

Université de Montréal

**Description du développement épiphysaire du tarse et du
grasset équin à l'IRM et au CT; un pas vers la
compréhension de l'OCD**

par Pascal Fontaine

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

Avril, 2013

© Pascal Fontaine, 2013

Résumé

L'ostéochondrite disséquante (OCD) est un défaut focal du processus d'ossification endochondrale en des sites spécifiques au niveau épiphysaire. Elle est caractérisée par la présence de fragments ostéochondraux pouvant se détacher de la surface articulaire. Cette maladie a un impact majeur sur les performances athlétiques des chevaux. Les deux hypothèses principales présentement véhiculées quant à sa pathogénie sont une nécrose ischémique du cartilage de croissance et une altération du métabolisme de la matrice de collagène de type II au sein du cartilage de croissance. Malgré de nombreuses années de recherche sur le sujet, plusieurs aspects de cette maladie demeurent inconnus. L'objectif de cette étude était de décrire le développement épiphysaire équin au niveau du membre pelvien à l'aide de l'imagerie médicale afin de déterminer si des variations du processus de maturation à certains sites pouvaient être un facteur prédisposant au développement de lésions d'OCD.

Des membres pelviens de fœtus et de jeunes poulains ont été étudiés post-mortem. L'épiphyse du fémur distal, tibia distal et du talus ont été examinées par tomодensitométrie (CT) et résonance magnétique 1.5 Tesla (IRM) dans le but de documenter le degré et le patron d'ossification, la régularité du front d'ossification, de même que le pourcentage du diamètre épiphysaire demeurant occupé par le complexe de cartilage articulaire-épiphysaire, et ce au niveau de certains sites prédéterminés.

Les centres secondaires d'ossification (SOCs) ont été détectés pour la première fois à 7 mois de gestation (MOG) au niveau de l'épiphyse fémorale distale et à 8 MOG au niveau de

l'épiphyse tibiale distale et du talus. À 8-9 MOG la lèvre latérale de la trochlée fémorale, la malléole médiale du tibia (MM) et la partie crâniale de la crête intermédiaire du tibia distal (DIRT(Cr)), tous des sites prédisposés à la maladie, avaient le plus haut pourcentage de cartilage de tous les sites évalués. Post-partum, le pourcentage de cartilage de la MM et de la DIRT(Cr) sont demeurés importants.

Le CT et l'IRM ont su illustrer le développement épiphysaire équin et soutenir d'avantage le fait qu'un cartilage plus épais à certains sites articulaires pourrait avoir un rôle dans le développement de lésions d'OCD.

Mots-clés : Fœtus équin, Cheval, Ostéochondrite disséquante, Cartilage, Imagerie médicale, Développement articulaire.

Abstract

Osteochondrosis dissecans (OCD) is a focal failure of endochondral ossification of the epiphysis characterized by the presence of cartilage flaps and osteochondral fragments. This disease has a major impact on equine athletic performances. The two current principal hypotheses on etiopathogenesis are either an ischemic necrosis of growth cartilage or altered cartilage type II collagen metabolism. Despite years of research, many knowledge gaps on the etiology of this disease remain. The objective of this study was to image epiphyseal development in the equine pelvic limb to determine whether there was a variation in site maturation that could be a predisposing factor for OCD.

Pelvic limbs (fetuses and foals) were studied post-mortem. The epiphyses of the distal femur, tibia and talus were scanned with computed tomography (CT) and 1.5 Tesla magnetic resonance imaging (MRI) to investigate the degree and pattern of ossification, the regularity of the ossification front and cartilage percentage (articular epiphyseal cartilage thickness as a percentage of total epiphyseal diameter) at predetermined sites.

The secondary ossification centers (SOC) were first identified in the femoral epiphyses at 7 months of gestation (MOG), and both distal tibia and talus at 8 MOG. At 8-9 MOG the lateral trochlear ridge of the femur, medial malleolus of the tibia (MM), cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia (DIRT(Cr)), all OCD susceptible sites, had the greatest cartilage percentage compared to all other sites assessed. Post-partum, the cartilage percentage of the MM and DIRT(Cr), common sites of OCD, remained high.

CT and MRI images illustrate equine epiphyseal development and provide additional evidence that greater cartilage thickness at specific joint sites could play a role in the development of OCD.

Keywords : Equine fetus, Horse, Osteochondrosis dissecans, Cartilage, Medical imaging, Joint development

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des sigles et abréviations.....	ix
Remerciements.....	xiii
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Recension de la littérature.....	3
1.1 Description d'une articulation synoviale.....	3
1.1.1 Fonctions de l'articulation.....	3
1.1.2. Composantes.....	3
1.1.2.1. Macroscopiques.....	3
1.1.2.2. Structure et arrangement microscopique.....	3
1.2 Développement de l'épiphyse et ossification endochondrale.....	4
1.2.1 Origines embryonnaires.....	4
1.2.2 Développement d'un os long et ossification endochondrale.....	5
1.2.2.1 Délimitation des os.....	5
1.2.2.2 Ossification diaphysaire.....	5
1.2.2.3 Ossification épiphysaire.....	6
1.2.2.4 Évolution de la vascularisation de l'épiphyse.....	8
1.3 Ostéocondrose.....	9
1.3.1 Définition.....	9
1.3.2 Sites prédisposés chez l'équin.....	9
1.3.3 Pathogénèse de l'ostéocondrose.....	10
1.3.3.1 Nécrose ischémique du cartilage de croissance.....	10
1.3.3.2 Problème de Collagène type II.....	11
1.3.3.2.1 Structure.....	12

1.3.3.2.2 Cuivre.....	12
1.3.3.2.3 Synthèse de collagène de type II et génétique	12
1.3.3.2.4 Bio-marqueurs.....	13
1.3.4 Étiologies de l'ostéochondrose	14
1.3.4.1 Difficultés quant à l'étude de l'étiologie de l'ostéochondrose	14
1.3.4.2 Croissance rapide et nutrition	14
1.3.4.3 Hérité.....	16
1.3.4.4 Exercice et traumatismes	19
1.3.4.4.1 Exercice et maturation articulaire	19
1.3.4.4.2 Exercice et OCD	20
1.4 Imagerie de l'épiphyse.....	20
1.4.1 Tomodensitométrie	20
1.4.1.1 Bref rappel des principes physiques	20
1.4.1.2 Pertinence et avantages de la modalité	24
1.4.1.3 Paramétrage de la tomodensitométrie pour l'imagerie articulaire.....	24
1.4.1.4 Apparence de l'épiphyse en développement.....	25
1.4.1.5 Apparence des lésions d'ostéochondrose à la tomodensitométrie	27
1.4.2 Imagerie par résonance magnétique.....	29
1.4.2.1 Pertinence et avantages de la modalité	29
1.4.2.2 Rappel des principes de physique.....	29
1.4.2.3 Description des séquences IRM et celles utilisées en imagerie articulaire.....	31
1.4.2.4 Apparence de l'épiphyse en développement.....	34
1.4.2.5 Apparence des lésions d'ostéochondrose à l'IRM	38
1.5 Conclusion	39
Hypothèses et objectif.....	40
Chapitre 2 : Article.....	41
Chapitre 3 : Discussion.....	77
Conclusion	87
Bibliographie.....	88
Annexe : Illustration des différentes séquences IRM utilisées et complément d'information sur l'ossification au niveau du grasset et du tarse.....	xv

Liste des tableaux

Tableau I. Différents sites articulaires et leurs lésions spécifiques d’OC.....	10
Tableau II. Taux d’héritabilité de lésions d’OCD classé par articulation et race.....	17
Tableau III. Moment d’apparition radiographique des différents centres d’ossification secondaires du carpe et du tarse équin.....	26
Tableau IV. Type de signal IRM associé à différentes structures de l’épiphyse humaine en développement selon diverses séquences.....	36
Article : Computed tomography and magnetic resonance imaging in the study of joint development in the equine pelvic limb	
Table 1: Abbreviations used in this article and their meaning.....	66
Table 2: Magnetic resonance imaging sequences employed to image the distal femur, distal tibia and talus epiphyses.....	67
Table 3: CT and MRI ossification scores: Distal femur/tibia and talus.....	68
Table 4: CT and MRI contour score: Distal femur/tibia and talus.....	69
Table 5: Cartilage percentage measured on MRI at selected sites in the distal femur, tibia and talus in utero and post partum ranked according to a Freidman’s test.....	70

Liste des figures

Figure 1. Représentation de l'évolution du processus d'ossification endochondrale de l'os long.....	7
Figure 2. Fragment de type OCD au niveau du condyle fémoral médial d'un cheval tel que vu à l'aide du CT et de l'arthrographie avec milieu de contraste.....	28
Figure 3. Correspondance des différentes couches de signal IRM d'une épiphyse d'agneau nouveau-né aux zones histologiques associées	37

Article : Computed tomography and magnetic resonance imaging in the study of joint development in the equine pelvic limb

Fig.1. Bones and sites studied.....	72
Fig. 2. 3Dimensions Computed Tomography reformatted images of the distal femur (upper row), distal tibia and talus (lower row) illustrating the evolution of endochondral ossification of the secondary ossification centers in specimens of all age groups.....	73
Fig.3. Sagittal T2 Weighted MRI (Magnetic Resonance Imaging) images of the distal femoral epiphysis (upper row) and dorsal T2 Weighted MRI images of the distal tibia and tarsus (lower row) of specimens of all age groups representing epiphyseal development.....	74
Fig.4. Sagittal T2 Weighted Magnetic Resonance Imaging images of the distal femoral epiphysis of specimens from groups 2-4.....	74
Fig.5. Dorsal T2 Weighted Magnetic Resonance Imaging images of the distal tibial epiphysis and talus of specimens from groups 2-4.....	75
Fig.6. MRI and histology images revealing irregularity of the ossification front.....	76

Liste des sigles et abréviations

AECC :	Articular-epiphyseal cartilage complex, complexe de cartilage articulaire-épiphysaire
CT :	Computed tomography, tomodensitométrie
DIRT(Cd) :	Caudal part of the distal intermediate ridge of the tibia, partie caudale de la crête intermédiaire du tibia distal
DIRT(Ce) :	Central part of the distal intermediate ridge of the tibia, partie centrale de la crête intermédiaire du tibia distal
DIRT(Cr) :	Cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia, partie craniale de la crête intermédiaire du tibia distal
FE :	Frequency encoding, codage de fréquence
FG :	Femoral inter-trochlear groove, sillon intertrochléaire fémoral
FGRE :	Fast gradient recalled echo, echo de gradient rapide avec état d'équilibre
FOV :	Field of view, champ de vue
FP/FT :	Femoropatellar/Femorotibial joint, articulation fémoropatellaire/fémorotibiale
FS :	Fat saturated, saturation des gras
FSE :	Fast spin echo, écho de spin rapide
GE :	Gradient echo, écho de gradient
GRE :	Gradient recalled echo, echo de gradient avec état d'équilibre
IGF-1 :	Insulin growth factor 1, facteur de croissance apparenté à l'insuline 1
IGF-2 :	Insulin growth factor 2, facteur de croissance apparenté à l'insuline 2
kVp :	Kilovoltage peak, différence de potentiel maximale

LM :	Lateral malleolus of the distal tibia, malléole latérale du tibia
LTF :	Lateral trochlear ridge of the femur, lèvre trochléaire latérale du fémur
LTT :	Lateral trochlear ridge of the talus, lèvre trochléaire latérale du talus
mA :	Miliamperage, miliampérage
MM :	Medial malleolus of the distal tibia, malléole médiale du tibia
MOG :	Months of gestation, mois de gestation
MRI :	Magnetic resonance imaging, imagerie par résonance magnétique
MTF :	Medial trochlear ridge of the femur, lèvre trochléaire médiale du fémur
MTT :	Medial trochlear ridge of the talus, lèvre trochléaire médiale du talus
NEX :	Number of excitations, nombre d'excitations
OC :	Ostéochondrosis, ostéochondrose
OCD :	Ostéochondrosis dissecans, ostéochondrite disséquante
PD :	Proton density, densité de protons
PE :	Phase encoding, codage de phase
SE :	Spin echo, écho de spin
SOC :	Secondary ossification center, centre secondaire d'ossification
SPGR :	Spoiled gradient recalled echo, écho de gradient avec destruction de l'aimantation transversale
STIR :	Short tau inversion recovery, inversion récupération à court tau
T1 :	Temps de relaxation T1
T2 :	Temps de relaxation T2
TE :	Echo time, temps d'écho

TI :	Temps d'inversion
TR :	Repetition time, temps de répétition
VEGF :	Vascular endothelial growth factor, facteur de croissance endothélial vasculaire
W :	Weighted, pondéré
W/L :	Window Width / Level, largeur de fenêtre et niveau de fenêtre
WPP :	Weeks post-partum, semaines post-partum

Au bonheur de terminer ce que l'on entreprend!

Remerciements

Puisque j'ai amorcé ce projet il y a plusieurs années et que je n'ai pu y travailler qu'à temps partiel je tiens à débiter en remerciant tous les intervenants ayant été mêlés de près ou de loin à ce projet pour leur patience.

Je tiens à remercier Dre Sheila Laverty, la directrice principale de cette aventure qui a bien voulu, il y a plusieurs années de cela, accepter un étudiant au DMV comme étudiant à la maîtrise. Elle a su user de son caractère de chirurgienne pour accélérer mes processus décisionnels. Ses conseils, nombreuses corrections et rencontres ont su, finalement, me mener à bon port.

Je tiens également à remercier du fond du cœur la Dre Kate Alexander, co-directrice, pour sa franchise et sa capacité à me conforter et guider dans ma vision de ce que devrait être ce projet de maîtrise. Merci également pour nos discussions parfois plus philosophiques que scientifiques sur l'évolution de l'individu!

Je veux également remercier le Dr Laurent Blond, co-directeur, pour ses conseils et sa propension à toujours vouloir aider et ce même lorsqu'il est débordé. Mention spéciale également pour son sens de l'humour, franchement le plus développé de tous les radiologistes que je connaisse, définitivement la personne à qui parler pour contrer les épisodes de grisaille inhérents à un projet de recherche.

J'aimerais également remercier Hélène Richard et Nadine Bouchard pour leur aide avec la préparation des spécimens parfois peu appétissants. Remercier également Suzie Lachance, Christine Chevrier, Anne-Marie Martel et Geneviève Rouleau, nos merveilleuses radio-technologues pour leur flexibilité et leur aide dans le processus d'imagerie des nombreux spécimens odorants.

Je tiens aussi à remercier toute l'équipe du secrétariat aux affaires étudiantes de la faculté de médecine vétérinaire pour l'aide que vous avez pu me procurer dans toutes les étapes de la réalisation de ce projet.

Enfin, un merci tout spécial à José Denis-Robichaud, une personne exceptionnelle et complice de plusieurs aspects de ma vie, incluant ce projet. Merci à mes parents et tous mes amis pour m'avoir constamment martelé de la question suivante : Alors, c'est terminé cette maîtrise? Ma réponse peut maintenant passer de « Pratiquement! » à « Oui! »

Introduction

L'ostéochondrite disséquante est une maladie articulaire développementale atteignant entre autres le cheval, l'homme, le porc, le chien et le poulet. Elle se caractérise par un défaut focal du processus d'ossification endochondrale au niveau épiphysaire évoluant vers la présence de fragments ostéochondraux pouvant se détacher de la surface articulaire et résulter en une souris articulaire (Rejno and Stromberg 1978, van Weeren 2006a, Carlson and Weisbrode 2012). Cette maladie, causant inflammation et douleur, diminue les performances des animaux atteints tout en ayant un impact économique négatif sur l'industrie équine (Jeffcott 1991). Beaucoup de recherche quant à l'origine de cette maladie considérée multi-étiologique a été réalisée au fil des années et plusieurs hypothèses ont été évaluées sans parvenir à identifier de facteur responsable de la maladie (van Weeren 2006a, Ytrehus, Carlson et al. 2007). Les deux hypothèses principales présentement véhiculées quant à sa pathogénie sont une nécrose ischémique du cartilage de croissance et une altération du métabolisme de la matrice de collagène de type II au sein du cartilage de croissance (Laverty and Girard 2013). Depuis plusieurs années, les efforts de recherche se sont tournés vers l'étude de lésions précoces chez de très jeunes poulains (Olstad, Ytrehus et al. 2007, Cnudde, Masschaele et al. 2008, Lecocq, Girard et al. 2008, Olstad, Ytrehus et al. 2009, Olstad, Ytrehus et al. 2011, Olstad, Hendrickson et al. 2013). Il a été rapporté, suite à des études histologiques du cartilage de croissance épiphysaire équin, que les sites prédisposés à l'OCD conservaient un cartilage plus épais que les sites contrôles (Firth and Greydanus 1987, Olstad, Ytrehus et al. 2007, Olstad, Ytrehus et al. 2008a). Des travaux évaluant l'évolution de la vascularisation et de la matrice de collagène de type II du cartilage épiphysaire du fœtus et du

poulain ont récemment été réalisés dans notre laboratoire, mettant une fois de plus en lumière l'importance de l'étude de la maladie chez de jeunes sujets ou foetus (Lecocq, Girard et al. 2008). Le développement épiphysaire équin n'a été que très peu décrit dans la littérature vétérinaire (Firth and Greydanus 1987, Firth and Poulos 1993, Soana, Gnudi et al. 1998) et n'a jamais été décrit en utilisant des modalités d'imagerie médicale plus récentes comme le CT scan et l'IRM. Considérant que des évènements précoces lors du développement épiphysaire pourraient avoir un rôle à jouer dans le développement d'OCD, il nous apparaissait important de mettre en perspective la séquence développementale épiphysaire équine du foetus jusqu'au jeune poulain, telle que vue par l'entremise du CT et de l'IRM, tout en prêtant une attention particulière aux sites communs d'OCD.

