.
- Firth, E.C., van Weeren, P.R., Pfeiffer, D.U., Delahunty, J., Barneveld, A., 1999b. Effect of age, exercise and growth rate on bone mineral density (BMD) in third carpal bone and distal radius of Dutch Warmblood foals with osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 31, 74-78.
- Frost, H.M., 1990a. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's Law: The bone modeling problem. *Anat. Rec.* 226, 403-413.
- Frost, H.M., 1990b. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's Law: The remodeling problem. *Anat. Rec.* 226, 414-422.
- Frost, H.M., 2001. From Wolff's law to the Utah paradigm: Insights about bone physiology and its clinical applications. *Anat. Rec.* 262, 398-419.
- Fürst, A., Meier, D., Michel, S., Schmidlin, A., Held, L., Laib, A., 2008. Effect of age on bone mineral density and micro architecture in the radius and tibia of horses: An Xtreme computed tomographic study. *BMC Vet. Res.* 4, 1-12.
- Goff, M.G., Lambers, F.M., Nguyen, T.M., Sung, J., Rimnac, C.M., Hernandez, C.J., 2015. Fatigue-induced microdamage in cancellous bone occurs distant from resorption cavities and trabecular surfaces. *Bone* 79, 8-14.
- Gomez, C., David, V., Peet, N.M., Vico, L., Chenu, C., Malaval, L., Skerry, T.M., 2007. Absence of mechanical loading in utero influences bone mass and architecture but not innervation in MyoD-Myf5-deficient mice. *J. Anat.* 210, 259-271.
- Goodrich, L., Nixon, A., Conway, J., Morley, P., Bladon, B., Hogan, P., 2014. Dynamic compression plate (DCP) fixation of propagating medial condylar fractures of the third metacarpal/metatarsal bone in 30 racehorses: Retrospective analysis (1990–2005). *Equine Vet. J.*
- Gosman, J.H., Ketcham, R.A., 2009. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: General features of microarchitectural change. *Am. J. Phys. Anthropol.* 138, 318-332.

- Harrison, S.M., Whitton, R.C., Kawcak, C.E., Stover, S.M., Pandy, M.G., 2014. Evaluation of a subject-specific finite-element model of the equine metacarpophalangeal joint under physiological load. *J. Biomech.* 47, 65-73.
- Henderson, J.H., Carter, D.R., 2002. Mechanical induction in limb morphogenesis: the role of growth-generated strains and pressures. *Bone* 31, 645-653.
- Hernandez, C.J., Beaupré, G.S., Keller, T.S., Carter, D.R., 2001. The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus. *Bone* 29, 74-78.
- Hernandez, C.J., Lambers, F.M., Widjaja, J., Chapa, C., Rimnac, C.M., 2014. Quantitative relationships between microdamage and cancellous bone strength and stiffness. *Bone* 66, 205-213.
- Holopainen, J.T., Brama, P.A., Halmesmaki, E., Harjula, T., Tuukkanen, J., van Weeren, P.R., Helminen, H.J., Hyttinen, M.M., 2008. Changes in subchondral bone mineral density and collagen matrix organization in growing horses. *Bone* 43, 1108-1114.
- Huiskes, R., Ruimerman, R., van Lenthe, G.H., Janssen, J.D., 2000. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature* 405, 704-706.
- Jacklin, B.D., Wright, I.M., 2012. Frequency distributions of 174 fractures of the distal condyles of the third metacarpal and metatarsal bones in 167 Thoroughbred racehorses (1999-2009). *Equine Vet. J.* 44, 707-713.
- Ju, Y.-I., Sone, T., Ohnaru, K., Tanaka, K., Fukunaga, M., 2015. Effect of swimming exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in ovariectomized rats. *J. Appl. Physiol.* 119, 990-997.
- Kahn, J., Shwartz, Y., Blitz, E., Krief, S., Sharir, A., Breitel, D.A., Rattenbach, R., Relaix, F., Maire, P., Rountree, R.B., Kingsley, D.M., Zelzer, E., 2009. Muscle Contraction Is Necessary to Maintain Joint Progenitor Cell Fate. *Dev. Cell* 16, 734-743.
- Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W., Firth, E.C., 2010. Effects of early exercise on metacarpophalangeal joints in horses. *Am. J. Vet. Res.* 71, 405-411.
- Kilkenny, C., Browne, W.J., Cuthill, I.C., Emerson, M., Altman, D.G., 2014. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *Animals* 4, 35-44.
- Lacourt, M., Gao, C., Li, A., Girard, C., Beauchamp, G., Henderson, J.E., Laverty, S., 2012. Relationship between cartilage and subchondral bone lesions in repetitive impact trauma-induced equine osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartilage* 20, 572-583.
- Martel, G., Couture, C.-A., Gilbert, G., Bancelin, S., Richard, H., Moser, T., Kiss, S., Légaré, F., Laverty, S., 2016a. Femoral epiphyseal cartilage matrix changes at predilection sites of equine osteochondrosis: Quantitative MRI, second-harmonic microscopy and histological findings. *J. Orthop. Res.*
- Martel, G., Kiss, S., Gilbert, G., Anne-Archard, N., Richard, H., Moser, T., Laverty, S., 2016b. Differences in the vascular tree of the femoral trochlear growth cartilage at osteochondrosis-susceptible sites in foals revealed by SWI 3T MRI. *J. Orthop Res.*
- Martig, S., Chen, W., Lee, P.V., Whitton, R.C., 2014. Bone fatigue and its implications for injuries in racehorses. *Equine Vet. J.* 46, 408-415.
- Merritt, J.S., Pandy, M.G., Brown, N.A.T., Burvill, C.R., Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W., Davies, H.M., 2010. Mechanical loading of the distal end of the third metacarpal bone in horses during walking and trotting. *Am. J. Vet. Res.* 71, 508-514.

- Mittra, E., Rubin, C., Qin, Y.-X., 2005. Interrelationship of trabecular mechanical and microstructural properties in sheep trabecular bone. *J. Biomech.* 38, 1229-1237.
- Muir, P., McCarthy, J., Radtke, C.L., Markel, M.D., Santschi, E.M., Scollay, M.C., Kalscheur, V.L., 2006. Role of endochondral ossification of articular cartilage and functional adaptation of the subchondral plate in the development of fatigue microcracking of joints. *Bone* 38, 342-349.
- Murray, R.C., Vedi, S., Birch, H.L., Lakhani, K.H., Goodship, A.E., 2001. Subchondral bone thickness, hardness and remodelling are influenced by short-term exercise in a site-specific manner. *J. Orthop. Res.* 19, 1035-1042.
- Noble, P., Singer, E.R., Jeffery, N.S., 2016. Does subchondral bone of the equine proximal phalanx adapt to race training? *J. Anat.* 229, 104-113.
- Norrdin, R.W., Stover, S.M., 2006. Subchondral bone failure in overload arthrosis: a scanning electron microscopic study in horses. *J. Musc. Neur. Inter.* 6, 251-257.
- Nowlan, N.C., Sharpe, J., Roddy, K.A., Prendergast, P.J., Murphy, P., 2010. Mechanobiology of embryonic skeletal development: Insights from animal models. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews* 90, 203-213.
- Parkin, T., Clegg, P., French, N., Proudman, C., Riggs, C., Singer, E., Webbon, P., Morgan, K., 2005. Risk factors for fatal lateral condylar fracture of the third metacarpus/metatarsus in UK racing. *Equine Vet. J.* 37, 192-199.
- Parkin, T.D., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2004a. Horse-level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds in the UK. *Equine Vet. J.* 36.
- Parkin, T.D., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2004b. Race and course level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 36.
- Parkin, T.D.H., French, N.P., Riggs, C.M., Morgan, K.L., Clegg, P.D., Proudman, C.J., Singer, E.R., Webbon, P.M., 2004c. Risk of fatal distal limb fractures among thoroughbreds involved in the five types of racing in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 154, 493-497.
- Parkin, T.D.H., 2008. Epidemiology of Racetrack Injuries in Racehorses. *Vet. Clin. N. Am-Equine* 24, 1-19.
- Parkin, T.D.H., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2006. Catastrophic fracture of the lateral condyle of the third metacarpus/metatarsus in UK racehorses – fracture descriptions and pre-existing pathology. *Vet. J.* 171, 157-165.
- Radtke, C.L., Danova, N.A., Scollay, M.C., Santschi, E.M., Markel, M.D., Gómez, T.D.C., Muir, P., 2003. Macroscopic changes in the distal ends of the third metacarpal and metatarsal bones of Thoroughbred racehorses with condylar fractures. *Am. J. Vet. Res.* 64, 1110-1116.
- Ramzan, P.H., Palmer, L., Powell, S.E., 2015. Unicortical condylar fracture of the Thoroughbred fetlock: 45 cases (2006-2013). *Equine Vet. J.* 47, 680-683.
- Reissis, D., Abel, R.L., 2012. Development of fetal trabecular micro-architecture in the humerus and femur. *J. Anat.* 220, 496-503.