Chapitre 1 : Recension de la littérature

1.1 Description d'une articulation synoviale

1.1.1 Fonctions de l'articulation

L'articulation synoviale ou diarthrose est le type d'articulation ayant le plus d'amplitude de mouvement. Elle assure deux fonctions majeures au sein du système musculosquelettique: permettre le mouvement du membre et assurer le transfert des charges. La première fonction majeure permet au membre d'effectuer un mouvement efficace et répétable sans toutefois engendrer de friction ou de douleur. La deuxième fonction majeure de l'articulation synoviale est de transmettre le poids et les forces engendrées lors de la locomotion aux autres parties d'un membre tout en conservant une bonne stabilité (Todhunter 1996).

1.1.2. Composantes

1.1.2.1. Macroscopiques

L'articulation synoviale se compose d'extrémités osseuses souvent sous forme d'épiphyse ou d'os courts recouverts d'une couche de cartilage articulaire hyalin inclus dans une capsule articulaire fibreuse, elle-même tapissée d'une membrane synoviale. Le tout baigne dans un liquide visqueux aux fonctions de lubrification et d'échange de nutriments appelé liquide synovial. Les os formant certaines articulations sont stabilisés non seulement par la capsule articulaire, mais aussi par des structures intra et extra-articulaires comme les ligaments, ménisques, tendons et muscles (Eurell and Sickle 2006).

1.1.2.2. Structure et arrangement microscopique

Sous le cartilage articulaire, qui sera décrit ultérieurement, se trouve l'os sous-chondral. Il est composé d'une mince et dense couche d'os compact sous laquelle se trouve de l'os spongieux ou trabéculaire (Banks 1993c, Fawcett 1994). À l'os sous-chondral est attaché par imbrication le tissu cartilagineux sans qu'il n'y ait de fibre de collagène qui unisse ces 2

couches (Eurell and Sickle 2006). La zone intimement attachée à l'os sous-chondral est composée de cartilage calcifié et principalement de fibres de collagène de type X. La zone de transition entre le cartilage articulaire et le cartilage calcifié est représentée par une fine ligne appelée *tidemark*. Elle est le front de minéralisation du cartilage et est plus dense que le cartilage adjacent. La cohésion entre le cartilage hyalin et le cartilage calcifié est assurée par des fibres de collagène de type II qui traversent le *tidemark* (Madry, van Dijk et al. 2010). La partie non calcifiée du cartilage articulaire de type hyalin spécialisé se compose de 3 zones peu différenciées. La zone profonde contenant des cellules matures et hypertrophiques, puis la zone intermédiaire contenant des cellules rondes à différents stades de maturation. Finalement, la zone superficielle forme la surface articulaire contenant des chondrocytes aplatis parallèlement à cette dernière (Banks 1993a). La matrice sécrétée par les chondrocytes se compose de collagène majoritairement de type II mais aussi de type VI, IX, X, XI, XII, XIV en plus faibles proportions (Poole, Kojima et al. 2001), ainsi que de divers glycosaminoglycans. La synovie est formée d'un mélange de liquide analogue au plasma et de molécules d'acide hyaluronique. Ces dernières sont sécrétées par les cellules synoviales. Suite à la mise en charge, l'eau qu'elle contient entre et sort du cartilage articulaire, permettant ainsi une bonne lubrification et un échange primordial de nutriments (Eurell and Sickle 2006).

1.2 Développement de l'épiphyse et ossification endochondrale

1.2.1 Origines embryonnaires

Chez les mammifères, pratiquement toutes les structures de l'embryon se développent à partir d'une des couches suivantes: ectoderme, mésoderme ou endoderme. Les os longs et autres composantes du squelette appendiculaire originent quant à eux du mésoderme. Les cellules du mésoderme, sous l'influence de divers facteurs de croissance, mènent à la production d'un manchon de cellules mésenchymateuses. L'extrémité de ce manchon est délimitée par une simple couche de cellules épidermales sous laquelle la prolifération des cellules mésenchymateuses est possible. Dans ce processus de croissance du manchon dans le plan longitudinal, les cellules mésenchymateuses se condensent pour former le modèle cartilagineux du membre (Rivas and Shapiro 2002, Karaplis 2008).

1.2.2 Développement d'un os long et ossification endochondrale

1.2.2.1 Délimitation des os

L'os long se développe ensuite par un processus de remodelage d'un manchon mésenchymateux qui est continu et ne contient aucune trace de subdivisions en différents os. Un mécanisme, partiellement inconnu à ce jour, impliquerait un gène *Hox* qui mènerait à la condensation de ces cellules à un endroit précis et à la formation de jonctions communicantes entre ces dernières. Les cellules mésenchymateuses se transforment ensuite en cartilage articulaire et autres composantes de l'articulation synoviale (Karaplis 2008). Peu après, dans le centre des sections mésenchymateuses, les cellules commencent à se condenser et sécrètent une matrice de protéoglycans qui marque la transition vers un modèle cartilagineux. Le centre d'ossification primaire se forme ensuite au sein des chondrocytes hypertrophiés au centre de la diaphyse.

1.2.2.2 Ossification diaphysaire

En périphérie de ce centre d'ossification, les cellules mésenchymales se différencient en ostéoblastes sous l'influence du facteur *Indian hedgehog* (Nakamura, Aikawa et al. 1997). Le collet osseux se forme alors directement sous le périoste par un processus d'ossification intra-membranaire résultant en une matrice d'os tressé. Le cartilage minéralisé est un tissu avasculaire; l'arrivée de vaisseaux amènera des ostéoclastes qui cliveront la matrice calcifiée, créant un espace pour plus d'apport vasculaire et la déposition de moelle osseuse (Deckers, Van Beek et al. 2002, Mackie, Ahmed et al. 2008). Les cellules souches peuvent ensuite accéder au modèle clivé et participer au processus de remplacement du cartilage par de l'os (Banks 1993). Un alignement de chondrocytes est observable au niveau des physes qui commencent à se former, dans les extrémités du centre primaire d'ossification, et, avec le développement de l'os, les chondrocytes migrent vers leurs endroits définitifs respectifs. La jonction entre la physe et la métaphyse est rapidement envahie par des vaisseaux sanguins sous l'influence du facteur de croissance endothélial vasculaire ou *vascular endothelial*

growth factor (VEGF) (Alvarez, Costales et al. 2005) et l'ossification de cette région de chondrocytes hypertrophiés et nouvellement calcifiés s'opère dès lors.

1.2.2.3 Ossification épiphysaire

L'épiphyse est alors composée du complexe cartilagineux articulaire-épiphysaire, qui a pour rôle de donner la forme aux extrémités des os longs (Ytrehus, Carlson et al. 2007). L'épiphyse, jusqu'alors cartilagineuse et avasculaire, est envahie par des vaisseaux provenant du péri-chondre et passant par des canaux cartilagineux évitant le cartilage articulaire situé à la surface (Figure 1). Les chondrocytes situés au centre de l'épiphyse s'hypertrophient ensuite et une bande périphérique deviendra la plaque de croissance du centre secondaire d'ossification. Puis, des vaisseaux indispensables à l'ossification pénètrent cette zone suite à l'enlèvement des septa transverses par les ostéoclastes et fournissent des cellules mésenchymales et des pré-ostéoblastes (Blumer, Longato et al. 2004, Blumer, Schwarzer et al. 2006, Blumer, Longato et al. 2008). La matrice calcifiée sera clivée par les ostéoclastes de la même manière que la matrice du centre primaire d'ossification diaphysaire l'a été. La matrice adjacente à la région hypertrophiée s'ossifie selon un modèle excentrique initialement sphérique puis hémisphérique avec la face plate en regard de la physe. La moelle, d'abord hématopoïétique, cède la place à du gras, aussi selon un modèle excentrique avec persistance de moelle rouge à la périphérie du front d'ossification pour sa période active. L'épiphyse s'ossifie donc graduellement par le processus d'ossification endochondrale (Rivas and Shapiro 2002), qui regroupe les étapes mentionnées précédemment. Ce processus, au cours duquel du cartilage est ajouté et constamment remplacé par de l'os, permet aux os de croître tout en permettant une mise en charge nécessaire aux déplacements (Ytrehus, Carlson et al. 2007).

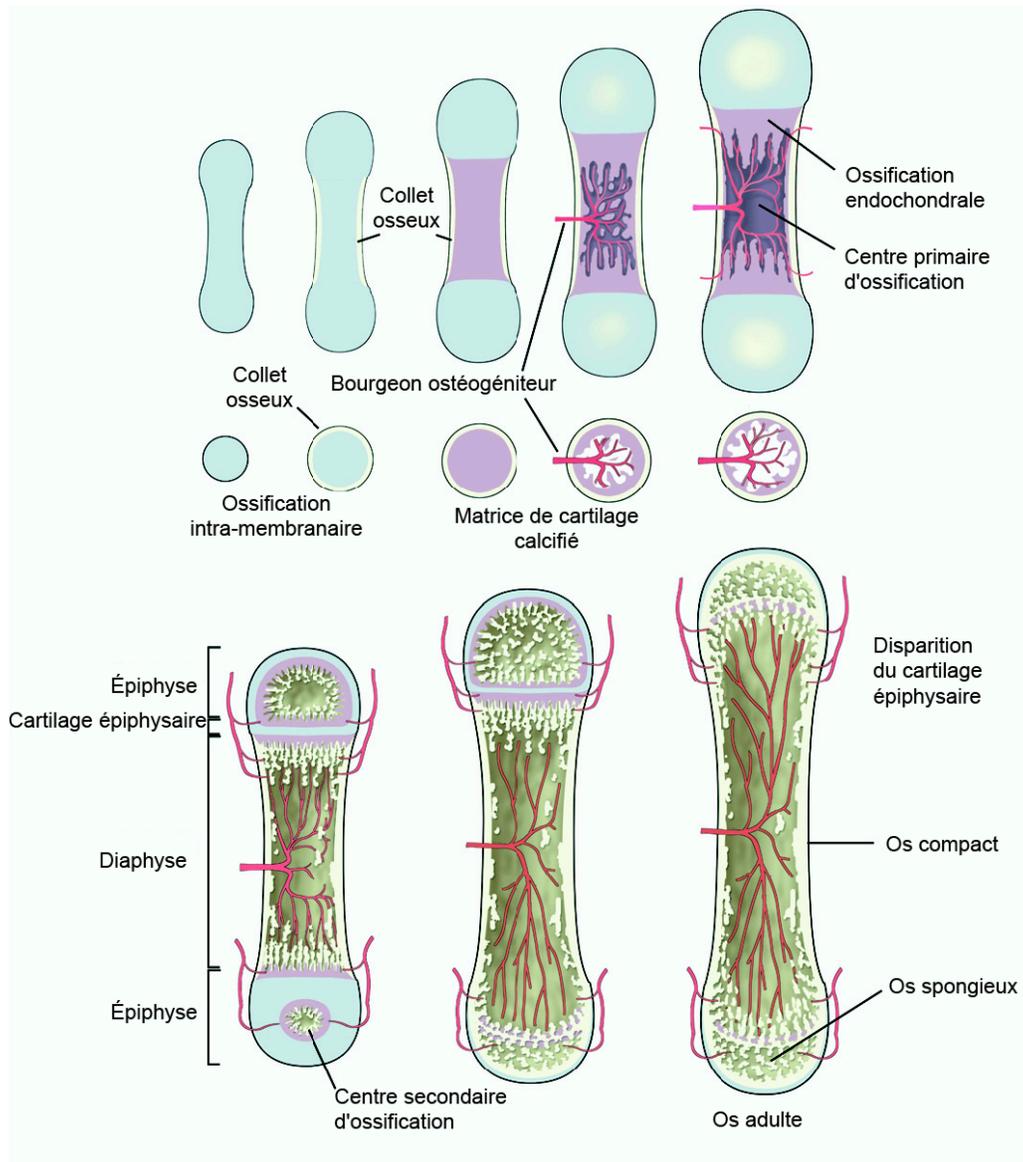


Figure 1. Représentation de l'évolution du processus d'ossification endochondrale de l'os long.

Adaptée de «Etiology, Diagnosis, and Treatment of OC(D)» par van Weeren, P. R. 2006, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 5, p. 249. © Elsevier (2006). Reproduit avec permission.

1.2.2.4 Évolution de la vascularisation de l'épiphyse

Alors que, dans la diaphyse, le manchon osseux se forme avant l'arrivée d'un apport vasculaire, l'invasion du cartilage épiphysaire par des vaisseaux sanguins indispensables se produit avant la formation du centre secondaire d'ossification. La présence de ces vaisseaux inclus dans des canaux de cartilage a été démontrée dans la diaphyse et les épiphyses des os longs, ainsi que dans les os courts et cuboïdes de plusieurs espèces de mammifères incluant l'homme, le porc, le cheval ainsi que chez les oiseaux (Ytrehus, Carlson et al. 2007, Blumer, Longato et al. 2008). Les mécanismes cellulaires et moléculaires pour la formation de ces canaux ont été bien décrits (Blumer, Longato et al. 2008). Brièvement, la matrice de collagène type II et de protéoglycans est digérée par des metalloprotéinases; des cellules doivent ensuite résorber la matrice dégradée et, finalement, des facteurs angiogéniques serviront à l'apparition de vaisseaux. Le développement de ces canaux est divisé en deux processus, l'un, dormant, n'impliquant pas le VEGF, mais plutôt l'apoptose de chondrocytes hypertrophiés et l'autre, réactif, est en majeure partie responsable de la vascularisation du cartilage de croissance et est dépendant du VEGF. Le canal contient une artériole se séparant en un réseau de petits capillaires se rejoignant en une veinule sur le chemin rétrograde, à l'image d'un glomérule rénal. Ces vaisseaux prennent origine dans le périchondre, lequel est présent seulement dans les régions non-articulaires de l'épiphyse. Ces canaux jouent 3 rôles. Le premier étant d'apporter des nutriments et d'éliminer des déchets cellulaires dans le cartilage de croissance. Environ 3×10^5 chondrocytes peuvent être nourris par un seul mm^2 de surface d'un canal. Le second rôle est de contribuer à la formation d'un centre secondaire d'ossification via la présence de cellules ostéogéniques d'origine mésenchymateuse dans les canaux cartilagineux (Ytrehus, Carlson et al. 2007, Blumer, Longato et al. 2008). La plus grande concentration de vaisseaux dans leurs canaux est d'ailleurs initialement retrouvée là où le centre secondaire d'ossification fera son apparition (Shingleton, Mackie et al. 1997). Le troisième rôle est de contribuer à la croissance du cartilage via un réservoir de cellules mésenchymateuses (Ytrehus, Carlson et al. 2007, Blumer, Longato et al. 2008). Les régions les plus épaisses en cartilage d'une épiphyse sont celles qui contiennent une plus grande densité de canaux cartilagineux (Olstad, Ytrehus et al. 2008a, Olstad, Ytrehus et al. 2008c). La densité vasculaire de l'épiphyse, ainsi que son épaisseur en cartilage, semble décroître en fonction de l'âge et se

faire selon une séquence observée chez l'équin dans laquelle des sites particuliers demeurent perfusés plus longtemps que les régions avoisinantes (Olstad, Ytrehus et al. 2008a). Dans l'épiphyse cartilagineuse équine, la densité vasculaire maximale du cartilage est atteinte entre 6 et 9 mois de gestation, puis ne cesse de décroître alors que le diamètre des canaux de cartilage augmente graduellement entre 6 mois de gestation et 11 mois *post-partum*. Cette densité vasculaire est plus importante dans les couches profondes du cartilage épiphysaire et décroît vers les couches plus superficielles (Lecocq, Girard et al. 2008).