- Rezakhaniha, R., Agianniotis, A., Schrauwen, J.T., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C.V., van de Vosse, F.N., Unser, M., Stergiopoulos, N., 2012. Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomech. Model. Mechanobiol.* 11, 461-473.
- Rick, M.C., O'Brien, T.R., Pool, R.R., Meagher, D., 1983. Condylar fractures of the third metacarpal bone and third metatarsal bone in 75 horses: radiographic features, treatments, and outcome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183, 287-296.
- Riggs, C.M., Whitehouse, G.H., Boyde, A., 1999a. Pathology of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones of the horse. *Equine Vet. J.* 31, 140-148.
- Riggs, C.M., Whitehouse, G.H., Boyde, A., 1999b. Structural variation of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones in the horse. *Equine Vet. J.* 31, 130-139.
- Rubio-Martínez, L.M., Cruz, A.M., Gordon, K., Hurtig, M.B., 2008. Structural characterization of subchondral bone in the distal aspect of third metacarpal bones from Thoroughbred racehorses via micro-computed tomography. *Am. J. Vet. Res.* 69, 1413-1422.
- Rubio-Martínez, L.M., Cruz, A., Inglis, D., Hurtig, M.B., 2010. Analysis of the subchondral microarchitecture of the distopalmar aspect of the third metacarpal bone in racing Thoroughbreds. *Am. J. Vet. Res.* 71, 1148-1153.
- Salle, B.L., Rauch, F., Travers, R., Bouvier, R., Glorieux, F.H., 2002. Human fetal bone development: histomorphometric evaluation of the proximal femoral metaphysis. *Bone* 30, 823-828.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., Cardona, A., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Meth* 9, 676-682.
- Seeman, E., Delmas, P.D., 2006. Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N. Engl. J. Med.* 354, 2250-2261.
- Sharir, A., Stern, T., Rot, C., Shahar, R., Zelzer, E., 2011. Muscle force regulates bone shaping for optimal load-bearing capacity during embryogenesis. *Development* 138, 3247-3259.
- Stepnik, M.W., Radtke, C.L., Scollay, M.C., Oshel, P.E., Albrecht, R.M., Santschi, E.M., Markel, M.D., Muir, P., 2004. Scanning electron microscopic examination of third metacarpal/third metatarsal bone failure surfaces in thoroughbred racehorses with condylar fracture. *Vet. Surg.* 33, 2-10.
- Stover, S., 2003. The epidemiology of Thoroughbred racehorse injuries. *Clin. Tech. Eq. P.* 2, 312-322.
- Stover, S.M., Pool, R.R., Martin, R.B., Morgan, J.P., 1992. Histological features of the dorsal cortex of the third metacarpal bone mid-diaphysis during postnatal growth in thoroughbred horses. *J. Anat.* 181 (Pt 3), 455-469.
- Tanck, E., Homminga, J., van Lenthe, G.H., Huiskes, R., 2001. Increase in bone volume fraction precedes architectural adaptation in growing bone. *Bone* 28, 650-654.
- Thomason, J., 1985. The relationship of structure to mechanical function in the third metacarpal bone of the horse, *Equus caballus*. *Can. J. Zool.* 63, 1420-1428.

- Thomsen, J.S., Ebbesen, E.N., Mosekilde, L., 2002. Predicting human vertebral bone strength by vertebral static histomorphometry. *Bone* 30, 502-508.
- Thomsen, J.S., Laib, A., Koller, B., Prohaska, S., Mosekilde, L., Gowin, W., 2005. Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *J. Microsc.* 218, 171-179.
- Trope, G.D., Ghasem-Zadeh, A., Anderson, G.A., Mackie, E.J., Whitton, R.C., 2014. Can high-resolution peripheral quantitative computed tomography imaging of subchondral and cortical bone predict condylar fracture in Thoroughbred racehorses? *Equine Vet. J.* 47, 428-432.
- Whitehouse, W.J., 1974. The quantitative morphology of anisotropic trabecular bone. *J. Microsc.* 101, 153-168.
- Whitton, R.C., Trope, G.D., Ghasem-Zadeh, A., Anderson, G.A., Parkin, T.D., Mackie, E.J., Seeman, E., 2010. Third metacarpal condylar fatigue fractures in equine athletes occur within previously modelled subchondral bone. *Bone* 47, 826-831.
- Wolff, J., 1892. *Das Gesetz der Transformation der Knochen (The Law of Bone Remodeling)*, In: Verlag von August Hirschwald, Berlin, Germany.
- Wolschrijn, C.F., Weijs, W.A., 2004. Development of the trabecular structure within the ulnar medial coronoid process of young dogs. *Anat. Rec. Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 278A, 514-519.
- Zekas, L.J., Bramlage, L.R., Embertson, R.M., Hance, S.R., 1999a. Characterisation of the type and location of fractures of the third metacarpal/metatarsal condyles in 135 horses in central Kentucky (1986–1994). *Equine Vet. J.* 31, 304-308.
- Zekas, L.J., Bramlage, L.R., Embertson, R.M., Hance, S.R., 1999b. Results of treatment of 145 fractures of the third metacarpal/metatarsal condyles in 135 horses (1986–1994). *Equine Vet. J.* 31, 309-313.

## *Discussion*

Depuis le travail de Firth *et al.* (2009) qui suggérait une composante développementale dans la pathophysiologie des CF, aucun travail n'a exploré cette hypothèse ; c'est ce qui a motivé la réalisation de notre étude. Cette dernière s'organise en deux parties. La première concerne le MCIII distal de poulains nouveau-nés. Elle compare la microarchitecture de l'os trabéculaire épiphysaire du site prédisposé aux fractures condyliques (*i. e.* le sillon parasagittal) et d'un site contrôle (*i. e.* le condyle latéral) rarement atteint (Parkin *et al.*, 2006). La deuxième partie étudie les mêmes sites sur des chevaux d'âge variable (jeunes et adultes) et plus ou moins entraînés. Le but de cette partie fût d'étudier l'effet de l'âge et de l'exercice sur cette même microarchitecture.

Les résultats obtenus sont intéressants car, pour la première fois, des différences microarchitecturales ont été observées entre le site prédisposé aux CF, et le site contrôle au niveau de l'os trabéculaire épiphysaire du MCIII distal du poulain nouveau-né. Ces différences sont présentes avant même que le membre ne soit réellement utilisé et donc avant que les contraintes biomécaniques associées à celle-ci n'aient pu influencer significativement la structure trabéculaire. Ces différences décrivent, quel que soit le paramètre étudié, un os théoriquement moins résistant car étant à la fois moins compact et ayant une architecture moins résistante au niveau du site prédisposé aux CF.

Les trabécules du sillon parasagittal (site prédisposé aux fractures) chez les nouveau-nés sont moins nombreuses, plus longues et moins connectées entre-elles qu'au niveau du site contrôle ; elles y sont aussi plus espacées et l'os y est moins compact. La résistance osseuse dépendant de sa microarchitecture (Ammann et Rizzoli, 2003; Hernandez *et al.*, 2001; Mitra *et al.*, 2005; Thomsen *et al.*, 2002), on peut supposer que l'os de la zone prédisposée est plus fragile que celui de la zone contrôle chez le poulain nouveau-né. Pour le confirmer, des tests mécaniques seraient à réaliser. Il est intéressant de citer à nouveau le travail de Firth *et al.* (2009) qui avait également mis en évidence des anomalies potentiellement reliées aux CF dans le sillon parasagittal chez des poulains de un an n'ayant pas encore commencé l'entraînement intensif ce qui, comme nos résultats, porte à croire que les CF puissent être, au moins en partie, reliées à des maladies développementales.



Dans un deuxième temps nous avons étudié les effets de l'âge et de l'activité sur le MCIII distal de chevaux d'âges variés. Nos résultats ont montré un effet significatif de l'âge et de l'activité sur la microarchitecture trabéculaire variable en fonction du paramètre étudié mais pas du site (ROI). Les changements observés relèvent surtout d'une augmentation de la compacité de l'os et non pas d'un changement de qualité du réseau trabéculaire. En effet, la structure osseuse s'est compactée, les trabécules devenant plus épais et rapprochés avec le temps et l'activité : la fraction d'os compact a été presque doublée entre les nouveau-nés et les adultes. Certaines études antérieures ont déjà rapporté les effets de l'entraînement sur l'os sous chondral (Boyde et Firth, 2005; Cornelissen *et al.*, 1999; Firth *et al.*, 2005; Firth *et al.*, 2000; Muir *et al.*, 2006; Whitton *et al.*, 2010) mais aucune n'a inclut de nouveau-nés.

Il a aussi été démontré que la fraction minérale osseuse de la diaphyse métacarpienne augmentait (Reichmann *et al.*, 2004), tout comme la densité minérale osseuse de la première phalange (Holopainen *et al.*, 2008) ou encore de la diaphyse métacarpienne, chez des chevaux en croissance (moins d'un an) et en entraînement (Cornelissen *et al.*, 1999). Curieusement, une tendance inverse a pu être mise en évidence en ce qui concerne l'espacement trabéculaire chez des chevaux plus âgés (> 4 ans) ; Fürst *et al.* (2008) ont en effet observé une augmentation de l'espacement trabéculaire dans la métaphyse radiale et tibiale des plus vieux individus de leur étude. Ce résultat évoque l'ostéoporose humaine mais cette maladie n'a jamais été décrite chez le cheval exceptée celle associée à la silicose (Symons *et al.*, 2012). Ces résultats sont à confronter au plateau que nous avons pu personnellement observer avec nos données. Mais celles-ci ne nous permettent pas d'exclure avec certitude une tendance à la baisse de ce paramètre (si nous disposions de plus grands effectifs, notamment) chez les chevaux âgés.

Des changements de la qualité de l'os avec l'âge et l'entraînement furent aussi notés, mais de façon beaucoup plus discrète. La connectivité et le nombre de trabécules ont eu une tendance similaire à celle des paramètres quantifiant l'os. Ils augmentèrent rapidement au début pour ensuite ralentir en vieillissant. Il est d'ailleurs intéressant de constater que la connectivité augmente aussi dans un contexte de maladie ostéocondrale palmaire, tel que décrit par Rubio-Martinez *et al.* (2008).

La comparaison du site prédisposé au site contrôle au sein de ces différents groupes d'âges a permis de constater, comme chez les nouveau-nés, une fraction d'os compact inférieure (significatif pour les groupes âgés de 12 mois ou âgés de plus que 72 mois) et un espacement trabéculaire supérieur (significatif pour tous les groupes excepté le groupe âgé de 12 mois). Par contre, les paramètres reflétant la qualité de l'os trabéculaire (connectivité, nombre et longueur des trabécules) ne furent pas significativement différents dans les groupes autres que celui des nouveau-nés. L'étude de Rubio-Martinez *et al.* (2008) a montré que l'os sous chondral de la crête sagittale avait, comme nous l'avons montré dans le sillon parasagittal, une fraction d'os compact inférieure et un espacement trabéculaire supérieur à ceux rencontrés au niveau du condyle.

Contrairement à d'autres études (Boyde et Firth, 2005; Firth *et al.*, 2005; Riggs *et al.*, 1999b) ayant rapporté une fraction d'os compact supérieure dans la région palmaire par rapport à la région dorsale du condyle, notre étude n'a pas pu mettre en évidence ces différences bien que l'on sache que les contraintes de pression y soit pourtant supérieures (Harrison *et al.*, 2014). Ces résultats discordants peuvent être expliqués par les différentes techniques employées (micro-radiographie *versus* histologie) ainsi que par les différences de recrutement et donc les caractéristiques des spécimens.

Nous nous sommes finalement consacrés à l'étude de l'orientation des trabécules et nous avons montré qu'elles changent radicalement entre nouveau-nés et adultes entraînés. Cette portion de l'étude est motivée par l'apparence caractéristique des CF (Parkin *et al.*, 2006; Radtke *et al.*, 2003; Zekas *et al.*, 1999a) et la théorie proposée par Boyde *et al.* (1999) qui lie l'aspect caractéristique de ces fractures à l'orientation majoritairement sagittale des trabécules épiphysaires et métaphysaires du MCIII distal. Très différente chez le nouveau-né, l'orientation des trabécules est plus isotrope que chez l'adulte mais forme quand même un angle de 45° avec le plan sagittal *i. e.* les trabécules sont dirigées vers le côté abaxial du condyle. Autrement dit, les trabécules forment une structure radiante dont le centre se situerait au milieu du centre d'ossification secondaire de l'épiphyse distale du MCIII.

Cette disposition caractéristique chez le nouveau-né pourrait refléter la progression du centre d'ossification secondaire via la formation d'os trabéculaire tel que proposé précédemment chez d'autres espèces (Gosman et Ketcham, 2009; Salle *et al.*, 2002). Cette orientation caractéristique pourrait aussi être le résultat d'un développement basé uniquement sur l'information génétique du poulain et/ou le résultat du modelage *in utero* de l'os trabéculaire via l'action des muscles et des forces mécaniques, comme précédemment évoqué (Frost, 1990a, b; Frost, 2001; Henderson et Carter, 2002; Kahn *et al.*, 2009; Nowlan *et al.*, 2010; Sharir *et al.*, 2011). Ces processus sont capitaux et permettent aux espèces nidifuges de se mouvoir à la naissance ; cependant leurs os ne sont pas matures et subissent des changements majeurs de la naissance à la maturité.

Nous avons ainsi observé que pendant leur croissance et l'entraînement, l'orientation des trabécules sous chondrales du MCIII distal change drastiquement et passe de la structure radiante à anisotropie modérée précédemment décrite chez les nouveau-nés, à une structure très anisotrope dans laquelle la majorité des trabécules sont quasiment alignés avec le plan sagittal. En effet, l'alignement n'est pas exactement dans le plan sagittal mais très légèrement orienté vers le milieu du condyle, tel que décrit précédemment par Boyde *et al.* (1999) et Rubio-Martinez *et al.* (2010).

Ce changement progressif d'orientation est probablement la conséquence d'une résorption et néoformation sélective de trabécules (Huiskes *et al.*, 2000; Tanck *et al.*, 2001; Wolschrijn et Weijs, 2004) répondant à la loi de Wolff (Wolff, 1892). Cette loi détaille le processus piloté par les contraintes biomécaniques qui, bien que non étudié spécifiquement dans le MCIII équin, permet d'expliquer l'alignement des trabécules au sein d'un os avec l'axe selon lequel les contraintes prédominantes sont appliquées sur ce même os (Barak *et al.*, 2011; Frost, 1990a, b; Huiskes *et al.*, 2000; Wolff, 1892). Cette loi appliquée au MCIII explique l'alignement des trabécules avec le plan sagittal car il s'agit de l'axe dans lequel les contraintes mécaniques sont maximales.

Enfin, il est intéressant de constater que dans la région du sillon parasagittal palmaire, là où les CF ont leur origine (Radtke *et al.*, 2003; Riggs *et al.*, 1999a), le remodelage trabéculaire diffère des autres sites étudiés. Il est en effet important de noter que ce site garde, chez les animaux âgés de plus de 24 mois, une orientation modérément anisotropique et une orientation prédominante à 45° du plan sagittal, à la manière des nouveau-nés.

Curieusement ce site, dans le groupe des chevaux âgés de 12 mois, n'a pas une structure différente des autres sites de ce même groupe. L'interprétation de cette particularité peut être complexe et nous n'avons pas la réponse. Cependant, elle pourrait être soit la conséquence d'un défaut/absence de remodelage dont la cause serait inconnue au niveau du site mentionné, d'un remodelage distinct résultant de l'application de contraintes mécaniques différentes dans cette région (Harrison *et al.*, 2014) ou encore être secondaire à des microlésions résultant des différences de rigidité mécanique existant entre la crête sagittale et le condyle (Riggs *et al.*, 1999a, b).

L'orientation et l'anisotropie élevée rencontrées dans le groupe des animaux âgés de 12 mois sont plus en faveur de la 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> hypothèse (remodelage particulier de cette région ou accumulation de micro-lésions). Une explication plausible pourrait être que, lors de la croissance, ce site commence le même processus que les autres mais ensuite, face à l'intensification de l'exercice et aux contraintes spécifiques rencontrées localement, l'orientation des trabécules revient à la structure plus homogène et isotrope correspondant probablement plus aux contraintes liées à la pratique sportive intensive.

Certaines questions restent actuellement sans réponse : les différences observées décrivent un os plus fragile en région parasagittale mais nous avons employé des paramètres surtout utilisés chez l'homme pour l'étude de patients adultes ou âgés et ostéoporotiques non validés chez le jeune cheval. Une validation par épreuve mécanique permettrait de confirmer les résultats de notre travail.

Une autre question en suspens est en quoi l'orientation trabéculaire différente rencontrée au site à l'origine des CF est responsable de l'apparition de ces fractures ? Est-ce simplement un épiphénomène n'ayant pas de conséquence directe sur le développement de ces fractures ? Une autre de nos interrogations est pourquoi la faiblesse de l'os notée chez le nouveau-né au niveau du sillon parasagittal ne persiste que pour certains paramètres chez l'adulte alors que les CF ne concernent que cette dernière population ? Est-ce lié à la sensibilité de la technique employée, à la grande dispersion des valeurs ou, d'un point de vue plus biologique, que les jeunes, certes plus fragiles, n'ont pas encore accumulé les micro-fractures à l'origine des fractures macroscopiques comme cela a été montré chez l'adulte. Cette fragilité de la région parasagittale chez le jeune pourrait par contre aussi expliquer pourquoi ces micro-fractures se concentrent dans cette région et provoquent, seulement plus tard, les CF. Des tests de résistance mécanique chez le poulain permettraient notamment d'éclaircir certains des points mentionnés ci-dessus.

# *Conclusion*

Ce travail révèle la présence, dès la naissance du poulain, d'une microarchitecture théoriquement plus fragile dans le sillon parasagittal latéral du MCIII distal, le site concerné par les CF, qu'au niveau d'un site contrôle, la portion latérale du condyle. De plus, ce travail décrit l'évolution des trabécules avec l'âge et la course et montre des changements radicaux dans leur organisation : leur orientation ainsi que la fraction d'os compact changent drastiquement permettant leur adaptation à l'augmentation des contraintes auxquelles l'os doit faire face. Ce travail montre aussi que le site à l'origine de la maladie (sillon parasagittal palmaire) a une évolution différente des autres sites étudiés et conserve une structure plus immature en termes d'orientation trabéculaire ce qui pourrait représenter une fragilité potentielle. Des études longitudinales et tridimensionnelles, bien que difficiles à mettre en œuvre, seraient très intéressantes pour lier les constats réalisés ici à l'occurrence de la maladie chez l'adulte.