1.3 Ostéocondrose

1.3.1 Définition

L'ostéocondrose est caractérisée par un défaut focal du processus d'ossification endochondral occasionnant une persistance du cartilage de croissance dans la plaque de croissance de l'épiphyse ou de la physe (Olsson and Reiland 1978). Les lésions les plus précoces d'OC observées au niveau du complexe de cartilage articulaire-épiphysaire sont visualisées comme des zones de chondrocytes nécrotiques pouvant s'étendre à l'os sous-chondral. La condition peut ensuite évoluer vers la formation d'une fissure prenant origine au site de nécrose des chondrocytes et s'étendant jusqu'à la surface articulaire, donnant lieu à la présence d'un fragment ostéocondral et, ultimement, son détachement résultant en une souris articulaire (Ytrehus, Carlson et al. 2007, Laverty and Girard 2013).

1.3.2 Sites prédisposés chez l'équin

Bien que l'ostéocondrose ait été diagnostiquée dans pratiquement toutes les diarthroses, certains sites ont une incidence plus élevée de la maladie. Typiquement, chez le cheval, l'ostéocondrose se manifeste aux sites mentionnés dans le tableau I.

Tableau I. Différents sites articulaires et leurs lésions spécifiques d’OC.

Articulation	Sites	Lésions	Références
Tarsocrurale	Crête intermédiaire du tibia distal	Fragments et rares kystes	(McIlwraith, Foerner et al. 1991) (Sandgren, Dalin et al. 1993c) (Dik, Enzerink et al. 1999)
	Lèvre latérale de la trochlée du talus		
	Malléole médiale du tibia distal		
Fémoro-tibiale et fémoro-patellaire	Lèvre latérale de la trochlée fémorale	Fragments	(Dik, Enzerink et al. 1999, van Weeren and Barneveld 1999)
	Lèvre médiale de la trochlée fémorale		
	Extrémité distale de la patella		
	Condyle fémoral médial et rarement latéral	Kystes	
	Plateau tibial, partie médiale		
Metacarpo/tarsophalangienne	Crête sagittale dorsale	Fragments	(Sandgren, Dalin et al. 1993c, van Weeren and Barneveld 1999)
	Aspect dorsoproximal de P1		
	Condyles	Kystes	

1.3.3 Pathogénèse de l’ostéochondrose

1.3.3.1 Nécrose ischémique du cartilage de croissance

La nécrose ischémique du cartilage de croissance est maintenant considérée comme une des deux hypothèses principales quant au mécanisme menant à la formation de lésions d’OC. Puisque les chondrocytes du cartilage de croissance dépendent des vaisseaux contenus dans les canaux de cartilage pour recevoir des nutriments, facteurs de croissance et éliminer leurs déchets, il est facilement envisageable qu’un défaut vasculaire résulte en une nécrose des

canaux de cartilage et des chondrocytes, entraînant des changements dans la matrice cartilagineuse (Olstad, Ytrehus et al. 2007). En étudiant les épiphyses de jeunes poulains boiteux, il a été découvert que 50% des poulains de moins de 2 mois étaient atteints de lésions d'OC dans le complexe de cartilage articulaire-épiphysaire (Carlson, Cullins et al. 1995). Toutes les lésions d'OC observées étaient caractérisées par des canaux de cartilage nécrotiques entourés de zones de chondrocytes nécrotiques (Carlson, Cullins et al. 1995). Cela amène un délai focal dans le processus d'ossification (Olstad, Ytrehus et al. 2007) se traduisant par une indentation du front d'ossification, laquelle est visible au micro CT en phase précoce (Olstad, Cnudde et al. 2008b). Expérimentalement, la transection de la vascularisation de certaines régions de cartilage de croissance fémoral chez le poulain a réussi à occasionner un délai focal dans le processus d'ossification endochondrale et mener au développement de lésions classiques d'OCD (Olstad, Hendrickson et al. 2013). Cela apporte donc un fort appui à la théorie ischémique quant à la formation de lésion d'OC. Les lésions d'OC sont généralement observées à la jonction ostéo-cartilagineuse, endroit où un changement de vascularisation se produit, mettant en évidence qu'à l'interface os-cartilage le risque d'interruption vasculaire est accru (Olstad, Ytrehus et al. 2008a). Une certaine séquence de disparition des canaux de cartilage est observée chez le poulain, ce qui explique que la fenêtre de susceptibilité pour des lésions ischémiques se situe entre 0 et 2,5 mois (Olstad, Ytrehus et al. 2009). Curieusement, ce sont les sites communs d'OC qui conservent une vascularisation via ces canaux le plus longtemps (Olstad, Ytrehus et al. 2007, Olstad, Ytrehus et al. 2008a, Olstad, Ytrehus et al. 2008c).

1.3.3.2 Problème de Collagène type II

Depuis plusieurs années, il est véhiculé que des anomalies du métabolisme du collagène de type II ont un lien avec la pathogénie de l'OC chez plusieurs espèces, dont le cheval (Lavery and Girard 2013). Cette hypothèse demeure l'une des deux principales toujours défendues à ce jour.

1.3.3.2.1 Structure

Le collagène de type II est la principale molécule structurelle du cartilage, elle lui confère ses propriétés biomécaniques, dont son excellente résistance à la traction. Certaines périodes du développement épiphysaire et de la déposition de la matrice de collagène sont marquées par une plus faible densité de fibrilles de collagène de type II (Lavery and Girard 2013). Certaines zones, comme le front d'ossification, subissent un changement drastique de structure suite à des événements métaboliques impliquant une dégradation physiologique de la matrice de collagène (Lecocq, Girard et al. 2008). Une diminution des propriétés physiques de la matrice de collagène à ces endroits peut la rendre plus susceptible à certains stress et faciliter les insultes vasculaires lorsque l'interface ostéochondrale subit des traumatismes (Pool 1993)

1.3.3.2.2 Cuivre

La lumière avait été initialement jetée sur le rôle du cuivre dans la pathogénie de l'OCD alors que l'on croyait que sa déficience, liée soit à une diète en contenant une faible quantité ou à la diminution de sa disponibilité secondairement à l'intoxication au zinc, était responsable d'une matrice de collagène de type II affaiblie en raison de l'absence de liens des groupes hydroxyllysine entre les fibres (Bridges and Harris 1988, Hurtig, Green et al. 1990, Hurtig, Green et al. 1993). La supplémentation en cuivre ayant ensuite été entreprise semblait limiter l'incidence d'OCD chez le poulain (Pearce, Firth et al. 1998a, Pearce, Grace et al. 1998b, Pearce, Grace et al. 1998c); cela a ensuite été démenti et le cuivre n'est plus considéré comme un facteur dans la pathogénie de l'OCD (van Weeren, Knaap et al. 2003, Gee, Firth et al. 2005).

1.3.3.2.3 Synthèse de collagène de type II et génétique

Il y a plus de 10 ans, Lavery et ses collègues, ont remarqué une augmentation de la synthèse du collagène de type II via l'augmentation de la concentration synoviale d'un de ses bio-marqueurs, le CPII, chez le poulain atteint d'OCD (Lavery, Ionescu et al. 2000). Plusieurs travaux ont ensuite étoffé ces trouvailles, rendant clair un lien entre la synthèse du collagène de type II et l'incidence de l'OCD chez le poulain (Billinghurst, Brama et al. 2004,

Donabedian, van Weeren et al. 2008, de Grauw, Donabedian et al. 2011). On a ensuite tenté de trouver une explication génétique à cette augmentation de la régulation du collagène de type II. Alors que certains ont avancé que l'expression du gène Coll-II était largement augmentée au niveau des chondrocytes issus de lésions ostéochondrales (Garvican, Vaughan-Thomas et al. 2008), plusieurs autres travaux n'ont pu démontrer un lien entre l'expression de différents gènes et l'incidence de l'OCD (Semevolos, Nixon et al. 2004, Semevolos, Strassheim et al. 2005, Mirams, Tatarczuch et al. 2009). Aucune identification d'un ou plusieurs gènes directement reliés à l'apparition de lésions d'OCD n'a été réalisée à ce jour.

1.3.3.2.4 Bio-marqueurs

Une certaine protéolyse de la matrice de collagène au niveau du front d'ossification a été proposée comme pouvant contribuer à la formation de lésions d'OCD (Lavery and Girard 2013). Certains bio-marqueurs, comme la cathepsine B (Hernandez-Vidal, Jeffcott et al. 1998) et le C2C (Lavery, Okouneff et al. 2002), témoignent d'une activité accrue de dégradation du collagène de type II au niveau d'échantillons de lésions d'OCD chez le poulain. Une forte corrélation entre les concentrations sériques de C2C et de 234CEQ et l'incidence radiographique d'OCD chez le poulain de 5 mois a été établie, suggérant un taux de renouvellement élevé du collagène en phase initiale de la maladie. Alors que cette même corrélation devenait négative à 10 mois d'âge, en phase plus chronique de la maladie (Billinghurst, Brama et al. 2004). D'autres travaux ne rapportent aucune différence de concentration synoviale du C2C, marqueur de clivage du collagène de type II par des collagénases, entre des poulains OCD positifs et des poulains sains (de Grauw, Donabedian et al. 2011). En ce qui a trait à l'aspect génétique de la dégradation du collagène de type II, une augmentation de l'expression du gène MMP13 a été notée au niveau de lésions d'OCD en phase aigüe chez le poulain (Garvican, Vaughan-Thomas et al. 2008, Mirams, Tatarczuch et al. 2009)

1.3.4 Étiologies de l'ostéochondrose

Après plus d'un siècle de recherche sur cette maladie, la pathogénie de l'ostéochondrose n'a toujours pas été clairement identifiée. Il est généralement admis que l'OC a une étiologie multifactorielle (Ytrehus, Carlson et al. 2007).

Les facteurs généralement suspectés sont: un taux de croissance rapide, l'hérédité, les caractéristiques anatomiques, les traumatismes, les facteurs diététiques et un défaut de vascularisation du cartilage épiphysaire (Ytrehus, Carlson et al. 2007). La combinaison de ces facteurs peut varier dans le temps et la contribution relative de chacun de ceux-ci au développement de lésions peut varier grandement (van Weeren 2006a).

1.3.4.1 Difficultés quant à l'étude de l'étiologie de l'ostéochondrose

La principale difficulté dans l'identification de l'étiologie de l'OC est l'étude de lésions dans leur phase initiale. Par le passé, beaucoup de conclusions ont été tirées à partir de lésions causant des signes cliniques. De ce fait, les lésions étaient en stade chronique ou encore en phase de régénération, masquant ainsi les indices du développement initial. La maladie est également représentée chez de multiples espèces, dont : l'homme, le cheval, le porc, le chien, le bovin, la dinde et le poulet, ce qui donne lieu à une variation dans la présentation clinique et dans l'apparence macroscopique des lésions.

1.3.4.2 Croissance rapide et nutrition

L'aspect de croissance rapide est intimement lié non seulement à la génétique, mais aussi aux facteurs nutritionnels. Historiquement, la croissance rapide couplée à la nutrition a été considérée comme un facteur de risque majeur (Olsson and Reiland 1978, Stromberg 1979). Cependant, les données sont confondantes et aucun consensus quant à l'influence d'une diète plus calorique et d'un taux de croissance élevé n'est admis à ce jour (Donabédian, Fleurance et al. 2006, van Weeren 2006a, Ytrehus, Carlson et al. 2007).

L'ostéochondrose est fréquemment observée chez les animaux de stature imposante ayant eu une croissance rapide. Certains autres auteurs ont rapporté une prévalence plus élevée

chez les chevaux ayant des mesures supérieures au garrot et en circonférence (Sandgren, Dalin et al. 1993, Sandgren, Dalin et al. 1993c) ou encore chez les animaux ayant eu un poids de départ élevé ainsi qu'un gain quotidien élevé (Olsson and Reiland 1978, Stromberg 1979, Sandgren, Dalin et al. 1993, Gee, Firth et al. 2005, van Weeren 2006a). Cependant, l'implication de la croissance rapide a aussi été réfutée par certains (Glade and Belling 1986, Savage, McCarthy et al. 1993a, Savage, McCarthy et al. 1993b, van Weeren 2006a).

Parmi les facteurs reliés au gain de poids, selon certains, le sexe mâle augmente le risque de lésions d'ostéochondrose chez le cheval en croissance (Stromberg 1979, Alvarado, Marcoux et al. 1989), ce qui n'est pas partagé par d'autres auteurs (Hoppe 1984, Sandgren, Dalin et al. 1993c, van Weeren, Sloet van et al. 1999b, Gee, Firth et al. 2005, Lepeule, Bareille et al. 2009). Aucun des paramètres de croissance n'influencerait l'incidence d'OC dans le tarse alors qu'ils auraient un effet significatif sur l'incidence de la maladie dans le grasset (van Weeren, Sloet van et al. 1999b).

Une ration riche en énergie digestible augmenterait l'incidence d'ostéochondrose sans toutefois avoir un impact majeur sur le taux de croissance des chevaux (Savage, McCarthy et al. 1993a, Savage, McCarthy et al. 1993b). Une diète riche a été incriminée via un mécanisme d'augmentation de l'insuline (Ralston 1996) et diminution de la thyroxine circulantes (Glade, Gupta et al. 1984a, Glade and Reimers 1985) qui mènerait à un défaut de maturation et d'hypertrophie des chondrocytes (Ballock and O'Keefe 2003) auxquels ces hormones ont un accès plus direct, entre autres les chondrocytes des canaux cartilagineux (Shingleton, Mackie et al. 1997). L'insuline et ses dérivés dont l'insulin growth factor 1 et l'insulin growth factor 2 stimulent la survie des chondrocytes (Henson, Davenport et al. 1997c, Jeffcott and Henson 1998), leur mitose ainsi que leur apoptose. Les poulains atteints d'OC avaient une activité IGF-1 bien en deçà de celle d'un poulain sain (Sloet van, Mol et al. 1999, van Weeren 2006b). L'IGF-1 et IGF-2 sont essentiels à la croissance du squelette embryonnaire (Mackie, Ahmed et al. 2008). Par contre, cette proposition est trahie par le fait que les lésions caractéristiques d'OC sont plutôt bien délimitées, focales et non pas généralisées à l'entièreté du squelette (Carlson, Cullins et al. 1995, Ytrehus, Carlson et al. 2007). La résistance à l'insuline est une autre condition qui, par un mécanisme différent, cause une augmentation de la concentration

sérique d'insuline, et est aussi suspectée d'être impliquée dans la pathogénèse de l'ostéochondrose (Firshman and Valberg 2007).

Un autre volet de l'aspect nutrition qui a attiré l'intérêt est la teneur en minéraux de la diète. L'impact de divers éléments dont le zinc, le cadmium, le calcium et le phosphore sur l'incidence des lésions a été mesuré. Plus récemment, une autre étude affirmait qu'il n'y avait pas de lien assez probant entre la teneur en minéraux et le développement d'OC (Lepeule, Bareille et al. 2009). Finalement, des diètes élevées en calcium n'ont aucun impact sur l'incidence d'OC chez le poulain alors qu'un trop grand apport en phosphore augmente l'incidence de lésions dyschondroplasiques (Savage, McCarthy et al. 1993b).

En conclusion, l'aspect nutritionnel en est un qui ne peut être totalement écarté de la pathogénie de l'OC. En revanche, il n'en semble pas responsable à lui seul. Il est possible d'induire des lésions similaires à celles de l'OC en modulant l'alimentation d'un cheval, mais ces lésions diffèrent parfois en apparence et souvent en distribution des lésions qui se développent de manière naturelle (Hurtig and Pool 1996, van Weeren 2006a, van Weeren 2006b, Ytrehus, Carlson et al. 2007).