# *Bibliographie*

- Al Mohamad, Z.A., Voute, L.C., Marshall, J.F., 2014. Ultra-High Field MRI Clinical Anatomy of the Equine Fetlock to Aid Clinical Image Interpretation. *Equine Vet. J.* 46, 24-24.
- Alber, M.T., Brown, M.P., Merritt, K.A., Trumble, T.N., 2014. Vascular perfusion of the dorsal and palmar condyles of the equine third metacarpal bone. *Equine Vet. J.* 46, 370-374.
- Ammann, P., Rizzoli, R., 2003. Bone strength and its determinants. *Osteoporos. Int.* 14, 13-18.
- Arganda-Carreras, I., Fernández-González, R., Muñoz-Barrutia, A., Ortiz-De-Solorzano, C., 2010. 3D reconstruction of histological sections: Application to mammary gland tissue. *Microsc. Res. Tech.* 73, 1019-1029.
- Bani Hassan, E., Mirams, M., Ghasem-Zadeh, A., Mackie, E.J., Whitton, R.C., 2016. Role of subchondral bone remodelling in collapse of the articular surface of Thoroughbred racehorses with palmar osteochondral disease. *Equine Vet. J.* 48, 228-233.
- Barak, M.M., Lieberman, D.E., Hublin, J.J., 2011. A Wolff in sheep's clothing: trabecular bone adaptation in response to changes in joint loading orientation. *Bone* 49, 1141-1151.
- Barr, E.D., Pinchbeck, G.L., Clegg, P.D., Boyde, A., Riggs, C.M., 2009. Post mortem evaluation of palmar osteochondral disease (traumatic osteochondrosis) of the metacarpo / metatarsophalangeal joint in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* 41, 366-371.
- Bassage Ii, L.H., 2014. 16 - Metacarpus/metatarsus, In: *Equine Sports Medicine and Surgery (Second Edition)*. W.B. Saunders, pp. 297-325.
- Benninghoff, A., 1925. Form and structure of hyaline cartilage in relation to function [German]. *Erste Mitteilung Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte* 76, 43-63.
- Bertone, A.L., 2014. 15 - Distal limb: Fetlock and pastern, In: *Equine Sports Medicine and Surgery (Second Edition)*. W.B. Saunders, pp. 275-296.
- Bertuglia, A., Lacourt, M., Girard, C., Beauchamp, G., Richard, H., Laverty, S., 2015. Osteoclasts are recruited to the subchondral bone in naturally occurring post-traumatic equine carpal osteoarthritis and may contribute to cartilage degradation. *Osteoarthr. Cartilage*.
- Biewener, A.A., Fazzalari, N.L., Konieczynski, D.D., Baudinette, R.V., 1996. Adaptive changes in trabecular architecture in relation to functional strain patterns and disuse. *Bone* 19, 1-8.
- Bourzac, C., Alexander, K., Rossier, Y., Laverty, S., 2009. Comparison of radiography and ultrasonography for the diagnosis of osteochondritis dissecans in the equine femoropatellar joint. *Equine Vet. J.* 41, 685-692.
- Boyde, A., Davis, G.R., Mills, D., Zikmund, T., Cox, T.M., Adams, V.L., Niker, A., Wilson, P.J., Dillon, J.P., Ranganath, L.R., Jeffery, N., Jarvis, J.C., Gallagher, J.A., 2014. On fragmenting, densely mineralised acellular protrusions into articular cartilage and their possible role in osteoarthritis. *J. Anat.*

- Boyde, A., Firth, E., 2005. Musculoskeletal responses of 2-year-old Thoroughbred horses to early training. 8. Quantitative back-scattered electron scanning electron microscopy and confocal fluorescence microscopy of the epiphysis of the third metacarpal bone. *N. Z. Vet. J.* 53, 123-132.
- Boyde, A., Firth, E.C., 2008. High resolution microscopic survey of third metacarpal articular calcified cartilage and subchondral bone in the juvenile horse: Possible implications in chondro-osseous disease. *Microsc. Res. Tech.* 71, 477-488.
- Boyde, A., Haroon, Y., Jones, S., Riggs, C., 1999. Three dimensional structure of the distal condyles of the third metacarpal bone of the horse. *Equine Vet. J.* 31, 122-129.
- Boyde, A., Riggs, C.M., Bushby, A.J., McDermott, B., Pinchbeck, G.L., Clegg, P.D., 2011. Cartilage damage involving extrusion of mineralisable matrix from the articular calcified cartilage and subchondral bone. *Eur Cell Mater* 21, 470-478; discussion 478.
- Boyle, C., Kim, I.Y., 2011. Three-dimensional micro-level computational study of Wolff's law via trabecular bone remodeling in the human proximal femur using design space topology optimization. *J. Biomech.* 44, 935-942.
- Brama, P., Tekoppele, J., Bank, R., Karssenbergh, D., Barneveld, A., Weeren, P., 2000a. Topographical mapping of biochemical properties of articular cartilage in the equine fetlock joint. *Equine Vet. J.* 32, 19-26.
- Brama, P.A., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., Barneveld, A., van Weeren, P.R., 2000b. Functional adaptation of equine articular cartilage: the formation of regional biochemical characteristics up to age one year. *Equine Vet. J.* 32, 217-221.
- Brama, P.A., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., Barneveld, A., van Weeren, P.R., 2002. Development of biochemical heterogeneity of articular cartilage: influences of age and exercise. *Equine Vet. J.* 34, 265-269.
- Brama, P.A., Tekoppele, J.M., Bank, R.A., van Weeren, P.R., Barneveld, A., 1999. Influence of site and age on biochemical characteristics of the collagen network of equine articular cartilage. *Am. J. Vet. Res.* 60, 341-345.
- Brama, P.A.J., Bank, R.A., Tekoppele, J.M., Weeren, P.R.V., 2001. Training Affects the Collagen Framework of Subchondral Bone in Foals. *The Veterinary Journal* 162, 24-32.
- Brama, P.A.J., Holopainen, J., van Weeren, P.R., Firth, E.C., Helminen, H.J., Hyttinen, M.M., 2009. Influence of exercise and joint topography on depth-related spatial distribution of proteoglycan and collagen content in immature equine articular cartilage. *Equine Vet. J.* 41, 557-563.
- Brommer, H., Brama, P.A.J., Laasanen, M.S., Helminen, H.J., van Weeren, R.R., Jurvelin, J.S., 2005. Functional adaptation of articular cartilage from birth to maturity under the influence of loading: a biomechanical analysis. *Equine Vet. J.* 37, 148-154.
- Carlson, C.S., Hillel, H.D., Henrikson, C.K., Meuten, D.J., 1986. The ultrastructure of osteochondrosis of the articular-epiphyseal cartilage complex in growing swine. *Calcif. Tissue Int.* 38, 44-51.
- Changoor, A., Nelea, M., Methot, S., Tran-Khanh, N., Chevrier, A., Restrepo, A., Shive, M.S., Hoemann, C.D., Buschmann, M.D., 2011. Structural characteristics of the collagen network in human normal, degraded and repair articular cartilages observed in polarized light and scanning electron microscopies. *Osteoarthritis Cartilage* 19, 1458-1468.



- Chevalier, X., Richette, P., 2005. Cartilage articulaire normal : anatomie, physiologie, métabolisme, vieillissement. *EMC - Rhumatologie-Orthopédie* 2, 41-58.
- Cluzel, C., Blond, L., Fontaine, P., Olive, J., Laverty, S., 2013. Foetal and postnatal equine articular cartilage development: magnetic resonance imaging and polarised light microscopy. *Eur Cell Mater* 26, 33-47; discussion 47-38.
- Cornelissen, B.P.M., van Weeren, P.R., Ederveen, A.G.H., Barneveld, A., 1999. Influence of exercise on bone mineral density of immature cortical and trabecular bone of the equine metacarpus and proximal sesamoid bone. *Equine Vet. J.* 31, 79-85.
- Cruz, A.M., Hurtig, M.B., 2008. Multiple pathways to osteoarthritis and articular fractures: is subchondral bone the culprit? *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 24, 101-116.
- Cunningham, C.A., Black, S.M., 2009. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J. Anat.* 214, 817-829.
- Denoix, J.M., Jeffcott, L.B., McIlwraith, C.W., van Weeren, P.R., 2013. A review of terminology for equine juvenile osteochondral conditions (JOCC) based on anatomical and functional considerations. *Vet. J.* 197, 29-35.
- Dik, K., Enzerink, E., Weeren, P., 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. *Equine Vet. J.* 31, 9-15.
- Distl, O., 2013. The genetics of equine osteochondrosis. *Vet. J.* 197, 13-18.
- Doube, M., Firth, E., Boyde, A., 2007. Variations in articular calcified cartilage by site and exercise in the 18-month-old equine distal metacarpal condyle. *Osteoarthr. Cartilage* 15, 1283-1292.
- Doube, M., Firth, E., Boyde, A., Bushby, A., 2010a. Combined nanoindentation testing and scanning electron microscopy of bone and articular calcified cartilage in an equine fracture predilection site. *Eur Cell Mater* 19, 242-251.
- Doube, M., Klosowski, M.M., Arganda-Carreras, I., Cordelières, F.P., Dougherty, R.P., Jackson, J.S., Schmid, B., Hutchinson, J.R., Shefelbine, S.J., 2010b. BoneJ: Free and extensible bone image analysis in ImageJ. *Bone* 47, 1076-1079.
- Drum, M.G., Kawcak, C.E., Norrдин, R.W., Park, R.D., McIlwraith, C.W., Les, C.M., 2007. Comparison of gross and histopathologic findings with quantitative computed tomographic bone density in the distal third metacarpal bone of racehorses. *Vet. Radiol. Ultrasound* 48, 518-527.
- Dubois, M.-S., Morello, S., Rayment, K., Markel, M.D., Vanderby, R., Jr., Kalscheur, V.L., Hao, Z., McCabe, R.P., Marquis, P., Muir, P., 2014. Computed Tomographic Imaging of Subchondral Fatigue Cracks in the Distal End of the Third Metacarpal Bone in the Thoroughbred Racehorse Can Predict Crack Micromotion in an Ex-Vivo Model. *PLoS One* 9, e101230.
- Ellis, D., 1994. Some observations on condylar fractures of the third metacarpus and third metatarsus in young Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 26, 178-183.
- Eyre, D.R., Weis, M.A., Wu, J.J., 2006. Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework? *Eur Cell Mater* 12, 57-63.
- Firth, E.C., 2004. Problems in quantifying bone response to exercise in horses: a review. *N. Z. Vet. J.* 52, 216-229.