1.3.4.3 Hérité

L'hérité est une des caractéristiques les plus pointées du doigt lorsqu'on parle d'étiologies de l'OC. La variation de l'incidence de la maladie dans certaines races et même dans certaines lignées de porcs, chiens et chevaux (Grondahl and Dolvik 1993) supporte cette hypothèse. Parmi les variables génétiques, l'appartenance à une race semble être celle qui a le plus d'impact sur le risque d'incidence de la maladie. Effectivement, la maladie est moins fréquemment rapportée chez les poneys (Voute, Henson et al. 1997) et les chevaux de trait (Valentino, Lillich et al. 1999), alors qu'elle est chose courante chez les races de course et chevaux de performance. Au Québec, 24,7% d'une population de yearlings Standardbred était affectés (Alvarado, Marcoux et al. 1989) et une incidence de 26,2% a été observée dans une autre population de jeunes Standardbred suédois (Hoppe and Philipsson 1985). Une autre étude conduite sur 378 poulains identifie la race comme étant un facteur de risque important où 53% des Warmblood contre 34% des Standardbred et 25% des Thoroughbred étaient affectés d'OC (Lepeule, Bareille et al. 2009). À l'intérieur d'une même race, l'incidence d'OC

est aussi considérablement plus élevée chez certaines lignées issues d'étalons affectés dont les rejets avaient une incidence pratiquement 3 fois plus élevée que ceux d'étalons sains (Philipsson, Andréasson et al. 1993). Par contre, le Royal Dutch Warmblood Studbook a refusé l'utilisation d'étalons présentant même de très légers signes radiographiques d'OC du tarse depuis 1984 et d'OC de l'articulation fémoropatellaire depuis 1992, et ce sans pour autant réussir à diminuer l'incidence de la maladie chez cette population (van Weeren 2006b). L'héritabilité de l'OCD par articulation a également été étudiée (Tableau II)

Tableau II. Taux d'héritabilité de lésions d'OCD classé par articulation et race.

Articulation	Race	% d'individus affectés	Héritabilité	Auteurs
Fémoropatellaire	Maremmano	5,1	0,09	(Pieramati, Pepe et al. 2003)
	Warmblood	39,3	0,05	(van Grevenhof, Schurink et al. 2009b) (Van Grevenhof, Duero et al. 2009)
Tarsocrurale	Standardbred	14,3	0,52	(Grondahl and Dolvik 1993)
		10,5	0,24-0,27	(Philipsson, Andréasson et al. 1993)
	Hanoverian Warmblood	9,6	0,37	(Stock, Hamann et al. 2005)
		9,2	0,273-0,282	(Ekman, Carlson et al. 2009)
	Maremmano	9,1	0,09	(Pieramati, Pepe et al. 2003)
	Trotteurs danois	12,0	0,26	(Schougaard, Falk Ronne et al. 1990)
	Warmblood	31,4	0,36	(van Grevenhof, Schurink et al. 2009b) (Van Grevenhof, Duero et al. 2009)
Métacarpo/métatarso phalangienne	Standardbred	4,4		(Grondahl and Dolvik 1993, Philipsson, Andréasson et al. 1993)
	Hanoverian Warmblood	20,8	0,19	(Stock, Hamann et al. 2005)
		23,5	0,167-0,170	(Stock and Distl 2006)
	Maremmano	2,9	0,09	(Pieramati, Pepe et al. 2003)

	Warmblood	35,4	0,14	(Van Grevenhof, Ducro et al. 2009) (van Grevenhof, Schurink et al. 2009b)
--	-----------	------	------	--

Des chercheurs ont tenté d'identifier les gènes responsables de la maladie pour réaliser que plusieurs gènes différents seraient impliqués, dont quelques uns sont spécifiques à certaines articulations. Une étude menée sur des chevaux allemands a révélé la présence de 17 régions génomiques présumées avoir un lien avec la manifestation d'OCD et de fragments ostéochondraux plantaires/palmaires dans le tarse et/ou le boulet (Wittwer, Lohring et al. 2007b). La même équipe a identifié un rôle potentiel du gène AOA_H sur le chromosome 4 dans le développement d'OCD du boulet (Wittwer, Dierks et al. 2008) et du gène XIRP2 sur le chromosome 18 dans le développement de la maladie au niveau boulet et du tarse (Wittwer, Hamann et al. 2009). Il ne semble pas par contre que le locus soit au même endroit chez tous les chevaux, comme indiqué par la découverte d'un gène aussi associé à l'OC du boulet et/ou tarse mais situé plus loin sur le chromosome 18 (Lampe, Dierks et al. 2009a) et un autre sur le chromosome 5 chez les Hanoverian (Lampe, Dierks et al. 2009a). Récemment, des analyses des différents gènes exprimés par des leucocytes de chevaux affectés d'OC ont été réalisées. Les leucocytes sont reconnus comme pouvant fournir une grande quantité d'information génétique tout en étant facilement accessibles. De plus, en choisissant une source d'information génique périphérique au cartilage, il est possible d'obtenir de l'information sur des mécanismes métaboliques extérieurs aux chondrocytes. Plusieurs gènes incluant entre autres le *Indian hedgehog*, TGF-bêta, Wnt, ISG, ApoB, MGAT4 et TBC1D9 avaient une régulation bien différente au niveau des leucocytes de chevaux affectés en comparaison avec les chevaux sains (Serteyn, Piquemal et al. 2010).

L'OC est une maladie polygénique dont le patron de transmission est très complexe, et seulement partiellement connu à ce jour.

1.3.4.4 Exercice et traumatismes

1.3.4.4.1 Exercice et maturation articulaire

Suite à la naissance, les caractéristiques biomécaniques du complexe de cartilage articulaire et de croissance sont essentiellement les mêmes entre les différents sites de l'articulation métacarpo-phalangienne (Brommer, Brama et al. 2005). C'est ensuite que les propriétés biomécaniques se modulent localement en fonction du type de mise en charge qu'une articulation reçoit. Un maximum de ces changements prendrait place dans les 5 premiers mois de vie. À l'âge de 18 mois, les propriétés seraient pratiquement les mêmes que celles d'un cheval adulte et, suite à cette période, seulement de minimes changements seraient possibles (Brommer, Brama et al. 2005). Il est donc important de réaliser que la période où un maximum de lésions articulaires peuvent se créer et guérir est entre 0 et 5 mois (Barneveld and van Weeren 1999a). Le développement et les modifications relatives à la croissance de l'os sous-chondral et trabéculaire ont lieu, pour leur part, jusqu'à l'âge d'environ 4 ans (van der Harst, van de Lest et al. 2005).

Un programme d'exercice en bas âge semble mener à de minimes changements positifs tant au niveau de la production osseuse sous-chondrale et trabéculaire que de la diminution des lésions cartilagineuses (Kawcak, McIlwraith et al. 2010). De plus, un programme d'exercice de basse intensité apporte une augmentation plus marquée de la densité minérale de l'os sous-chondral alors qu'un programme de plus haute intensité provoque des changements durables dans le temps (Brama, Firth et al. 2009a). L'exercice semble entraîner une maturation plus rapide des composantes de la matrice extracellulaire cartilagineuse, qui la rend comparable à celle d'un adulte (van Weeren, Firth et al. 2008). Ce même exercice a un effet plus prononcé sur les sites mis en charge de façon importante lors du travail. De plus, les niveaux de collagène y seraient plus élevés suite à une réponse physiologique à la mise en charge. Aussi, le taux de chondrocytes viables y serait plus élevé (Dykgraaf, Firth et al. 2008). Le type d'activité physique ayant le plus de bienfaits pour la santé articulaire des poulains serait l'exercice libre au pâturage (Brama, Tekoppele et al. 1999, Hoogen, Lest et al. 1999, Barneveld and van Weeren 1999a).

1.3.4.4.2 Exercice et OCD

Le rôle de l'exercice dans l'OC est capital pour l'industrie sportive équine, étant donné que les programmes de régie en bas âge pourraient avoir un impact sur la future santé articulaire du cheval, mais aussi sur l'approche à préconiser pour l'initiation de l'entraînement d'un poulain. Un verdict sur le lien entre l'exercice, les traumatismes et l'incidence d'OC aiderait à orienter les pratiques d'élevage.

On croit qu'un trauma pourrait avoir pour effet de catalyser une forme précoce d'OC vers une forme plus importante cliniquement comme par exemple de *osteocondrosis latens* à *osteocondrosis dissecans* (Ytrehus, Carlson et al. 2007). L'exercice effectué par un poulain de moins de deux semaines d'âge dans un pré de plus de 1 hectare ou d'un poulain de moins de 2 mois dans un pré de plus de 6 hectares augmenterait le risque d'accidents et d'OC (Lepeule, Bareille et al. 2009). Un programme d'exercice régulier augmente la résistance aux lésions articulaires (Barneveld and van Weeren 1999a). Un plan d'exercice irrégulier, quant à lui, serait également un risque en augmentant le stress et l'agitation lors des sessions d'exercice (Lepeule, Bareille et al. 2009) et ce, en accord avec une étude révélant plus de lésions dans le grasset de poulains Warmblood au repos avec exercice minime que les poulains laissés en liberté (van Weeren and Barneveld 1999, Barneveld and van Weeren 1999a). L'accélération de la maturation cartilagineuse amenée par l'exercice pourrait aussi limiter la fenêtre de temps au cours de laquelle les lésions cartilagineuses peuvent se régénérer (Brama, Holopainen et al. 2009b).

1.4 Imagerie de l'épiphyse

1.4.1 Tomodensitométrie

1.4.1.1 Bref rappel des principes physiques

Le CT scan, ou tomodensitométrie, fonctionne à base de rayons-X. En imagerie médicale, ces rayons sont produits par un tube à anode rotative composée de tungstène. Des électrons, dont le nombre (quantité) est ajusté par le milliampérage (mA), passent de la

cathode du tube à l'anode rotative sous l'influence d'une différence de potentiel décrite par le pic, ou maximum, de kilovolts (kVp). Le kVp dicte donc l'énergie (qualité) des électrons. Une fois ces électrons arrivés à l'anode, les rayons-X sont produits de deux manières, soit par interaction de collision, appelée Compton, soit par interaction de freinage, appelée Bremsstrahlung (Bushberg, Seibert et al. 2002). Essentiellement, le rayon-X est une forme de radiation électromagnétique créée par la libération d'un excès d'énergie au moment d'une interaction entre un électron provenant de la cathode et un atome de tungstène de l'anode.

En tomodensitométrie, un tube à rayon-X effectue une rotation autour du patient, émettant un nombre réglable de rayons, et ce, répété dans un nombre n d'angles. En fonction de la génération de scanner, une ou plusieurs rangées (« barrettes ») de plaques détectrices sont présentes au pourtour du patient. Plus le nombre de rangées de détecteurs est élevé, plus de tranches peuvent être acquises en un temps donné, réduisant ainsi le temps nécessaire pour imager une région d'intérêt. Ces détecteurs contiennent des cristaux capables, lorsque stimulés par les rayons-x, d'émettre des photons, qui à leur tour seront convertis en courant électrique par une photodiode à la base des capteurs. De manière simplifiée, une différence est calculée entre la quantité de rayons mesurée à la sortie du tube et la quantité atteignant le capteur afin d'attribuer aux tissus imagés une valeur d'atténuation. Ultimement, cette valeur d'atténuation sera transformée en unités Hounsfield (UH) sur une échelle variant de -1000 à +4000. Des tissus très peu denses, comme l'air, ont des valeurs d'atténuation tendant vers -1000 UH alors que les tissus minéraux les plus denses tendent vers l'autre extrême, c'est-à-dire +4000 UH (Bushberg, Seibert et al. 2002, Armbrust 2007, Thrall and Widmer 2013).

Les scanners à une seule rangée de détecteurs ont été introduits dans les années 1970 (Bushberg, Seibert et al. 2002) et n'étaient capables de produire qu'une seule image à chaque rotation du tube autour du patient. Par conséquent, la qualité de l'image était diminuée lorsqu'il était nécessaire de couvrir une grande distance en peu de temps. En 1992, les scanners à plusieurs rangées de détecteurs ont fait leur entrée sur le marché. Ces scanners sont capables d'acquérir plusieurs tranches d'images à chaque rotation, et il est donc possible de réduire le temps nécessaire pour imager une même section d'un patient.

L'image est composée d'une matrice de pixels, qui correspondent à une tranche de voxels à l'intérieur du patient. Le voxel a donc une mesure en deux plans (axes x et y), à

laquelle on ajoute une mesure dans un 3^e plan correspondant à l'épaisseur de tranche ou coupe (axe z). Les voxels sont comprimés en pixels sur l'image bidimensionnelle.

Plus l'épaisseur de coupe est importante, plus le ratio signal sur bruit augmente, résultant en une meilleure résolution de contraste. Le ratio signal sur bruit est un rapport entre le signal d'une lésion, par exemple, et le bruit ou pollution présent dans l'image. Le bruit provient entre autre de la radiation secondaire et la dispersion cohérente des rayons-X. Meilleur est le ratio signal sur bruit, et plus facile il est pour l'observateur de discerner une lésion ou structure. La résolution de contraste est la capacité d'une modalité d'imagerie à bien discerner les différences de propriétés physiques des tissus, l'atténuation des rayons-X représentant la densité tissulaire dans le cas présent. Meilleure sera cette résolution de contraste, plus facilement les différences de composition des tissus adjacents seront visualisées en différents tons de gris. Un autre concept important est la résolution spatiale qui correspond à la plus petite distance entre 2 objets bien définis pouvant être résolue ou affichée. L'augmentation d'épaisseur de tranche augmente la taille du voxel. En augmentant le voxel, le ton de gris qui lui sera attribué prendra en compte les valeurs d'atténuation de plus de tissus. Cette problématique est appelée effet de volume partiel. Comme ultimement le ton de gris attribué à un voxel, affiché à l'écran comme un pixel, dépend de la valeur moyenne d'atténuation des tissus compris à l'intérieur du voxel, plus ce voxel est volumineux et plus sa valeur d'atténuation représente une moyenne d'un nombre important de tissus. Donc, en augmentant l'épaisseur de tranche, on augmente l'effet de volume partiel, ce qui a pour effet de diminuer la résolution spatiale.

Une fois les différentes valeurs d'atténuation acquises à multiples angles un ordinateur doit en quelque sorte effectuer le processus du calcul d'atténuation à l'envers en utilisant un algorithme mathématique de reconstruction afin de produire une image. Un filtre au choix de l'utilisateur est également appliqué afin de favoriser certaines caractéristiques de l'image au coût d'une variation de la résolution spatiale et du bruit de l'image. Un filtre osseux offre une meilleure résolution spatiale, ce qui augmente le détail au niveau des bordures, mais a le désavantage de permettre plus de bruit dans l'image, diminuant ainsi le ratio signal sur bruit. Au contraire, un filtre tissu mou a pour effet de diminuer le bruit de l'image en diminuant également la résolution spatiale. Une fois les images acquises, elles peuvent être reformatées

en différents plans et même en trois dimensions, permettant ainsi de mieux concevoir l'étendue d'une lésion et la disposition des structures l'entourant. Lors de la visualisation des images de CT à l'écran, l'utilisateur doit régler certains paramètres afin de bien évaluer chacun des tissus. Comme discuté précédemment, le calcul d'atténuation permet d'attribuer à chaque type de tissu une valeur d'atténuation en UH. Afin de bien représenter les subtilités que représente chaque tissu, il s'avère utile de régler le niveau et la largeur de la fenêtre de gris affiché à l'écran. Bien souvent, on réfère à ces paramètres comme étant le *window* « width/level » ou « W/L ». Il faut donc régler le niveau de centre de fenêtre, ou « L », à une valeur avoisinant la valeur d'atténuation en UH du tissu évalué. Puis, la largeur de fenêtre, ou « W », est réglée de manière à afficher plus ou moins de tons de gris. En ce sens, plus la largeur de fenêtre sera importante et plus de tons de gris seront affichés, résultant en plus de détails dans l'image au coût d'un contraste diminué, le contraire étant tout aussi vrai.

Parmi les 5 interactions possibles entre les rayons-x et la matière, seulement 3 sont pertinentes à l'imagerie médicale. Elles sont l'absorption, la transmission et la radiation secondaire. L'explication de ces relations réside dans les interactions entre les radiations électromagnétiques et la matière. L'absorption, ou effet photoélectrique, se produit lorsqu'un rayon-x est complètement absorbé en entrant en contact avec un électron d'une strate rapprochée du noyau et est alors éjecté de l'atome. Le résultat est l'ionisation de l'atome. Suite à cela, un électron d'une strate plus éloignée viendra combler le vide laissé par l'électron éjecté, produisant ainsi une radiation caractéristique. Cette radiation secondaire est généralement de faible énergie et peut ioniser d'autres atomes dans le tissu du patient mais n'atteint généralement pas le capteur ou le film radiographique. La probabilité d'obtenir un effet photoélectrique est directement proportionnelle au cube du numéro atomique et inversement proportionnel au cube de l'énergie du rayon-x initial. L'effet photoélectrique est donc beaucoup plus important dans les tissus minéralisés, comme l'os, qu'il ne l'est dans des tissus comme le muscle ou le gras. Il augmente la valeur du ratio signal sur bruit et est le principal responsable de la formation des images CT.