- Firth, E.C., 2006. The response of bone, articular cartilage and tendon to exercise in the horse. *J. Anat.* 208, 513-526.
- Firth, E.C., Delahunt, J., Wichtel, J.W., Birch, H.L., Goodship, A.E., 1999a. Galloping exercise induces regional changes in bone density within the third and radial carpal bones of Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.* 31, 111-115.
- Firth, E.C., Doube, M., Boyde, A., 2009. Changes in mineralised tissue at the site of origin of condylar fracture are present before athletic training in Thoroughbred horses. *N. Z. Vet. J.* 57, 278-283.
- Firth, E.C., Rogers, C.W., Doube, M., Jopson, N.B., 2005. Musculoskeletal responses of 2-year-old Thoroughbred horses to early training. 6. Bone parameters in the third metacarpal and third metatarsal bones. *N. Z. Vet. J.* 53, 101-112.
- Firth, E.C., Rogers, C.W., Jopson, N., 2000. Effects of racetrack exercise on third metacarpal and carpal bone of New Zealand thoroughbred horses. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 1, 145-147.
- Firth, E.C., van Weeren, P.R., Pfeiffer, D.U., Delahunt, J., Barneveld, A., 1999b. Effect of age, exercise and growth rate on bone mineral density (BMD) in third carpal bone and distal radius of Dutch Warmblood foals with osteochondrosis. *Equine Vet. J.* 31, 74-78.
- Foerner, J.J., Rick, M.C., Juzwiak, J.S., Watt, B.C., Smalley, L., Keuler, N., Santschi, E., 2006. Injection of equine subchondral bone cysts with triamcinolone: 73 horses (1999-2005), In: *Proceedings of the 52nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Antonio, Texas, USA, 2-6 December, 2006.*, pp. 412-413.
- Fortier, L.A., Nixon, A.J., 2005. New Surgical Treatments for Osteochondritis Dissecans and Subchondral Bone Cysts. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 21, 673-690.
- Frank, C.B., Hart, D.A., Shrive, N.G., 1999. Molecular biology and biomechanics of normal and healing ligaments--a review. *Osteoarthritis Cartilage* 7, 130-140.
- Frost, H.M., 1990a. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's Law: The bone modeling problem. *The Anatomical Record* 226, 403-413.
- Frost, H.M., 1990b. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's Law: The remodeling problem. *The Anatomical Record* 226, 414-422.
- Frost, H.M., 2001. From Wolff's law to the Utah paradigm: Insights about bone physiology and its clinical applications. *The Anatomical Record* 262, 398-419.
- Fürst, A., Meier, D., Michel, S., Schmidlin, A., Held, L., Laib, A., 2008. Effect of age on bone mineral density and micro architecture in the radius and tibia of horses: An Xtreme computed tomographic study. *BMC Vet. Res.* 4, 1-12.
- Gendelman, R., Burton-Wurster, N.I., MacLeod, J.N., Lust, G., 2003. The cartilage-specific fibronectin isoform has a high affinity binding site for the small proteoglycan decorin. *J. Biol. Chem.* 278, 11175-11181.
- Goff, M.G., Lambers, F.M., Nguyen, T.M., Sung, J., Rimnac, C.M., Hernandez, C.J., 2015. Fatigue-induced microdamage in cancellous bone occurs distant from resorption cavities and trabecular surfaces. *Bone* 79, 8-14.

- Gomez, C., David, V., Peet, N.M., Vico, L., Chenu, C., Malaval, L., Skerry, T.M., 2007. Absence of mechanical loading in utero influences bone mass and architecture but not innervation in MyoD-Myf5-deficient mice. *J. Anat.* 210, 259-271.
- Goodrich, L., Nixon, A., Conway, J., Morley, P., Bladon, B., Hogan, P., 2014. Dynamic compression plate (DCP) fixation of propagating medial condylar fractures of the third metacarpal/metatarsal bone in 30 racehorses: Retrospective analysis (1990–2005). *Equine Vet. J.*
- Gosman, J.H., Ketcham, R.A., 2009. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: General features of microarchitectural change. *Am. J. Phys. Anthropol.* 138, 318-332.
- Grevenhof, E.v., Ducro, B., Weeren, P.v., Tartwijk, J., Belt, v.d.A., Bijma, P., 2009. Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 41, 11-16.
- Harrison, S.M., Whitton, R.C., Kawcak, C.E., Stover, S.M., Pandy, M.G., 2010. Relationship between muscle forces, joint loading and utilization of elastic strain energy in equine locomotion. *The Journal of experimental biology* 213, 3998-4009.
- Harrison, S.M., Whitton, R.C., Kawcak, C.E., Stover, S.M., Pandy, M.G., 2014. Evaluation of a subject-specific finite-element model of the equine metacarpophalangeal joint under physiological load. *J. Biomech.* 47, 65-73.
- Health, C.o.E.a.A., USDA:APHIS:VS, a.N., 2001. National Economic Cost of Equine Lameness, Colic, and Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM) in the United States, In: Info Sheet - Veterinary Services.
- Henderson, J.H., Carter, D.R., 2002. Mechanical induction in limb morphogenesis: the role of growth-generated strains and pressures. *Bone* 31, 645-653.
- Henrotin, Y., Pésesse, L., Sanchez, C., 2009. Subchondral bone in osteoarthritis physiopathology: state-of-the art and perspectives. *Biomed. Mater. Eng.* 19, 311-316.
- Hernandez, C.J., Beaupré, G.S., Keller, T.S., Carter, D.R., 2001. The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus. *Bone* 29, 74-78.
- Hernandez, C.J., Gupta, A., Keaveny, T.M., 2006. A Biomechanical Analysis of the Effects of Resorption Cavities on Cancellous Bone Strength. *J. Bone Miner. Res.* 21, 1248-1255.
- Hernandez, C.J., Lambers, F.M., Widjaja, J., Chapa, C., Rinnac, C.M., 2014. Quantitative relationships between microdamage and cancellous bone strength and stiffness. *Bone* 66, 205-213.
- Hilla, D., Distl, O., 2014. Heritabilities and genetic correlations between fetlock, hock and stifle osteochondrosis and fetlock osteochondral fragments in Hanoverian Warmblood horses. *J. Anim. Breed. Genet.* 131, 71-81.
- Hodge, W., Fijan, R., Carlson, K., Burgess, R., Harris, W., Mann, R., 1986. Contact pressures in the human hip joint measured in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83, 2879-2883.
- Holmes, J.M., Mirams, M., Mackie, E.J., Whitton, R.C., 2014. Thoroughbred horses in race training have lower levels of subchondral bone remodelling in highly loaded regions of the distal metacarpus compared to horses resting from training. *Vet. J.* 202, 443-447.