La radiation secondaire se retrouve principalement dans l'effet Compton, où un rayon-x interagit avec un électron des strates les plus éloignées du noyau. Le résultat est la réduction

de l'énergie du rayon-x et la modification de sa trajectoire dans toute direction possible alors que l'électron éjecté sera capté par un atome ayant été ionisé. Le rayon-x peut même effectuer un retour à 180° par rapport à sa direction initiale. Cet effet peut se produire avec pratiquement autant de probabilités dans l'os que dans les tissus mous puisqu'il n'est pas affecté par le nombre atomique, mais plutôt par la masse volumique d'un tissu. L'absorption différentielle entre l'os et les tissus mous est donc réduite et le contraste l'est également. Un autre effet entraînant de la transmission des rayons tout en les dispersant est l'effet de dispersion cohérente, où le rayon-x interagit avec un atome du patient sans produire d'ionisation ou de perte d'énergie. La trajectoire du rayon-x est toutefois modifiée et peut atteindre le capteur ou film radiographique en diminuant le contraste de l'image (Thrall and Widmer 2013).

1.4.1.2 Pertinence et avantages de la modalité

Ce mode d'acquisition d'images élimine à toutes fins pratiques l'effet de superposition, souvent rencontré en radiographie conventionnelle, où les opacités visualisées à l'écran sont en fait l'addition de l'atténuation de deux ou plusieurs structures qui sont l'une par dessus l'autre dans le trajet des rayons-x. Bien que la résolution spatiale du CT soit moindre que celle de la radiographie, ce désavantage est de beaucoup surpassé par la résolution de contraste, qui est de beaucoup supérieure, ainsi que la réduction de la superposition. Cela permet une meilleure détection et localisation de lésions (Tidwell 2007). Le temps d'acquisition d'images étant très court, il est possible d'obtenir une quantité d'information beaucoup plus importante sur le patient en un temps négligeable.

1.4.1.3 Paramétrage de la tomодensitométrie pour l'imagerie articulaire

Afin d'imager les épiphyses osseuses, certains paramètres doivent être respectés lors de la planification de l'acquisition des images sources et leur traitement subséquent. Afin d'obtenir le plus de détails possible il est nécessaire d'opter pour une très faible épaisseur de tranche. Cela évitera l'apparition de bordures corticales en marche d'escalier lors du reformatage de l'image en d'autres plans, dans le cas des monobarettes, et offrira une

meilleure résolution spatiale. Une fois les images sources acquises, il faudra leur appliquer un algorithme de reconstruction osseux. Les algorithmes de reconstruction déterminent le degré de renforcement des bordures et auront un impact sur le ratio signal sur bruit, la résolution spatiale et de contraste. En appliquant un algorithme osseux, on augmente la résolution spatiale et on augmente aussi le bruit de l'image. Le résultat est une meilleure définition des bordures osseuses et des détails subtils alors que le grain est augmenté au niveau des tissus mous adjacents. Lors du visionnement des images, il faudra régler le niveau de la fenêtre de gris à une valeur correspondant à la valeur d'atténuation du tissu évalué; dans le cas présent, l'os. Le niveau de gris devra donc être réglé aux environs de L: 300. La largeur de fenêtre doit être réglée à W: 2000 afin de présenter un éventail de gris très large, ce qui minimise en quelque sorte le contraste dans le but de montrer plus de détails (Bushberg, Seibert et al. 2002, Tidwell 2007).

1.4.1.4 Apparence de l'épiphyse en développement

Aucune étude n'a fait usage du CT pour évaluer le développement épiphysaire du cheval. Chez le lapin, le CT a été utilisé pour décrire le développement du nouveau-né (Romvari, Szendro et al. 1996). Plus récemment le micro-CT a également été utilisé pour décrire l'évolution de la vascularisation épiphysaire chez le fœtus du lapin (Doschak, Cooper et al. 2003). La validation de la capacité du micro-CT à imager le fœtus du lapin et du rat a aussi été effectuée (French, Gingles et al. 2010). Seule la radiographie conventionnelle a été utilisée afin de déterminer le moment d'apparition des différents centres d'ossification secondaires du carpe et du tarse du cheval (Tableau III) (Firth and Poulos 1993, Soana, Gnudi et al. 1998).

Tableau III. Moment d'apparition radiographique des différents centres d'ossification secondaires du carpe et du tarse équin. Tableau créé à partir de Soana, Gnudi et al. 1998.

Sites		Moment d'apparition (jours de gestation)
Carpe		
Os accessoire du carpe		254
Os radial du carpe		274
Os intermédiaire du carpe		274-278
Os ulnaire du carpe		310
2 ^e , 3 ^e et 4 ^e os du carpe		280-310
Tarse		
Calcaneus		125
Talus (astragalus)	Premier site	220
	Second site	260
1 ^{er} , 2 ^e , 3 ^e , 4 ^e et os central du tarse		280-320

Les lèvres de la trochlée fémorale ne sont pas totalement ossifiées chez les poulains de 52 à 104 jours d'âge et ont une apparence irrégulière (MacCallum, Brown et al. 1978) . Cette apparence est considérée normale pour la malléole du tibia distal (Shelley and Dyson 1984) et la patella. La patella d'un jeune sujet a une apparence arrondie (MacCallum, Brown et al. 1978). Les autres épiphyses ont quant à elles été gradées en fonction de leur degré

d'ossification et du niveau de fermeture de leur plaque de croissance, lorsque présente (Brown and MacCallum 1975, MacCallum, Brown et al. 1978). Les premier et deuxième os du tarse sont bilatéralement fusionnés chez 40% des poulains de 52 à 104 jours d'âge alors que 60% présentaient une fusion partielle, unilatérale ou encore absente. Étant donné qu'une grande variation dans le degré d'ossification articulaire est possible chez le poulain, un index d'ossification du carpe et du tarse a également été réalisé afin d'aider à catégoriser le degré de maturité de l'articulation évaluée chez le poulain prématuré et nouveau-né (Adams and Poulos 1988). Le centre d'ossification secondaire de la malléole tibiale latérale se fusionne à l'épiphyse tibiale vers l'âge de 3 mois (Brown and MacCallum 1975), alors que le tubercule calcanéen fait de même entre le 16^e et le 24^e mois de vie (Banks, Kemler et al. 1969).

Les sites suivants restent cartilagineux après la naissance chez les poulains de 4 à 16 mois : l'extrémité proximale de l'os accessoire du carpe, l'extrémité distale des métacarpes et métatarses II et IV, le trochanter tertius du fémur et l'épicondyle latéral de l'humérus. Ces sites comptent la présence de zones radio-transparentes correspondant à du cartilage non accompagné de centres d'ossification ni de fusion (MacCallum, Latshaw et al. 1971).

1.4.1.5 Apparence des lésions d'ostéochondrose à la tomодensitométrie

Bien peu a été décrit en ce qui a trait au diagnostic de l'ostéochondrose par tomодensitométrie chez l'espèce équine, étant donné que la radiographie conventionnelle reste plus largement accessible et moins compliquée à utiliser. Un seul rapport de cas de lésion d'OCD atypique au niveau du grasset a été diagnostiqué au CT après que la radiographie et l'échographie aient échoué. La lésion était située à l'aspect axial du condyle fémoral médial et se présentait comme un fragment osseux. L'injection intra-articulaire de milieu de contraste a mis en évidence un défaut cartilagineux à ce niveau (Figure 2) (Crijns, Gielen et al. 2010).

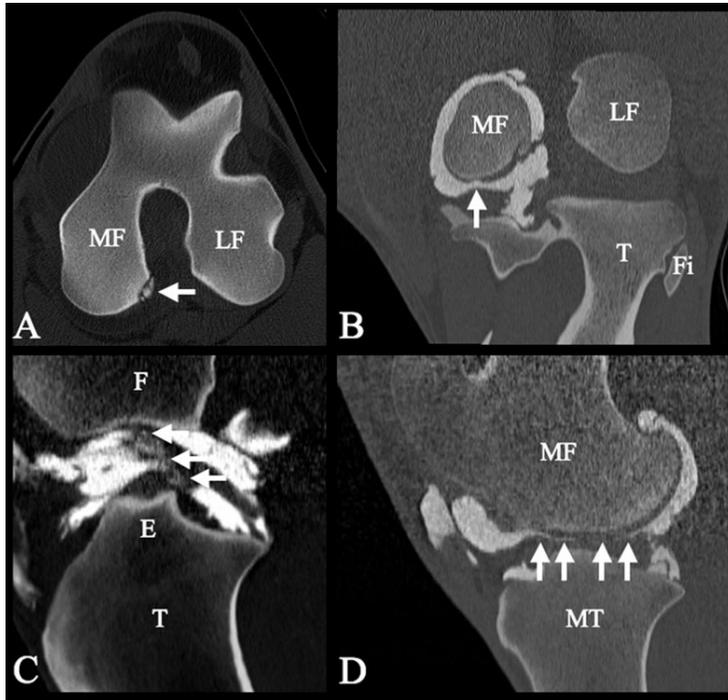


Figure 2. Fragment de type OCD au niveau du condyle fémoral médial d'un cheval tel que vu à l'aide du CT et de l'arthrographie avec milieu de contraste. A) Un fragment de type OCD est indiqué par la flèche sur cette image transverse du condyle fémoral médial. B) Arthrographie avec milieu de contraste en plan dorsal indiquant, à l'aide d'une flèche, un défaut cartilagineux rempli par du milieu de contraste au niveau du condyle fémoral médial. C) Image CT dans le plan sagittal, les flèches indiquent des zones de pénétration du milieu de contraste dans le ligament croisé caudal suggérant une lésion au sein du ligament. D) Image arthrographique dans le plan sagittal montrant le défaut cartilagineux vu en B comme étant linéaire, indiqué par les flèches.

E : Éminence inter-condylienne tibiale, F) Fémur, Fi : Fibula, LF : Condyle fémoral latéral, MF : Condyle fémoral médial, MT : Condyle tibial médial, T : Tibia.

Tirée de «The use of CT and CT arthrography in diagnosing equine stifle injury in a Rheinlander gelding» par Crijns, C. P., I. M. Gielen, et al. 2010, Equine Veterinary Journal 42(4), p. 369. © EVJ (2010). Reproduit avec permission.

En médecine vétérinaire clinique, le CT est utilisé pour le diagnostic de l'ostéochondrose chez le chien. Les lésions ostéochondrales de l'articulation tarsocrurale identifiables sur radiographies sont non seulement visibles au CT, mais un plus grand nombre de fragments est noté. L'étendue et le site des lésions sont aussi mieux représentés. Les lésions sont visibles sous la forme de défauts avec ou sans fragmentation, d'irrégularités, d'aplatissements, de souris articulaires et de zones plus radio-transparentes. Les fragments notés peuvent même être mesurés lorsque leur taille le permet (Gielen, van Bree et al. 2002, Gielen, van Ryssen et al. 2005, Cook and Cook 2009).

1.4.2 Imagerie par résonance magnétique

1.4.2.1 Pertinence et avantages de la modalité

Bien que la résolution spatiale de l'IRM soit généralement inférieure à celle du CT, sa résolution de contraste est normalement supérieure à bien d'autres modalités (Tidwell 2007). Ce bon contraste est directement lié aux propriétés magnétiques des différents tissus imagés et confère à l'IRM une excellente sensibilité aux variations de composition tissulaire. L'utilité de l'IRM a été démontrée en imagerie musculosquelettique chez l'humain et permet de visualiser les irrégularités du cartilage articulaire, de l'os sous-chondral, ainsi que de localiser des potentiels fragments, le tout en étant non invasif et en n'émettant pas de radiations ionisantes (De Smet, Fisher et al. 1990). Bien établie en médecine humaine, cette modalité est aussi utilisée chez le cheval et permet de poser des diagnostics lors de cas de maladie articulaire (Martinelli, Baker et al. 1996, Murray, Branch et al. 2005, Nykamp 2005, Audigie, Didierlaurent et al. 2009, Murray, Mair et al. 2009, Olive 2010, Olive, D'Anjou et al. 2010).

1.4.2.2 Rappel des principes de physique

Comme précédemment mentionné, l'IRM est totalement différent du CT. Plutôt que des rayons-x, l'IRM utilise un champ magnétique et des impulsions de radiofréquences afin de faire basculer les protons présents au sein des tissus du patient. Les aimants au cœur de l'IRM peuvent être à bas champ magnétique, de l'ordre de quelques dixièmes de Tesla, ou à haut champ magnétique, ce qui, dans un contexte clinique, varie normalement entre 1 et 3 Tesla. C'est par la sélection de séquences spécifiques et d'ajustements de ses différents paramètres

que l'utilisateur pourra rehausser le signal d'un tissu en particulier. Bien que la physique derrière la création d'images de résonance ne soit pas élaborée dans ce chapitre, il est nécessaire d'expliquer la différence entre les temps T1, T2 et les différentes pondérations applicables à une séquence. Brièvement, les protons composant les tissus du patient effectuent sur eux mêmes une rotation orientée pour la plupart parallèlement au champ magnétique de base auquel ils sont soumis. Des ondes de radiofréquences de courte durée sont ensuite appliquées dans le but d'exciter les protons et de faire basculer leur axe de rotation dans une direction autre que parallèle. Lors de l'arrêt de la stimulation par les radiofréquences, l'axe de rotation des protons revient à son état parallèle initial. L'énergie acquise durant la stimulation est perdue et émise sous forme de radiofréquences captées par une antenne, qui composent le signal, qui constituera à son tour une image. Le temps de relaxation T1 des protons correspond en fait au temps où le vecteur d'aimantation *longitudinale* d'un ensemble de protons regagne 63% de sa valeur finale après avoir basculé sous l'effet d'une radiofréquence. Parmi les tissus biologiques, le gras en est un qui a un T1 relativement court, de l'ordre de 240 ms, et produira un hyper-signal sur une séquence pondérée de manière à voir les effets de relaxation T1. Il existe aussi un vecteur d'aimantation *transversale* des protons, également affecté par la même radiofréquence. La relaxation de ce vecteur magnétique transversal est causée par des interactions entre les protons. Sommairement, la rotation (« *spin* ») d'un proton peut affecter légèrement la rotation d'un proton adjacent, faisant ainsi varier les fréquences de rotation parmi les protons. Cette variation de rotation cause un déphasage de la rotation des protons et interfère avec le signal émis par les protons; la chute du vecteur transversal s'en suit (relaxation T2 (T2*)). Le temps par lequel la mesure de ce vecteur diminue à 37% de sa valeur finale correspond au temps T2 qui est en réalité T2*. Le temps T2* est plus court que le temps T2 car des hétérogénéités du champs magnétique couplées aux effets de la rotation d'un proton sur les protons voisins entraînent une chute plus rapide du vecteur transversal, qui correspond alors au temps T2*. La familles de séquences d'écho de *spin*, dont il sera question plus tard dans ce mémoire, arbore un réel temps T2. Cela est possible grâce à l'application d'une impulsion de radiofréquence de rephasage à 180° permettant de s'affranchir de l'effet des hétérogénéités de champs et des interactions de rotation des différents protons, permettant une chute du vecteur d'aimantation transversale plus longue, soit un temps T2 (Hoa, Micheau et al. 2007). L'eau a un temps T2 long, de l'ordre de 3000 ms; les tissus fortement hydratés et

les fluides apparaîtront par le fait même en hyper-signal sur une séquence à forte pondération T2 (T2*). Le temps T2 est toujours soit égal ou plus court que le temps T1. Il faut aussi noter que ces temps sont caractéristiques et propres à chaque tissu sous un champ magnétique principal donné; ils auront donc une valeur différente sous un champ d'une autre intensité.