- Holopainen, J.T., Brama, P.A., Halmesmaki, E., Harjula, T., Tuukkanen, J., van Weeren, P.R., Helminen, H.J., Hyttinen, M.M., 2008. Changes in subchondral bone mineral density and collagen matrix organization in growing horses. *Bone* 43, 1108-1114.
- Hornof, W., O'Brien, T., Pool, R., 1981. Osteochondritis Dissecans of the Distal Metacarpus in the Adult Racing Thoroughbred Horse\*. *Veterinary Radiology* 22, 98-106.
- Horvai, A., 2011. Anatomy and Histology of Cartilage, In: *Cartilage Imaging : Significance, Techniques, and New Developments*. New York, NY : Springer New York, New York, NY, pp. 2-10.
- Hughes, L.C., Archer, C.W., ap Gwynn, I., 2005. The ultrastructure of mouse articular cartilage: collagen orientation and implications for tissue functionality. A polarised light and scanning electron microscope study and review. *Eur Cell Mater* 9, 68-84.
- Huiskes, R., Ruimerman, R., van Lenthe, G.H., Janssen, J.D., 2000. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature* 405, 704-706.
- Hyllested, J.L., Veje, K., Ostergaard, K., 2002. Histochemical studies of the extracellular matrix of human articular cartilage--a review. *Osteoarthritis Cartilage* 10, 333-343.
- Hyttinen, M.M., Holopainen, J., Rene van Weeren, P., Firth, E.C., Helminen, H.J., Brama, P.A., 2009. Changes in collagen fibril network organization and proteoglycan distribution in equine articular cartilage during maturation and growth. *J. Anat.* 215, 584-591.
- Jacklin, B.D., Wright, I.M., 2012. Frequency distributions of 174 fractures of the distal condyles of the third metacarpal and metatarsal bones in 167 Thoroughbred racehorses (1999-2009). *Equine Vet. J.* 44, 707-713.
- Jang, I.G., Kim, I.Y., 2008. Computational study of Wolff's law with trabecular architecture in the human proximal femur using topology optimization. *J. Biomech.* 41, 2353-2361.
- Jönsson, L., Dalin, G., Egenvall, A., Nasholm, A., Roepstorff, L., Philipsson, J., 2011. Equine hospital data as a source for study of prevalence and heritability of osteochondrosis and palmar/plantar osseous fragments of Swedish Warmblood horses. *Equine Vet. J.* 43, 695-700.
- Julkunen, P., Iivarinen, J., Brama, P.A., Arokoski, J., Jurvelin, J.S., Helminen, H.J., 2010. Maturation of collagen fibril network structure in tibial and femoral cartilage of rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 18, 406-415.
- Kaab, M.J., Gwynn, I.A., Notzli, H.P., 1998. Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. *J. Anat.* 193 ( Pt 1), 23-34.
- Kahn, J., Shwartz, Y., Blitz, E., Krief, S., Sharir, A., Breitel, D.A., Rattenbach, R., Relaix, F., Maire, P., Rountree, R.B., Kingsley, D.M., Zelzer, E., 2009. Muscle Contraction Is Necessary to Maintain Joint Progenitor Cell Fate. *Dev. Cell* 16, 734-743.
- Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W., Firth, E.C., 2010. Effects of early exercise on metacarpophalangeal joints in horses. *Am. J. Vet. Res.* 71, 405-411.
- Kilkenny, C., Browne, W.J., Cuthill, I.C., Emerson, M., Altman, D.G., 2014. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *Animals* 4, 35-44.

- Kiviranta, J., Tammi, M., Jurvelin, J., Säämänen, A.-M., Helminen, H., 1984. Fixation, decalcification, and tissue processing effects on articular cartilage proteoglycans. *Histochemistry* 80, 569-573.
- König, H.E., Liebich, H.-G., 2009. General Introduction, In: *Veterinary anatomy of domestic mammals : textbook and colour atlas*, 4th, rev. ed.. ed. Schattauer, Stuttgart New York, pp. 1-26.
- König, H.E., Liebich, H.-G., Maierl, J., 2009. Forelimb or Thoracic Limb, In: *Veterinary anatomy of domestic mammals : textbook and colour atlas*, 4th, rev. ed.. ed. Schattauer, Stuttgart New York, pp. 129-196.
- L. Radin, E., 2001. Structure and Functions of Joints, In: *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*, 14th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 157-173.
- Lacourt, M., Gao, C., Li, A., Girard, C., Beauchamp, G., Henderson, J.E., Laverty, S., 2012. Relationship between cartilage and subchondral bone lesions in repetitive impact trauma-induced equine osteoarthritis. *Osteoarthr. Cartilage* 20, 572-583.
- Laverty, S., Girard, C., 2013. Pathogenesis of epiphyseal osteochondrosis. *Vet. J.* 197, 3-12.
- Leahy, P.D., Smith, B.S., Easton, K.L., Kawcak, C.E., Eickhoff, J.C., Shetye, S.S., Puttlitz, C.M., 2010. Correlation of mechanical properties within the equine third metacarpal with trabecular bending and multi-density micro-computed tomography data. *Bone* 46, 1108-1113.
- Lecocq, M., Girard, C.A., Fogarty, U., Beauchamp, G., Richard, H., Laverty, S., 2008. Cartilage matrix changes in the developing epiphysis: early events on the pathway to equine osteochondrosis? *Equine Vet. J.* 40, 442-454.
- Liu, Y.X., Lian, Q., He, J.K., Zhao, J.N., Jin, Z.M., Li, D.C., 2011. Study on the Microstructure of Human Articular Cartilage/Bone Interface. *J Bionic Eng* 8, 251-262.
- Lykkjen, S., Dolvik, N.I., McCue, M.E., Rendahl, A.K., Mickelson, J.R., Roed, K.H., 2013. Equine developmental orthopaedic diseases--a genome-wide association study of first phalanx plantar osteochondral fragments in Standardbred trotters. *Anim. Genet.* 44, 766-769.
- Lykkjen, S., Olsen, H.F., Dolvik, N.I., Grondahl, A.M., Roed, K.H., Klemetsdal, G., 2014. Heritability estimates of tarsocrural osteochondrosis and palmar/plantar first phalanx osteochondral fragments in Standardbred trotters. *Equine Vet. J.* 46, 32-37.
- Lykkjen, S., Roed, K.H., Dolvik, N.I., 2012. Osteochondrosis and osteochondral fragments in Standardbred trotters: prevalence and relationships. *Equine Vet. J.* 44, 332-338.
- Mackie, E.J., Ahmed, Y.A., Tatarczuch, L., Chen, K.S., Mirams, M., 2008. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 40, 46-62.
- Mackie, E.J., Tatarczuch, L., Mirams, M., 2011. The skeleton: a multi-functional complex organ. The growth plate chondrocyte and endochondral ossification. *J. Endocrinol.* 211, 109-121.
- Madry, H., van Dijk, C.N., Mueller-Gerbl, M., 2010. The basic science of the subchondral bone. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 18, 419-433.

- Mahjoub, M., Berenbaum, F., Houard, X., 2012. Why subchondral bone in osteoarthritis? The importance of the cartilage bone interface in osteoarthritis. *Osteoporos. Int.* 23 Suppl 8, S841-846.
- Maroudas, A., Bayliss, M.T., Uchitel-Kaushansky, N., Schneiderman, R., Gilav, E., 1998. Aggrecan Turnover in Human Articular Cartilage: Use of Aspartic Acid Racemization as a Marker of Molecular Age. *Arch. Biochem. Biophys.* 350, 61-71.
- Martel, G., Couture, C.A., Gilbert, G., Bancelin, S., Richard, H., Moser, T., Kiss, S., Legare, F., Laverty, S., 2016a. Femoral epiphyseal cartilage matrix changes at predilection sites of equine osteochondrosis: Quantitative MRI, second-harmonic microscopy, and histological findings. *J Orthop Res* 34, 1743-1752.
- Martel, G., Kiss, S., Gilbert, G., Anne-Archard, N., Richard, H., Moser, T., Laverty, S., 2016b. Differences in the vascular tree of the femoral trochlear growth cartilage at osteochondrosis-susceptible sites in foals revealed by SWI 3T MRI. *J Orthop Res* 34, 1539-1546.
- Martig, S., Chen, W., Lee, P.V., Whitton, R.C., 2014. Bone fatigue and its implications for injuries in racehorses. *Equine Vet. J.* 46, 408-415.
- Martig, S., Lee, P.V.S., Anderson, G.A., Whitton, R.C., 2013. Compressive fatigue life of subchondral bone of the metacarpal condyle in thoroughbred racehorses. *Bone* 57, 392-398.
- Mayne, R., 2001. What is Collagen ?, In: *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*, 14th ed. Lippincott Williams & Wilkins %@ 0781722403 9780781722407, Philadelphia, PA [etc.], pp. 187-208.
- McCoy, A.M., Toth, F., Dolvik, N.I., Ekman, S., Ellermann, J., Olstad, K., Ytrehus, B., Carlson, C.S., 2013. Articular osteochondrosis: a comparison of naturally-occurring human and animal disease. *Osteoarthritis Cartilage* 21, 1638-1647.
- McIlwraith, C.W., 2013. Surgical versus conservative management of osteochondrosis. *Vet. J.* 197, 19-28.
- McIlwraith, C.W., Nixon, A.J., Wright, I.M., Boening, K.J., 2005. Chapter Five - Diagnostic and surgical arthroscopy of the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints, In: *Diagnostic and Surgical Arthroscopy in the Horse (Third Edition)*. Mosby, Edinburgh, pp. 129-196.
- Merritt, J.S., Pandey, M.G., Brown, N.A.T., Burvill, C.R., Kawcak, C.E., McIlwraith, C.W., Davies, H.M., 2010. Mechanical loading of the distal end of the third metacarpal bone in horses during walking and trotting. *Am. J. Vet. Res.* 71, 508-514.
- Mitra, E., Rubin, C., Qin, Y.-X., 2005. Interrelationship of trabecular mechanical and microstructural properties in sheep trabecular bone. *J. Biomech.* 38, 1229-1237.
- Morgan, J.W., Santschi, E.M., Zekas, L.J., Scollay-Ward, M.C., Markel, M.D., Radtke, C.L., Sample, S.J., Keuler, N.S., Muir, P., 2006. Comparison of Radiography and Computed Tomography to Evaluate Metacarpo/Metatarsophalangeal Joint Pathology of Paired Limbs of Thoroughbred Racehorses with Severe Condylar Fracture. *Vet. Surg.* 35, 611-617.
- Muir, H., 1995. THE CHONDROCYTE, ARCHITECT OF CARTILAGE - BIOMECHANICS, STRUCTURE, FUNCTION AND MOLECULAR-BIOLOGY OF CARTILAGE MATRIX MACROMOLECULES. *Bioessays* 17, 1039-1048.