Parmi les paramètres réglables par l'utilisateur, se trouvent le temps d'écho (TE) et le temps de répétition (TR). C'est par le contrôle de ces 2 variables que l'on peut arriver à pondérer une image en T1, T2 (T2*) ou en densité de proton (PD) (Hoa, Micheau et al. 2007) de manière à montrer les caractéristiques T1, T2 (T2*) ou PD d'un tissu. On dira alors que la séquence est pondérée soit en T1, T2 (T2*) ou en PD. Un TR court et un TE court amènent une pondération de séquence en T1 alors qu'un TR long et un TE long donneront une séquence pondérée en T2 (T2*). La séquence pondérée en PD est en quelque sorte un intermédiaire entre la T1 et la T2 (T2*) et a un TE court et un TR long. De plus, la PD peut être réalisée en même temps qu'une séquence T2; il suffit de recueillir un autre écho à un TE plus court situé entre l'excitation et le TE de la T2 (McRobbie, Moore et al. 2003).

1.4.2.3 Description des séquences IRM et celles utilisées en imagerie articulaire

Les séquences suivantes sont regroupées indépendamment de leur pondération sous 2 classes soit les écho de *spin* (SE) avec ses variantes ou les écho de gradient (GE) avec ses variantes. Les séquences d'écho de *spin* (SE), écho de spin rapide (FSE) et écho de gradient (GE) peuvent toutes être pondérées T1, T2 (T2*) ou PD. La GE est par contre plus sensible aux hétérogénéités de champ et sera pondérée en T2* plutôt qu'en T2. On parlera alors d'images SE ou FSE pondérées en T2 et des GE en T2* (McRobbie, Moore et al. 2003).

SE : Pour chaque TR, les séquences SE sont caractérisées par une impulsion de radiofréquences initiale de 90° puis d'une autre impulsion de 180° effectuée au milieu du TE afin d'obtenir une pondération T2. La SE est donc particulièrement intéressante lorsque l'on veut avoir de vraies images T2; il est à noter qu'en raison d'un long TR elles sont toutefois

longues à acquérir. Les séquences d'écho de *spin* multi-échocs profitent du long TR pour insérer une autre impulsion de 180° après que la première ait été enregistrée. La séquence a alors 2 TE pour un TR et permet de réaliser une séquence PD en même temps que la T2 (*Dual PD + T2*), le second TE étant d'avantage pondéré T2 puisque plus avancé au cours du TR. Son avantage majeur est de permettre l'acquisition de 2 séquences dans le temps d'une. Les séquences d'écho de *spin* rapides (FSE) profitent aussi du long TR pour glisser plusieurs autres impulsions de 180° suite à l'enregistrement du premier écho. Ces groupes d'impulsions sont appelées train d'écho et permettent simplement de recueillir plus d'information pour chaque coupe dans le même temps. Parmi les séquences SE, les plus utilisées en imagerie articulaire en plus de la T1, T2 et PD, est la suivante :

- STIR : La séquence short tau inversion recovery (STIR) est généralement pondérée en T2. Tout comme les autres séquences d'écho de *spin*, elle contient une radiofréquence faisant basculer les vecteurs de champ de 90° par rapport au champ principal. La différence ici est qu'on applique une impulsion de 180° suivie d'un temps d'attente nommé temps d'inversion (TI) qui correspond à environ 70% du T1 de la substance du signal dont on veut s'affranchir avant d'appliquer l'impulsion de 90°. En effectuant une minutieuse sélection de ce TI, on peut écarter le signal de pratiquement tous les tissus possibles. La STIR permet d'obtenir des images à haut signal des liquides tout en ayant un signal très bas pour le gras, incluant celui composant la moelle osseuse; elle est donc très utilisée en imagerie musculosquelettique principalement pour les zones ostéocartilagineuses comme les articulations (McRobbie, Moore et al. 2003). Un autre de ses avantages réside dans sa relative insensibilité aux hétérogénéités de champ et aux artéfacts de susceptibilité (ou effet de susceptibilité) engendrés par les métaux présents dans l'environnement immédiat de l'articulation, comme par exemple une prothèse (Hoa, Micheau et al. 2007). La STIR a permis d'identifier des lésions ostéocartilagineuses dans l'articulation métacarpophalangienne chez le cheval à haut autant qu'à bas champ; les lésions étaient tout de même mieux identifiées sur les images à haut champ (Murray, Mair et al. 2009).

GE : D'abord et avant tout, les séquences d'écho de gradient ont pour principal avantage un temps d'acquisition de beaucoup inférieur aux séquences d'écho de *spin*. Elles sont caractérisées par une impulsion ayant un angle de bascule de 90° ou moins et par l'absence de rephasage à 180° , ce qui résulte en l'obtention de séquences pondérables en T2* et non en T2. Le faible angle de bascule permet un effet résiduel de l'aimantation initiale résultant en un retour à l'équilibre beaucoup plus rapide. Les TR et TE sont donc beaucoup plus courts. Un gradient d'intensité est appliqué au champ magnétique principal pour remplacer la radiofréquence de 180° des SE. Les séquences d'écho de gradient ont aussi leur version accélérée : les séquences d'écho de gradient ultra-rapides. Elles utilisent des angles de bascule très faibles. Des gradients peuvent aussi être appliqués afin de détruire l'aimantation transversale (Écho de gradient avec destruction de l'aimantation transversale). Les séquences de gradient à l'état d'équilibre, comme la GRE, elles, ne s'affranchissent pas de l'aimantation transversale et l'utilisent dans la production du signal.

- SPGR : La séquence *spoiled gradient echo* (SPGR) ou séquence d'écho de gradient avec destruction de l'aimantation transversale fait partie de la famille des séquences d'écho de gradient. Un angle de moins de 90° est utilisé pour produire la SPGR. Plus cet angle s'approche de 90° et plus on pondère en T1. Le TE joue aussi un rôle : plus il est court et plus on obtient du T1 alors qu'en s'accroissant, il déplace la pondération vers le T2*. Par contre, comme son nom l'indique, la SPGR détruit l'aimantation transversale à l'aide d'un gradient destructeur (*spoiler*) appliqué directement après la fin de l'acquisition du signal. Cette séquence, aussi utilisée en médecine humaine, a été reconnue comme fiable chez le cheval. Les mesures d'épaisseur de cartilage articulaire équin obtenues de ces images sont comparables aux mesures histomorphométriques correspondantes (Murray, Branch et al. 2005, Olive, D'Anjou et al. 2010). Elle réussit même à bien rendre les mesures totales de cartilage et d'os sous-chondral, là où échoue la GRE (Murray, Branch et al. 2005). Utilisée à haut champ, cette séquence rend possible la différenciation du cartilage articulaire de deux épiphyses adjacentes (Murray, Mair et al. 2009). Cette séquence permet aussi de détecter des érosions de la surface articulaire avec une sensibilité modérée, mais en revanche, avec une excellente spécificité (Olive, D'Anjou et al. 2010).

- GRE avec saturation des gras : On peut dire qu'en général les séquences d'écho de gradient utilisent des angles de bascule faibles, de l'ordre de 90° ou moins. Cette séquence, lorsque saturée pour le signal du gras (concept expliqué plus loin dans le texte), a démontré ses capacités à fournir des mesures exactes du cartilage articulaire équine alors qu'elle surévalue les mesures de l'os sous-chondral (Murray, Branch et al. 2005). Elle ne permet de faire la distinction entre deux surfaces cartilagineuses apposées qu'en périphérie, là où les cartilages articulaires sont légèrement plus éloignés (Murray, Mair et al. 2009). Avec des ajustements légèrement différents, il est possible d'identifier des érosions partielles et complètes du cartilage articulaire de l'articulation interphalangienne distale avec une sensibilité variant de modérée à bonne (Olive 2010). Elle permet aussi de bien visualiser des lésions de l'os sous-chondral tout en rendant possible l'identification de changements de signal du cartilage articulaire adjacent et la suspicion de lésions (Sherlock, Mair et al. 2009).

- FS : La saturation des gras, souvent identifiée comme *fat saturation*, est une option qu'il est possible d'ajouter à une séquence et est couramment rencontrée en imagerie articulaire. Afin d'améliorer le contraste entre certaines structures, à haut champ, il est possible de soustraire le signal du gras. Les fréquences de résonance des protons du gras et de l'eau, par exemple, ne sont pas les mêmes. Cette différence est exploitée en appliquant une impulsion de radiofréquences sélectivement à la fréquence de résonance du gras. Cette impulsion a pour effet de faire basculer le vecteur d'aimantation du gras de 90° sans affecter le vecteur d'aimantation des autres substances avoisinantes. Un gradient qui a pour but de détruire l'aimantation dans le plan transverse est ensuite appliqué. L'enregistrement du signal est débutée tout juste après l'application de ce gradient, résultant en une séquence pour laquelle le signal du gras est absent à très atténué par rapport au signal des autres substances (Hoa, Micheau et al. 2007).

1.4.2.4 Apparence de l'épiphyse en développement

Malheureusement, l'IRM n'a pas été utilisée afin de décrire le développement de l'épiphyse équine à ce jour. Par contre, quelques travaux phares ont été menés sur des épiphyses porcines et ovines (Jaramillo, Connolly et al. 1998, Connolly, Jaramillo et al. 2004).

Tout d'abord, il est important de savoir que l'apparence du cartilage à l'IRM dépend de son contenu en eau, des différentes liaisons de l'eau aux diverses molécules du cartilage, du degré de minéralisation de la matrice puis de la cellularité et de la vascularisation de ce cartilage. Lors de l'interprétation des différents signaux présents sur une image, il faut garder en tête que les liaisons de l'eau ainsi que l'orientation des macromolécules auront un effet sur les temps de relaxation T1 et T2. L'effet d'angle magique est donc à considérer. Cet effet se produit lorsque les fibres de collagène d'un patient qui est orienté selon un angle de 0° sont orientés à 55° par rapport au champ principal, ce qui résulte en la présence d'un hyper-signal dans une structure qui devrait normalement être en hypo-signal (Jaramillo and Shapiro 1998). Parmi les facteurs affectant l'évolution du signal de l'épiphyse, il y a la concentration en protéoglycans. En effet, plus la concentration de protéoglycans dans le cartilage épiphysaire augmente, et plus son temps T2 diminue (Dardzinski, Mosher et al. 1997, Dardzinski, Laor et al. 2002).

L'épiphyse du porc, suite à la naissance, est progressivement envahie par le centre d'ossification secondaire à l'instar du cartilage de croissance (Babyn, Kim et al. 1996). Dans le premier tiers de la gestation, l'épiphyse distale du fémur a une forme plutôt sphérique, qui évolue vers hémisphérique dans le second tiers pour laisser place à un sillon intercondylien dans le dernier tiers. Une fois apparu, le centre secondaire d'ossification est entouré d'une bande uniforme correspondant à sa propre physe (Connolly, Jaramillo et al. 2004). À partir du second tiers de gestation, il est possible de voir une bande de bas signal autour de la région de la physe, qui correspond au péricondre (Connolly, Jaramillo et al. 2004). À haut champ et haute résolution, le complexe cartilage de croissance et articulaire donne un signal homogène en T1 pour la période allant de la naissance à 6 mois. Le signal est aussi homogène en T2 pour le cartilage d'un porc naissant. C'est à partir de 11 jours que 3 zones de signal, dont 2 zones d'hyper-signal séparées par une zone d'hypo-signal plus proéminente, sont visibles. L'intensité et l'épaisseur de ces zones varient ensuite avec l'âge. La zone la plus superficielle serait considérée comme étant le cartilage articulaire. Dans les deux zones les plus centrales, il est possible de visualiser des zones de signal plus bas en forme de ramifications linéaires correspondant à des canaux de cartilage dont le nombre diminue avec l'âge et qui ne sont plus visibles passé un mois d'âge (Babyn, Kim et al. 1996).

Chez l'humain naissant, le signal est aussi plutôt uniforme pour ensuite devenir un peu plus hétérogène. Les zones de cartilage supportant la charge corporelle sont celles dont le signal en T2 diminue le premier. Il y a aussi présence de zones de plus haute densité de canaux vasculaires au centre des épiphyses, là où le centre secondaire d'ossification prendra éventuellement place, résultant en un hyper-signal en pondération T2 et un fort rehaussement en pondération T1 suite à l'administration de milieu de contraste (Jaramillo and Shapiro 1998). Les types de signaux émis par les différentes structures de l'épiphyse humaine en développement soumises aux séquences IRM communes sont résumés dans le tableau IV.

Tableau IV. Type de signal IRM associé à différentes structures de l'épiphyse humaine en développement selon diverses séquences. Tableau adapté et traduit de Jaramillo et Shapiro, 1998.

Séquence	Cartilage épiphysaire	Physe	Zone provisoire de calcification	Os	Cartilage articulaire	Liquide articulaire
T1	↑	↓	↑↓	↑↑	↑	↓
PD	↑↑	↑↑	↓	↓	↑↑	↑↑
T2	↓	↑	↓		↑	↑↑
GRE	↑↑	↑↑	↓	↓	↑	↑↑
SPGR FS	↑↑	↑↑	↓	↓↓	↑↑	↓
T1 Gado FS	↑	↑↑	↓	↓	↑	↑↓

↑= Signal de haute intensité; ↑↑= Signal de très haute intensité ↓= Signal de basse intensité
 ↓↓= Signal de très basse intensité

Chez l'agneau naissant, le cartilage épiphysaire et physaire ont tous deux des intensités de signal différents en T1 et en T2. Il est possible de distinguer 5 zones de signal distinct entre le centre secondaire d'ossification et la métaphyse. Ces zones sont représentées et corrélées à une coupe histologique correspondante (Figure 3).

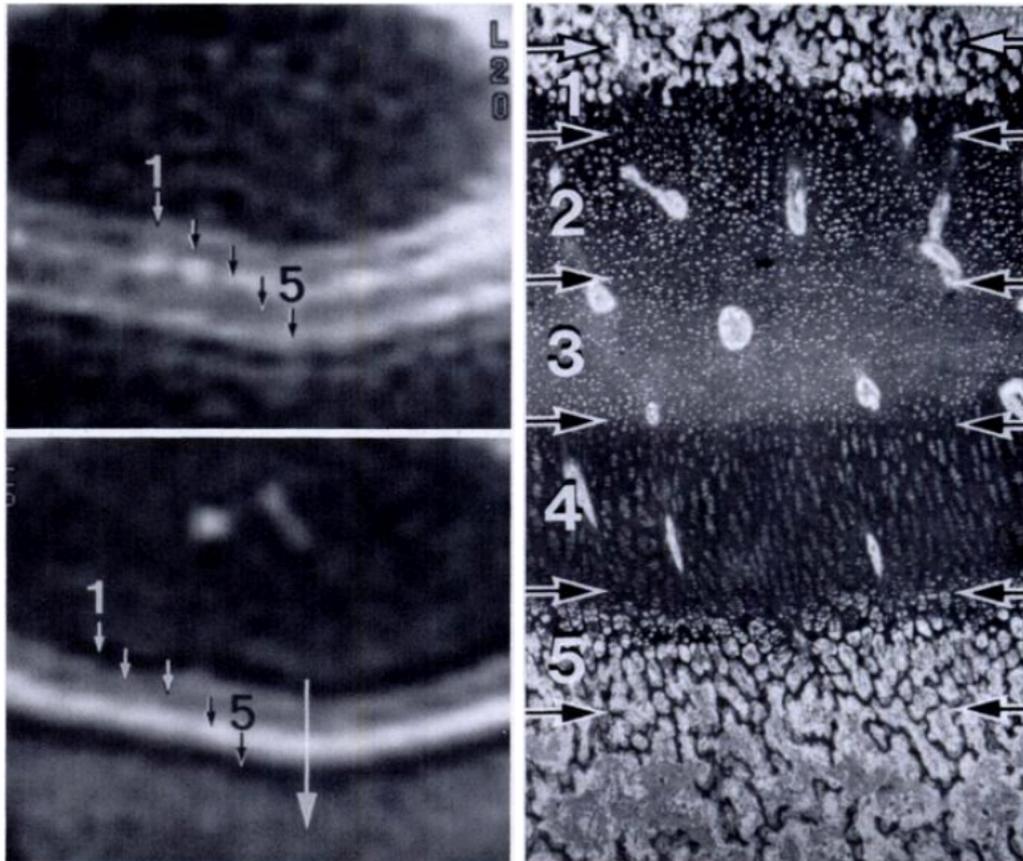


Figure 3. Correspondance des différentes couches de signal IRM d'une épiphyse d'agneau nouveau né aux zones histologiques associées. Gauche haut : Image IRM pondérée en T1 du cartilage de croissance d'un agneau, Gauche bas : Image IRM pondérée en T2 du même sujet. Droite Microphotographie de section histologique correspondante colorée au bleu de Toluidine. Zones : 1 : Zone de calcification provisoire du centre d'ossification secondaire, 2 : Physe du centre secondaire d'ossification, 3 : Cartilage épiphysaire, 4 : Cartilage de la physe, 5 : Zone de calcification provisoire de la physe.

Tirée de «Developing epiphysis: MR imaging characteristics and histologic correlation in the newborn lamb» par Jaramillo, D., S. A. Connolly, et al. 1998, Radiology 207(3), p. 640.

© RSNA (1998). Reproduit avec permission.

Le signal T2 est plus bas dans le cartilage épiphysaire que physaire chez le fœtus du porc, l'agneau et l'humain néonataux (Jaramillo, Connolly et al. 1998, Jaramillo and Shapiro 1998, Connolly, Jaramillo et al. 2004). Les zones de calcification provisoire sont représentées par un hyper-signal en T1 et hypo-signal en T2 chez l'agneau (Jaramillo, Connolly et al. 1998), ce qui correspond aussi à ce qui est rapporté chez le nourrisson humain (Jaramillo and Shapiro 1998). Malgré qu'aucune donnée sur l'évaluation du développement épiphysaire équin à l'IRM ne soit publiée, la modalité a été utilisée à ces fins chez l'humain, le porc et l'agneau (Babyn, Kim et al. 1996, Jaramillo, Connolly et al. 1998, Jaramillo and Shapiro 1998, Jaramillo, Connolly et al. 2003, Connolly, Jaramillo et al. 2004, Laor and Jaramillo 2009), il y a donc fort à parier qu'elle pourra fournir des données importantes chez le foetus équin.

1.4.2.5 Apparence des lésions d'ostéochondrose à l'IRM

Probablement dû aux relatives bonnes performances de la radiographie conventionnelle pour détecter les lésions d'OC et à d'autres aspects financiers et pratiques, l'IRM n'est pas rapportée comme ayant été utilisée pour l'étude ou le diagnostic de lésions d'OC chez le cheval. Chez le chien, les données sont peu nombreuses (van Bree, Degryse et al. 1993, Kippenes and Johnston 1998, van Bree and Van Ryssen 1998, Cook and Cook 2009). Les lésions d'OC au niveau de l'humérus proximal du chien se traduisent par une zone de diminution de signal en pondération T1 dans l'os sous-chondral adjacent, alors qu'il y a hyper signal en pondération T2* de la même zone et qu'il y a rehaussement au sein de la lésion en pondération T1 suite à l'injection de milieu de contraste intra-veineux (gadolinium) (van Bree, Degryse et al. 1993) cela correspondrait à une phase active d'inflammation de l'os sous-chondral. L'os sous-chondral associé à des zones de chondromalacie du cartilage articulaire notées à l'arthroscopie présente le même type d'images, mais dont le rehaussement suite à l'injection de milieu de contraste est plus important (van Bree, Degryse et al. 1993). L'arthrographie suite à injection de gadolinium intra-articulaire, quant à elle, ne semble pas

être utile (van Bree, Van Ryssen et al. 1995). Le cartilage articulaire normal présenterait un signal intermédiaire par rapport au liquide synovial en T1 et ne se démarquerait pas de la synovie sur les séquences T2* qui sont toutes deux en hyper-signal. Les souris articulaires cartilagineuses sont identifiables par la séquence T2*, étant représentées par une zone d'hypo-signal entourée de liquide ayant un haut signal (van Bree, Degryse et al. 1993). Le site d'origine d'un fragment ostéochondral au niveau de l'articulation lombosacrée chez un chien est caractérisé par une zone elliptique hyper-intense en pondération T2 entourée d'un halo hypo-intense (Glyde, Doyle et al. 2004)

1.5 Conclusion

En somme, l'OCD est une maladie ayant un impact économique considérable sur l'industrie équine et atteint jusqu'à 53% des chevaux tout dépendant des sources et des races. Malgré de nombreuses années de recherche, les événements initiant le développement de la maladie demeurent inconnus. Les deux hypothèses principales présentement véhiculées quant à sa pathogénie sont une nécrose ischémique du cartilage de croissance et une altération du métabolisme de la matrice de collagène de type II au sein du cartilage de croissance. Le défi réside en l'étude de lésions précoces. La communauté scientifique a encore beaucoup à apprendre sur le sujet. Par exemple, très peu est connu quant au développement articulaire et épiphysaire durant la période de susceptibilité pour le développement initial de lésions d'OCD. L'évolution des techniques d'imagerie médicale offre maintenant une méthode alternative non destructive et beaucoup moins invasive d'étudier le développement articulaire chez le fœtus et le poulain.

Hypothèses et objectif

Notre hypothèse principale était que le CT et l'IRM seraient de bons outils pour documenter différents aspects du développement épiphysaire équin chez le foetus et le poulain. Notre hypothèse secondaire était que les sites articulaires prédisposés au développement de lésions d'OCD conserveraient une épaisseur de cartilage plus importante que des sites contrôle prédéterminés.

L'objectif de cette étude était de décrire le développement épiphysaire du fémur distal, tibia proximal et talus équin à l'aide du CT et de l'IRM afin de déterminer si des variations focales du processus de maturation à certains sites épiphysaire pouvaient prédisposer au développement de lésions d'OCD.

Chapitre 2 : Article

Computed tomography and magnetic resonance imaging in the study of joint development in the equine pelvic limb

Pascal Fontaine ^a, Laurent Blond ^b, Kate Alexander ^b, Guy Beauchamp ^a, Hélène Richard ^a, Sheila Laverty ^{ab*}

^a: Comparative Orthopaedic Research Laboratory, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Québec, Canada.

^b: Département de sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Québec, Canada.

* Corresponding author.

Abstract

Osteochondrosis dissecans (OCD) is a focal failure of endochondral ossification of the epiphysis characterized by the presence of cartilage flaps and osteochondral fragments. The objective of this study was to image epiphyseal development in the equine pelvic limb to determine whether there was a variation in site maturation that could be a predisposing factor for OCD. Pelvic limbs (fetuses and foals) were studied post-mortem. The epiphyses of the distal femur, tibia and talus were scanned with computed tomography (CT) and 1.5 T magnetic resonance imaging (MRI) to investigate the degree and pattern of ossification, the regularity of the ossification front and cartilage percentage (articular epiphyseal cartilage thickness as a percentage of total epiphyseal diameter) at predetermined sites. The secondary ossification centers (SOCs) were first identified in the femoral epiphyses at 7 months, and both tibia and talus at 8 months of gestation (MOG). At P8 MOG the cartilage percentage was higher at the majority of OCD-susceptible sites when compared to control sites. At 8–9 MOG the lateral trochlear ridge of the femur, medial malleolus of the tibia (MM), cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia (DIRT(Cr)), all OCD susceptible sites, had the greatest cartilage percentage compared to all other sites assessed.

Post-partum, the cartilage percentage of the MM and DIRT(Cr), common sites of OCD, remained high.

CT and MRI images illustrate equine epiphyseal development and provide additional evidence that greater cartilage thickness at specific joint sites could play a role in the development of OCD.

Keywords: Equine fetus; Horse; Osteochondrosis dissecans; Cartilage; Medical imaging

Introduction

Mammalian skeletal development begins with mesenchymal cells that form a cartilaginous scaffold that shapes the future bone and joint (Rivas and Shapiro, 2002). The early equine fetal epiphyseal cartilage includes the articular cartilage at the joint surface and a deeper epiphyseal growth cartilage (Jeffcott, 1991, Carlson et al., 1995 and Lecocq et al., 2008), also referred to as the articular–epiphyseal cartilage complex (AECC) (Table 1) (Jeffcott, 1991). The articular cartilage structure cannot be histologically differentiated from the epiphyseal growth cartilage using standard safranin O or H&E stains (Rivas and Shapiro, 2002). However, recently the collagen structure of the AECC has been described using picrosirius red stain, which permits better differentiation of the articular cartilage component (Hughes et al., 2005 and Lecocq et al., 2008). Another difference between the equine epiphyseal growth cartilage and the surface articular cartilage is that the former contains cartilage canals that contain blood vessels (Firth and Poulos, 1982 and Firth and Poulos, 1993) but the latter does not (Ytrehus et al., 2004 and Lecocq et al., 2008).

Endochondral ossification is the process whereby the epiphyseal growth cartilage is gradually replaced by bone and involves a complex sequence of events characterized by chondrocyte hypertrophy, induction of complex molecular signalling pathways, cartilage vascularization and mineralization, cell differentiation into osteoblasts and, finally, bone formation (Banks, 1993, Roach et al., 1998, Rivas and Shapiro, 2002, Blumer et al., 2004 and Shapiro, 2008). Endochondral ossification begins in the center of the epiphyseal growth cartilage in the secondary ossification centers (SOCs) (Shapiro, 2008).

Osteochondrosis (OC) is a developmental disease involving characteristic focal sites of

the AECC of specific joints and affects many species, including humans, horses, dogs, swine and poultry (Carlson and Weisbrode, 2012). It is now widely recognized that OC lesions arise subsequent to a focal failure of endochondral ossification that occurs very early in life (Olsson and Reiland, 1978, Ekman and Carlson, 1998 and Ytrehus et al., 2007). Clinical osteochondrosis dissecans (OCD) is a form of OC characterized by an irregular articular surface and often includes the presence of cartilage or osteochondral flaps and fragments (Hurtig and Pool, 1996).

A key to understanding the aetiopathogenesis of equine OC lies in lesions in young foals or fetuses (Carlsten et al., 1993, Sandgren et al., 1993, Lecocq et al., 2008, Olstad et al., 2008a and Ekman et al., 2009). Histological studies of foal epiphyseal cartilage revealed that some sites predisposed to OCD had a greater cartilage thickness when compared with control sites (Firth and Greydanus, 1987, Olstad et al., 2007 and Olstad et al., 2008a). Recently, equine fetal epiphyseal tissues have also been studied (Lecocq et al., 2008 and Olstad et al., 2011) to provide insight into changes occurring at the SOC in the early stages of epiphyseal ossification that could contribute to OCD.

Unlike histological assessment, magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT) permit non-destructive, in situ studies of cartilage and bone. MRI has been used to assess epiphyseal development in various species including pigs (Dwek et al., 1997, Jaramillo et al., 2003, Jaramillo et al., 2004, Connolly et al., 2004, Menezes et al., 2006 and Menezes et al., 2007), lambs (Jaramillo et al., 1998) and rabbits (Rivas and Shapiro, 2002). Few imaging studies have been conducted on equine epiphyseal development.

Conventional radiography was used to describe the developing epiphysis in equine fetuses (Soana et al., 1998) and foals (Brown and MacCallum, 1975). Micro-CT has also been used to provide microstructural information on the equine epiphyseal vascular network (Cnudde et al., 2008 and Olstad et al., 2008b) and identified focal areas of bony indentation that corresponded to chondronecrosis, secondary to disruption of perfusion and that were believed to be early OCD lesions. MRI and conventional CT have not, to our knowledge, been employed to assess equine epiphyseal development.

The aim of this study was to describe epiphyseal development in the equine distal femur and tibia using MRI and CT, and to determine whether there were focal variations in epiphyseal site maturation that could predispose to OCD.

Materials and Methods

Specimens studied

Equine fetuses (n = 14) of unknown breed were collected from a local abattoir. Fetal age was estimated using crown-rump measurements (Bergin et al., 1967). Limbs from young foals (n = 4; a Hanoverian, an American Bashkir, an Appaloosa and an Oldenburg) euthanized at our hospital for reasons unrelated to this project, were also studied. Ponies and animals with orthopedic sepsis were excluded. Samples were from both males and females (n = 9 each). The right hind limbs were harvested and frozen at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. The specimens were assigned to four age groups for the purpose of assessing the sequence of events occurring through the different stages of epiphyseal development: Group 1, 4–5 months of gestation (MOG) (n = 4); Group 2, 6–7 MOG (n = 4), Group 3, 8–9 MOG (n = 6); Group 4, foals less than 3 weeks post-partum (foals ≤ 3 WPP) (n = 4). The latter group included foals aged 36 h, 3 days, 5 days and 3 weeks.

Imaging

CT image acquisition

Approximately 10 h before imaging, specimens were thawed at room temperature in physiologic saline solution. The limbs were secured in full extension on a Plexiglas sheet and imaged with a helical single-slice CT scanner (12 specimens; GE Hi-Speed ZXi, GE Healthcare Canada) or a helical multi-slice CT (2 specimens; GE Light Speed 16, GE Healthcare Canada) using a bone algorithm. Acquisition parameters were adjusted to limb size and ranged from: slice thickness 0.625–1.25 mm, slice interval 0.5 mm, tube rotation time 1.0–1.3 s, pitch of 0.938:1–1:1, 70–240 mA, 120 kVp, matrix 512×512 and scan field of view

25–50 cm. All studies were reformatted in sagittal and dorsal planes and as 3D images.

MR image acquisition

Focusing on the distal femur, distal tibia and talus, limbs were imaged with a 1.5 T magnet (GE Signa HDX, GE Healthcare Canada) employing a human knee antenna for fetuses (HD TRknee PA, GE Healthcare Canada) and a human spine antenna for foals (GE Healthcare Canada). Five sequences were performed in two different planes (Table 2). All sequences were designed to obtain optimal differentiation of cartilage zones.

Parameters assessed

A single radiologist evaluated all of the CT images and another evaluated all of the MRI images. Specimens were evaluated in random order with observers unaware of specimen age. The results reported herein focus on OCD prone sites in the distal femur: lateral trochlear ridge of the femur (LTF), medial trochlear ridge of the femur (MTF), tibia: cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia (DIRT(Cr)), medial malleolus of the distal tibia (MM) and talus: lateral trochlear ridge of the talus (LTT) (Fig. 1). The lateral malleolus of the distal tibia (LM), central part of the distal intermediate ridge of the tibia (DIRT(Ce)), caudal part of the distal intermediate ridge of the tibia DIRT(Cd), medial trochlear ridge of the talus (MTT), and femoral inter-trochlear groove (FG) of the femur were considered control sites as OCD lesions are rarely encountered here (McIlwraith et al., 1991, McIlwraith, 1996, Dik et al., 1999, van Weeren and Barneveld, 1999, Bourzac et al., 2009 and Relave et al., 2009). Ossification of the proximal tibia and tarsal cuboidal bones was also evaluated, but these results are not reported here.

Pattern of ossification: CT

The spatial distribution of epiphyseal ossification was subjectively described using both multiplanar and 3D reformatted images to illustrate the dynamics of the ossification process during maturation. For the purposes of this assessment, the predominant ossification pattern was evaluated as central or extending medial, lateral, proximal, distal, dorsal/cranial or plantar/caudal.

Degree of ossification: CT and MRI

SPGR MRI sequences and CT multiplanar reformatted images were assessed separately to determine the degree of epiphyseal ossification. Ossification was scored semi-quantitatively based on the proportion of total structure occupied by mineralized bone: Grade 0: no ossification, Grade 1: 1–25% of the volume ossified, Grade 2: 26–50% of the volume ossified, Grade 3: 51–75% of the volume ossified, Grade 4: 76–99% of the volume ossified, Grade 5: complete ossification (Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 and Fig. 5).

Contour of the ossification front: CT and MRI

The regularity of the ossification front was also scored semi-quantitatively: Grade 0: absence of ossification, Grade 1: regular, Grade 2: mildly irregular and Grade 3: markedly irregular (Fig. 4 and Fig. 5). Histological assessment of a safranin O stained section was performed of a representative irregular ossification front.

Cartilage percentage: MRI

A percentage was calculated to compare the proportion of cartilage present at OCD prone sites with that of control regions within the same articulation. Using dedicated

software¹, cartilage thickness of the AECC complex was measured perpendicular to the articular surface of the epiphysis. This was divided by the entire epiphyseal diameter. In the youngest fetuses with a fully cartilaginous epiphysis, a percentage of 100 was obtained (Fig. 4 and Fig. 5). The measurements were made on sagittal T2W images at the following sites; femur (LTF, MTF, FG), talus (LTT, MTT); and on dorsal T2W images of the distal tibia (MM, LM, DIRT(Cr), DIRT(Ce), DIRT(Cd)).

Statistical analysis

A Cochran–Mantel–Haenszel test was used to determine whether the distribution of scores for categorical variables (degree of ossification and contour of the ossification front) differed among the age groups. For quantitative variables (cartilage percentages), a Friedman test was used within each age group to compare cartilage ratios for different sites. A Wilcoxon signed rank test was used to compare the similarities in results obtained by CT and MRI on the following variables; degree of ossification and contour appearance of the ossification front. Analyses were carried out using SAS v. 9.2 (Cary, NC) and the level of statistical significance was set at 0.05.