- Muir, P., McCarthy, J., Radtke, C.L., Markel, M.D., Santschi, E.M., Scollay, M.C., Kalscheur, V.L., 2006. Role of endochondral ossification of articular cartilage and functional adaptation of the subchondral plate in the development of fatigue microcracking of joints. *Bone* 38, 342-349.
- Muir, P., Peterson, A.L., Sample, S.J., Scollay, M.C., Markel, M.D., Kalscheur, V.L., 2008. Exercise-induced metacarpophalangeal joint adaptation in the Thoroughbred racehorse. *J. Anat.* 213, 706-717.
- Murray, R.C., Vedi, S., Birch, H.L., Lakhani, K.H., Goodship, A.E., 2001. Subchondral bone thickness, hardness and remodelling are influenced by short-term exercise in a site-specific manner. *J. Orth. Res.* 19, 1035-1042.
- Nixon, A.J., 2012. Chapter 91 - Phalanges and the Metacarpophalangeal and Metatarsophalangeal Joints, In: *Equine Surgery (Fourth Edition)*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 1300-1325.
- Noble, P., Singer, E.R., Jeffery, N.S., 2016. Does subchondral bone of the equine proximal phalanx adapt to race training? *J. Anat.* 229, 104-113.
- Norrdin, R.W., Stover, S.M., 2006. Subchondral bone failure in overload arthrosis: a scanning electron microscopic study in horses. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 6, 251-257.
- Nowlan, N.C., Sharpe, J., Roddy, K.A., Prendergast, P.J., Murphy, P., 2010. Mechanobiology of embryonic skeletal development: Insights from animal models. *Birth Defects Res. C. Embryo Today Rev.* 90, 203-213.
- O'Brien, T.R., Hornof, W.J., Meagher, D.M., 1981. Radiographic detection and characterization of palmar lesions in the equine fetlock joint. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 178, 231-237.
- Olive, J., D'Anjou, M.A., Alexander, K., Laverty, S., Theoret, C., 2010a. Comparison of magnetic resonance imaging, computed tomography, and radiography for assessment of noncartilaginous changes in equine metacarpophalangeal osteoarthritis. *Vet. Radiol. Ultrasound* 51, 267-279.
- Olive, J., D'Anjou, M.A., Girard, C., Laverty, S., Theoret, C., 2010b. Fat-suppressed spoiled gradient-recalled imaging of equine metacarpophalangeal articular cartilage. *Vet. Radiol. Ultrasound* 51, 107-115.
- Olstad, K., Cnudde, V., Masschaele, B., Thomassen, R., Dolvik, N.I., 2008. Micro-computed tomography of early lesions of osteochondrosis in the tarsus of foals. *Bone* 43, 574-583.
- Olstad, K., Ytrehus, B., Ekman, S., Carlson, C.S., Dolvik, N.I., 2009. Epiphyseal cartilage canal blood supply to the metatarsophalangeal joint of foals. *Equine Vet. J.* 41, 865-871.
- Ortved, K.F., Nixon, A.J., Mohammed, H.O., Fortier, L.A., 2012. Treatment of subchondral cystic lesions of the medial femoral condyle of mature horses with growth factor enhanced chondrocyte grafts: a retrospective study of 49 cases. *Equine Vet. J.* 44, 606-613.
- Parkin, T., Clegg, P., French, N., Proudman, C., Riggs, C., Singer, E., Webbon, P., Morgan, K., 2005. Risk factors for fatal lateral condylar fracture of the third metacarpus/metatarsus in UK racing. *Equine Vet. J.* 37, 192-199.
- Parkin, T.D., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2004a. Horse-level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds in the UK. *Equine Vet. J.* 36.

- Parkin, T.D., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2004b. Race and course level risk factors for fatal distal limb fracture in racing Thoroughbreds. *Equine Vet. J.* 36.
- Parkin, T.D.H., 2008. Epidemiology of Racetrack Injuries in Racehorses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 24, 1-19.
- Parkin, T.D.H., Clegg, P.D., French, N.P., Proudman, C.J., Riggs, C.M., Singer, E.R., Webbon, P.M., Morgan, K.L., 2006. Catastrophic fracture of the lateral condyle of the third metacarpus/metatarsus in UK racehorses – fracture descriptions and pre-existing pathology. *The Veterinary Journal* 171, 157-165.
- Parkin, T.D.H., French, N.P., Riggs, C.M., Morgan, K.L., Clegg, P.D., Proudman, C.J., Singer, E.R., Webbon, P.M., 2004c. Risk of fatal distal limb fractures among thoroughbreds involved in the five types of racing in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 154, 493-497.
- Pazzaglia, U.E., Beluffi, G., Benetti, A., Bondioni, M.P., Zarattini, G., 2011. A review of the actual knowledge of the processes governing growth and development of long bones. *Fetal Pediatr. Pathol.* 30, 199-208.
- Pinchbeck, G., Clegg, P., Boyde, A., Riggs, C., 2013. Pathological and clinical features associated with palmar/plantar osteochondral disease of the metacarpo/metatarsophalangeal joint in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J.* 45, 587-592.
- Pool, R., 1996. Pathologic manifestations of joint disease in the athletic horse. *Joint disease in the horse* 6, 87-103.
- Poole, A.R., Kojima, T., Yasuda, T., Mwale, F., Kobayashi, M., Laverty, S., 2001. Composition and Structure of Articular Cartilage: A Template for Tissue Repair. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 391, S26-S33.
- Powell, S., 2012. Low-field standing magnetic resonance imaging findings of the metacarpo/metatarsophalangeal joint of racing Thoroughbreds with lameness localised to the region: A retrospective study of 131 horses. *Equine veterinary journal* 44, 169-177.
- Pritzker, K.P., Aigner, T., 2010. Terminology of osteoarthritis cartilage and bone histopathology - a proposal for a consensus. *Osteoarthritis Cartilage* 18 Suppl 3, S7-9.
- Quinn, T.M., Hunziker, E.B., Hauselmann, H.J., 2005. Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis Cartilage* 13, 672-678.
- Radtke, C.L., Danova, N.A., Scollay, M.C., Santschi, E.M., Markel, M.D., Gómez, T.D.C., Muir, P., 2003. Macroscopic changes in the distal ends of the third metacarpal and metatarsal bones of Thoroughbred racehorses with condylar fractures. *Am. J. Vet. Res.* 64, 1110-1116.
- Ramzan, P.H., Palmer, L., Powell, S.E., 2015. Unicortical condylar fracture of the Thoroughbred fetlock: 45 cases (2006-2013). *Equine Vet. J.* 47, 680-683.
- Reichmann, P., Moure, A., Gamba, H.R., 2004. Bone mineral content of the third metacarpal bone in Quarter Horse foals from birth to one year of age. *J. Equine Vet. Sci.* 24, 391-396.
- Reissis, D., Abel, R.L., 2012. Development of fetal trabecular micro-architecture in the humerus and femur. *J. Anat.* 220, 496-503.



- Relave, F., Meulyzer, M., Alexander, K., Beauchamp, G., Marcoux, M., 2009. Comparison of radiography and ultrasonography to detect osteochondrosis lesions in the tarsocrural joint: A prospective study. *Equine veterinary journal* 41, 34-40.
- Rezakhaniha, R., Agianniotis, A., Schrauwen, J.T., Griffa, A., Sage, D., Bouten, C.V., van de Vosse, F.N., Unser, M., Stergiopoulos, N., 2012. Experimental investigation of collagen waviness and orientation in the arterial adventitia using confocal laser scanning microscopy. *Biomech Model Mechanobiol* 11, 461-473.
- Reznikov, N., Chase, H., Brumfeld, V., Shahar, R., Weiner, S., 2015. The 3D structure of the collagen fibril network in human trabecular bone: relation to trabecular organization. *Bone* 71, 189-195.
- Richardson, D.W., 2003. Chapter 58 - Diagnosis and Management of Osteochondrosis and Osseous Cyst-like Lesions, In: *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 549-554.
- Richardson, D.W., 2012. Chapter 92 - Third Metacarpal and Metatarsal Bones, In: *Equine Surgery (Fourth Edition)*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 1325-1338.
- Rick, M.C., O'Brien, T.R., Pool, R.R., Meagher, D., 1983. Condylar fractures of the third metacarpal bone and third metatarsal bone in 75 horses: radiographic features, treatments, and outcome. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183, 287-296.
- Riggs, C.M., 1999. Aetiopathogenesis of parasagittal fractures of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones - review of the literature. *Equine Vet. J.* 31, 116-120.
- Riggs, C.M., Pilsworth, R., 2014. 22 - Repetitive strain injuries of the skeleton in high performance equine athletes, In: *Equine Sports Medicine and Surgery (Second Edition)*. W.B. Saunders, pp. 457-471.
- Riggs, C.M., Whitehouse, G.H., Boyde, A., 1999a. Pathology of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones of the horse. *Equine Vet. J.* 31, 140-148.
- Riggs, C.M., Whitehouse, G.H., Boyde, A., 1999b. Structural variation of the distal condyles of the third metacarpal and third metatarsal bones in the horse. *Equine Vet. J.* 31, 130-139.
- Rivas, R., Shapiro, F., 2002. Structural stages in the development of the long bones and epiphyses: a study in the New Zealand white rabbit. *J. Bone Joint Surg. Am.* 84-A, 85-100.
- Robin Poole, A., 2001. Cartilage in Health and disease, In: *Arthritis and allied conditions: a textbook of Rheumatology*, 14th ed. Lippincott Williams & Wilkins %@ 0781722403 9780781722407, Philadelphia, PA [etc.], pp. 226-284.
- Rosenberg, L., 1971. Chemical basis for the histological use of safranin O in the study of articular cartilage. *The Journal of Bone & Joint Surgery* 53, 69-82.
- Rubio-Martinez, L.M., Cruz, A.M., Gordon, K., Hurtig, M.B., 2008. Structural characterization of subchondral bone in the distal aspect of third metacarpal bones from Thoroughbred racehorses via micro-computed tomography. *Am. J. Vet. Res.* 69, 1413-1422.
- Rubio-Martínez, L.M., Cruz, A.M., Gordon, K., Hurtig, M.B., 2008. Mechanical properties of subchondral bone in the distal aspect of third metacarpal bones from Thoroughbred racehorses. *Am. J. Vet. Res.* 69, 1423-1433.

- Rubio-Martinez, L.M., Cruz, A.M., Inglis, D., Hurtig, M.B., 2010. Analysis of the subchondral microarchitecture of the distopalmar aspect of the third metacarpal bone in racing Thoroughbreds. *Am. J. Vet. Res.* 71, 1148-1153.
- Salle, B.L., Rauch, F., Travers, R., Bouvier, R., Glorieux, F.H., 2002. Human fetal bone development: histomorphometric evaluation of the proximal femoral metaphysis. *Bone* 30, 823-828.
- Santschi, E.M., 2008. Articular Fetlock Injuries in Exercising Horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 24, 117-132.
- Santschi, E.M., Williams, J.M., Morgan, J.W., Johnson, C.R., Bertone, A.L., Juzwiak, J.S., 2014. Preliminary Investigation of the Treatment of Equine Medial Femoral Condylar Subchondral Cystic Lesions With a Transcondylar Screw. *Vet. Surg.*
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J.-Y., White, D.J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., Cardona, A., 2012. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Meth* 9, 676-682.
- Seeman, E., Delmas, P.D., 2006. Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N. Engl. J. Med.* 354, 2250-2261.
- Sharir, A., Stern, T., Rot, C., Shahar, R., Zelzer, E., 2011. Muscle force regulates bone shaping for optimal load-bearing capacity during embryogenesis. *Development* 138, 3247-3259.
- Shingleton, W.D., Mackie, E.J., Cawston, T.E., Jeffcott, L.B., 1997. Cartilage canals in equine articular/epiphyseal growth cartilage and a possible association with dyschondroplasia. *Equine Vet. J.* 29, 360-364.
- Skedros, J.G., Baucom, S.L., 2007. Mathematical analysis of trabecular ‘trajectories’ in apparent trajectorial structures: the unfortunate historical emphasis on the human proximal femur. *J. Theor. Biol.* 244, 15-45.
- Stepnik, M.W., Radtke, C.L., Scollay, M.C., Oshel, P.E., Albrecht, R.M., Santschi, E.M., Markel, M.D., Muir, P., 2004. Scanning electron microscopic examination of third metacarpal/third metatarsal bone failure surfaces in thoroughbred racehorses with condylar fracture. *Vet. Surg.* 33, 2-10.
- Stover, S.M., 2003. The epidemiology of Thoroughbred racehorse injuries. *Clin. Tech. Eq. P.* 2, 312-322.
- Stover, S.M., Pool, R.R., Martin, R.B., Morgan, J.P., 1992. Histological features of the dorsal cortex of the third metacarpal bone mid-diaphysis during postnatal growth in thoroughbred horses. *J. Anat.* 181 ( Pt 3), 455-469.
- Symons, J.E., Entwistle, R.C., Arens, A.M., Garcia, T.C., Christiansen, B.A., Fyhrie, D.P., Stover, S.M., 2012. Mechanical and morphological properties of trabecular bone samples obtained from third metacarpal bones of cadavers of horses with a bone fragility syndrome and horses unaffected by that syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 73, 1742-1751.
- Tanck, E., Homminga, J., van Lenthe, G.H., Huiskes, R., 2001. Increase in bone volume fraction precedes architectural adaptation in growing bone. *Bone* 28, 650-654.

- Taylor, D., Casolari, E., Bignardi, C., 2004. Predicting stress fractures using a probabilistic model of damage, repair and adaptation. *J Orthop Res* 22, 487-494.
- Thomason, J., 1985. The relationship of structure to mechanical function in the third metacarpal bone of the horse, *Equus caballus*. *Can. J. Zool.* 63, 1420-1428.
- Thomsen, J.S., Ebbesen, E.N., Mosekilde, L., 2002. Predicting human vertebral bone strength by vertebral static histomorphometry. *Bone* 30, 502-508.
- Thomsen, J.S., Laib, A., Koller, B., Prohaska, S., Mosekilde, L., Gowin, W., 2005. Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies. *J. Microsc.* 218, 171-179.
- Trope, G.D., Ghasem-Zadeh, A., Anderson, G.A., Mackie, E.J., Whitton, R.C., 2015. Can high-resolution peripheral quantitative computed tomography imaging of subchondral and cortical bone predict condylar fracture in Thoroughbred racehorses? *Equine Vet. J.* 47, 428-432.
- Tsubota, K.-i., Suzuki, Y., Yamada, T., Hojo, M., Makinouchi, A., Adachi, T., 2009. Computer simulation of trabecular remodeling in human proximal femur using large-scale voxel FE models: Approach to understanding Wolff's law. *J. Biomech.* 42, 1088-1094.
- Tull, T.M., Bramlage, L.R., 2011. Racing prognosis after cumulative stress-induced injury of the distal portion of the third metacarpal and third metatarsal bones in Thoroughbred racehorses: 55 cases (2000–2009). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238, 1316-1322.
- Turley, S.M., Thambyah, A., Riggs, C.M., Firth, E.C., Broom, N.D., 2014. Microstructural changes in cartilage and bone related to repetitive overloading in an equine athlete model. *J. Anat.* 224, 647-658.
- van Turnhout, M.C., Kranenbarg, S., van Leeuwen, J.L., 2011. Contribution of postnatal collagen reorientation to depth-dependent mechanical properties of articular cartilage. *Biomech Model Mechanobiol* 10, 269-279.
- van Weeren, P.R., 2012. Osteochondrosis, In: *Equine Surgery (Fourth Edition)*. W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 1239-1255.
- van Weeren, P.R., Jeffcott, L.B., 2013. Problems and pointers in osteochondrosis: Twenty years on. *Vet. J.* 197, 96-102.
- Vos, N.J., 2008. Incidence of osteochondrosis (dissecans) in Dutch Warmblood horses presented for prepurchase examination. *Ir. Vet. J.* 61, 33-37.
- Whitton, R.C., Mirams, M., Mackie, E.J., Anderson, G.A., Seeman, E., 2013. Exercise-induced inhibition of remodelling is focally offset with fatigue fracture in racehorses. *Osteoporos. Int.* 24, 2043-2048.
- Whitton, R.C., Trope, G.D., Ghasem-Zadeh, A., Anderson, G.A., Parkin, T.D., Mackie, E.J., Seeman, E., 2010. Third metacarpal condylar fatigue fractures in equine athletes occur within previously modelled subchondral bone. *Bone* 47, 826-831.
- Wolff, J., 1892. *Das Gesetz der Transformation der Knochen (The Law of Bone Remodeling)*, In: Verlag von August Hirschwald, Berlin, Germany.

- Wolschrijn, C.F., Weijs, W.A., 2004. Development of the trabecular structure within the ulnar medial coronoid process of young dogs. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 278A, 514-519.
- Wright, I.M., Minshall, G.J., 2014. Identification and treatment of osteochondritis dissecans of the distal sagittal ridge of the third metacarpal bone. *Equine Vet. J.* 46, 585-588.
- Ytrehus, B., Andreas Haga, H., Mellum, C.N., Mathisen, L., Carlson, C.S., Ekman, S., Teige, J., Reinholt, F.P., 2004. Experimental ischemia of porcine growth cartilage produces lesions of osteochondrosis. *J Orthop Res* 22, 1201-1209.
- Ytrehus, B., Carlson, C.S., Ekman, S., 2007. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet. Pathol.* 44, 429-448.
- Zekas, L.J., Bramlage, L.R., Embertson, R.M., Hance, S.R., 1999a. Characterisation of the type and location of fractures of the third metacarpal/metatarsal condyles in 135 horses in central Kentucky (1986–1994). *Equine Vet. J.* 31, 304-308.
- Zekas, L.J., Bramlage, L.R., Embertson, R.M., Hance, S.R., 1999b. Results of treatment of 145 fractures of the third metacarpal/metatarsal condyles in 135 horses (1986–1994). *Equine Vet. J.* 31, 309-313.
- Zubrod, C.J., Schneider, R.K., Tucker, R.L., Gavin, P.R., Ragle, C.A., Farnsworth, K.D., 2004. Use of magnetic resonance imaging for identifying subchondral bone damage in horses: 11 cases (1999–2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224, 411-418.