Results

Pattern and degree of ossification

No significant differences in the degree of ossification as assessed between CT and MRI were identified (Table 3). For this reason, only CT scores are presented in the text.

Distal femur

The SOC of the distal femur first appeared in a 7 MOG specimen (Group 2). Ossification began in the inter-trochlear groove and progressed radially away from the center. The cranioproximal aspects of both trochlear ridges matured last and were still partly cartilaginous in Group 4 (foals ≤ 3 WPP), representing the neonatal period. The endochondral ossification process subsequently involved both the lateral and medial trochleas of femur simultaneously (Fig. 2, Fig. 3 and Fig. 4).

Distal tibia

The SOC of the distal tibial epiphysis was first observed in an 8 MOG specimen (Group 3). It formed centrally in the distal intermediate ridge, progressed radially away from the center slightly more medially and finally involved the cranial part of the distal intermediate ridge leaving the craniodistal part totally unossified until the 9th MOG (Group 3). A separate SOC formed centrally in the LM, and was first observed in an 8 MOG specimen (Group 3). It progressed centrifugally until complete ossification occurred at 3 weeks post-partum (Group 4). The MM remained cartilaginous longest with a separate SOC that was first visible in a 9 MOG specimen (Group 3). It ossified caudolaterally then progressively caudomedially to eventually extend cranially, leaving craniomedial part of the malleolus unossified even in the oldest foal of this study (Fig. 2, Fig. 3 and Fig. 5).

Talus

Ossification of the talus began centrally at 8 MOG and progressed distally and then radially away from the center. The trochlear ridges ossified dorsoproximally, but the lateral dorsodistal ridge matured later, remained partially cartilaginous until at least the third week post-partum. The talus was fully ossified on only two specimens in Group 4 (Fig. 2, Fig. 3 and Fig. 5).

A statistically significant increase ($P \leq 0.03$) in CT ossification scores was seen related to the stage of development. Specific significant differences within sites between the different age groups are reported in Table 3.

Contour of the ossification front: CT and MRI

The grades for regularity of the ossification front at the sites examined are presented in Table 4. As there were no significant differences between the CT and MRI scores for the contour of the ossification front, only CT observations are presented. Only the distal femur sites manifested irregular (mild and markedly) ossification fronts detectable on CT and MRI (Grades ≥ 2) (Fig. 4 and Fig. 6). Histological assessment at a representative site with an irregular ossification front revealed normal cartilage extending into the subchondral bone and containing cartilage canals (Fig. 6). As there were no ossification fronts (Grade 0) in the younger specimens (Groups 1 and 2), there were insufficient specimens to permit a statistical comparison between sites and groups for this parameter.

Cartilage percentage: MRI

Distal femur

Inter-site comparisons of the cartilage percentage were performed in groups with an evident SOC (Groups 3 and 4) and data are presented in Table 5. The LTF cartilage was significantly thicker than the MTF in the 8–9 MOG, but following birth there was no significant difference between the MTF and LTF.

Distal tibia and talus

Inter-site comparisons of the cartilage percentage were performed in groups with an evident SOC (Groups 3 and 4).

In fetuses 8–9 MOG the cartilage thickness at the majority of distal tibial sites assessed was significantly greater than at the talus sites (Table 5). Following birth all distal tibial sites, except the LM and DIRT(Ce), had thicker cartilage than other sites assessed.

Discussion

The present study provides a novel imaging window on equine pelvic limb development focusing on OCD prone sites. The CT multiplanar and 3D reformatted images illustrate progressive SOC ossification and reveal that the cranioproximal aspects of the femoral trochlear ridges and distal tibial sites (MM and DIRT(Cr)) were among the last sites to ossify in the joints examined. These observations suggest that ossification occurs later and, conversely, cartilage remains thicker for longer in the majority of OCD prone sites, examined herein, in the neonatal foal. A notable exception was the DIRT(Cd), which also ossified late but is not susceptible to OCD. The latter exception supports the theory that additional factors, such as trauma potentially related to joint morphology, may contribute to the phenotypic expression of OCD and that thicker cartilage due to later development alone is not responsible for lesion development.

The SOCs first appeared at 7-8 months of gestation in all the epiphyses assessed (distal femur, tibia and talus) and indicates that the molecular events that trigger these processes are similar for this region of the hindlimb. This ossification sequence concurs with earlier reports that investigated the ossification sequence of the tarsocrural joint in equine fetuses (Soana et al., 1998 and Olstad et al., 2007) and in the hind limb of foals (Brown and MacCallum, 1975 and Firth and Greydanus, 1987). SOC development has also been assessed in a few other species. The porcine distal femoral epiphysis SOC appears in the second third of the gestation (Connolly et al., 2004), similar to the study herein. However, the rabbit's distal femoral SOC develops later, first appearing at 28 days of the 30 day gestational period and its distal tibial SOC first appears at 4 days post partum (Rivas and Shapiro, 2002) underpinning interesting

differences in epiphyseal development across species.

The trochlear ridges of the distal femur are recognized predisposition sites of OCD (Foland et al., 1992, Dik et al., 1999, van Weeren and Barneveld, 1999, Robert et al., 2006, Lepeule et al., 2008, Oliver et al., 2008 and Van Grevenhof et al., 2009), with lesions arising more commonly on the lateral trochlear ridge (Dik et al., 1999, van Weeren and Barneveld, 1999 and Bourzac et al., 2009). The SOC did not completely engulf the growth cartilage of both femoral trochlear ridges until up to 3 weeks after birth. The findings of this study revealed that at 7-10 MOG the femoral cartilage was thicker at the LTF site compared to the MTF, but in later development in the neonatal period, no differences were observed between these 2 sites. Although our findings on a later maturity of both trochleas of the femur agrees with previous investigators (Firth and Greydanus, 1987, Lecocq et al., 2008 and Olstad et al., 2008c) a greater cartilage thickness has been reported in the medial compared to lateral trochlea (Firth and Greydanus, 1987). The disparity in findings may be attributed to measurement methods, different numbers of specimens and the age groups evaluated, as the latter study analyzed specimens up to 150 days post partum whereas the study herein assessed specimens up to 3 weeks of age alone.

The DIRT(Cr), MM and LT are the most frequent sites of OCD lesions in the tarsocrural joints (McIlwraith, 1996). Following birth the cartilage percentage in the distal tibia was as follows: MM (43%), DIRT(Cr) (27%), DIRT(Cd) (25%), LM (15%) and DIRT(Ce) (8%) and the talus: LTT (12%), MTT (8%). Similar to our findings, previous studies identified the DIRT(Cr) (Firth and Greydanus, 1987, Olstad et al., 2007 and Olstad et al., 2008a) and DIRT(Cd) (Firth and Greydanus, 1987 and Olstad et al., 2008a) as two of the

most cartilaginous structures of the distal tibia in the neonatal foal. Also, the MM (Olstad et al., 2008a) and LTT (Firth and Greydanus, 1987 and Olstad et al., 2008a) were reported to remain cartilaginous for a longer period. However, as mentioned above, because OCD does not affect the DIRT(Cd) or the MTT, the presence of thicker cartilage alone is not an exclusive causative factor in OCD. Combined, the findings of the study herein and previous investigations collectively reveal that the femur, tibia and talus OCD prone sites mature later retaining thick cartilage in the neonatal period.

It has been known for some time that thicker cartilage is deformed to a greater extent on compression than thinner or more mature cartilage (Kempson, 1973 and Klein et al., 2007). This susceptibility of thicker immature cartilage to injurious compressive forces has been posited to be one factor in OCD etiopathogenesis: deformation could cause trauma to cartilage canals and blood vessels contained in the subarticular growth cartilage (Lewis, 1986 and Pool, 1986) and potentially initiate focal ischemia observed in early OC. The sudden increase in weight bearing and compressive forces on this thick cartilage in the first days post-partum may predispose to OCD lesions as suggested by investigators in the past (Grondalen, 1974 and Firth and Greydanus, 1987).

Irregularity of the ossification front was only observed in the distal femoral epiphysis sites in the study herein. In a previous histological study from our laboratory 41% of samples from multiple joints in the equine fetal front and hindlimb had evidence of microscopic indentations that contained fingerlike projections of cartilage into the bone (Lecocq et al., 2008). The majority (92%) of these indentations also had associated cartilage canals, although they were also present at sites without indentations (Lecocq et al., 2008). These are similar to

what we observed herein. Irregularity of the ossification front has also been described in radiographic studies of the stifle in foals younger than 11 weeks of age (Adams and Thilsted, 1985). This irregularity is now recognized as part of a physiological process (Lecocq et al., 2008). Cartilage canals and their vessels, however, have been suggested to be more susceptible to disruption at this cartilage and bone interface (Olstad et al., 2007, Olstad et al., 2008a, Olstad et al., 2008b and Olstad et al., 2011) as a result of different biomechanical properties of these areas. An irregular cartilage-bone interface coupled with exercise could predispose to damage to the cartilaginous extracellular matrix or the cartilage canals in these indented regions and lead to chondronecrosis (Lecocq et al., 2008, Olstad et al., 2008a, Olstad et al., 2008b and Olstad et al., 2011). Lecocq et al. observed histological extracellular matrix abnormalities more frequently with these indentations (Lecocq et al., 2008).

It has been reported that the osteochondral junction of young people fractures at significantly lower loads than adult tissues when subjected to impact in shear (Flachsmann et al., 2000). This has been attributed to structural changes occurring at this site during maturation. These changes implicate the cell component (greater volume of cells, their shape and orientation), combined with a softer matrix and may have a marked effect on mechanical properties of immature cartilage (Klein et al., 2007). Chondrocyte hypertrophy and proteolysis of the collagen matrix are characteristic features of endochondral ossification (Poole et al., 2000) of the growth cartilage and a structural weakness in this subarticular area could predispose to traumatic injury at this site and subsequent development of OCD. Lecocq et al. identified a dramatic change in collagen structure, from a more dense structure to one with thinner fibrils, between the proliferative and hypertrophic zones of equine subarticular growth cartilage, paralleling changes in cells at these sites (Lecocq et al., 2008). In addition, the same

study also reported an increase in mean cartilage canal diameter area in the deep cartilage zone and an increase in diameter with maturity, which could also play a role in making this site more susceptible to trauma (Lecocq et al., 2008).

There are several limitations in the study herein. First, the subjective assessment of the ossification process may have failed to precisely identify subtle differences in ossification of OCD prone and non-OCD prone sites. Second, because of a limited availability of samples, there were a low number of subjects. Third, variation in epiphyseal shape and slice thickness could have caused some variation in identification of the sites for measurement.

In conclusion, the study herein confirms and extends the findings of others (Firth and Greydanus, 1987, Olstad et al., 2007, Olstad et al., 2008a and Olstad et al., 2008c) that cartilage thickness is greater at some OCD predisposed sites throughout epiphyseal development in equine fetuses and young foals. CT and MRI illustrate the 3D pattern and progression of epiphyseal endochondral ossification in the distal femur and tibia and talus and provided benchmark data on joint development in equine fetuses and foals.

Conflict of interest statement

None of the authors has any financial or personal relationships that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the Canadian Arthritis Network, the Arthritis Society, the Canadian Institute of Health Research, and the Fond du Centenaire of the, Faculté de

medecine veterinaire, Université de Montréal for funding this project. We would also like to acknowledge Dr Eric Norman Carmel, Suzie Lachance, Christine Chevrier, Anne-Marie Martel and Geneviève Rouleau, for their assistance imaging samples.

References

- Adams, M.W., Thilsted, P.J., 1985. Radiographic appearance of the equine stifle from birth to 6 months. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 26, 126-132.
- Banks, W.J., 1993. Osteogenesis. In: Reinhardt, R.W. (Ed). *Applied Veterinary Histology*, 3rd Edn. Mosby-Year Book, St. Louis, MO, USA, pp. 127-141.
- Bergin, W.C., Gier, H.T., Frey, R.A., Marion, G.B., 1967. Developmental horizons and measurements useful for age determination of equine embryos and fetuses, In: *Proceedings of the thirteenth annual convention of the American Association of Equine Practitioners* New Orleans, LA, USA, 4th-6th December 1967, pp. 179-196.
- Blumer, M.J., Longato, S., Fritsch, H., 2004. Cartilage canals in the chicken embryo are involved in the process of endochondral bone formation within the epiphyseal growth plate. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 279, 692-700.
- 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 Veterinary Journal* 41, 685-692.
- Brown, M.P., MacCallum, F.J., 1975. A system of grading ossification in limbs of foals to assist in radiologic interpretation. *American Journal of Veterinary Research* 36, 655-661.
- Carlson, C.S., Cullins, L.D., Meuten, D.J., 1995. Osteochondrosis of the articular-epiphyseal cartilage complex in young horses: evidence for a defect in cartilage canal blood supply. *Veterinary Pathology* 32, 641-647.

- Carlson, C.S., Weisbrode, S.E., 2012. Bone, Joints, Tendons, and Ligaments. In: McGavin, M.D., Zachary, J.F. (Eds). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, 5th Edn. Elsevier Mosby, St.Louis, MO, USA, pp. 920-971.
- Carlsten, J., Sandgren, B., Dalin, G., 1993a. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. I. A radiological survey. *Equine Veterinary Journal* 25, 42-47.
- Cnudde, V., Masschaele, B., De Cock, H.E., Olstad, K., Vlamincx, L., Vlassenbroeck, J., Dierick, M., Witte, Y.D., Van Hoorebeke, L., Jacobs, P., 2008. Virtual histology by means of high-resolution X-ray CT. *Journal of Microscopy* 232, 476-485.
- Connolly, S.A., Jaramillo, D., Hong, J.K., Shapiro, F., 2004. Skeletal development in fetal pig specimens: MR imaging of femur with histologic comparison. *Radiology* 233, 505-514.
- Dik, K.J., Enzerink, E., Weeren, P.R.v., 1999. Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. (Osteochondrosis and musculoskeletal development in the foal under the influence of exercise). *Equine Veterinary Journal. Supplement* 31, 9-15.
- Dwek, J.R., Shapiro, F., Laor, T., Barnewolt, C.E., Jaramillo, D., 1997. Normal gadolinium-enhanced MR images of the developing appendicular skeleton: Part 2. Epiphyseal and metaphyseal marrow. *American Journal of Roentgenology* 169, 191-196.
- Ekman, S., Carlson, C.S., 1998. The pathophysiology of osteochondrosis. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 28, 17-32.
- Ekman, S., Carlson, C.S., van Weeren, P.R., 2009. Workshop report. Third International Workshop on Equine Osteochondrosis, Stockholm, 29-30th May 2008. *Equine Veterinary Journal* 41, 504-507.
- Firth, E.C., Poulos, P.W., 1982. Blood vessels in the developing growth plate of the equine distal radius and metacarpus. *Research in Veterinary Science* 33, 159-166.

- Firth, E.C., Greydanus, Y., 1987. Cartilage thickness measurement in foals. *Research in Veterinary Science* 42, 35-46.
- Firth, E.C., Poulos, P.W., 1993. Vascular characteristics of the cartilage and subchondral bone of the distal radial epiphysis of the young foal. *New Zealand Veterinary Journal* 41, 73-77.
- Flachsmann, R., Broom, N.D., Hardy, A.E., Moltshaniwskyj, G., 2000. Why is the adolescent joint particularly susceptible to osteochondral shear fracture? *Clinical Orthopaedics and Related Research* 381, 212-221.
- Foland, J.W., McIlwraith, C.W., Trotter, G.W., 1992. Arthroscopic surgery for osteochondritis dissecans of the femoropatellar joint of the horse. *Equine Veterinary Journal* 24, 419-423.
- Grondalen, T., 1974. Osteochondrosis and arthrosis in pigs. VII. Relationship to joint shape and exterior conformation. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplement* 46, 1-32.
- 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. *European Cells and Materials* 9, 68-84.
- Hurtig, M.B., Pool, R.R., 1996. Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: McIlwraith, C.W., Trotter, G.W. (Eds). *Joint disease in the horse*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA, pp. 335-358.
- Jaramillo, D., Connolly, S.A., Mulkern, R.V., Shapiro, F., 1998. Developing epiphysis: MR imaging characteristics and histologic correlation in the newborn lamb. *Radiology* 207, 637-645.
- Jaramillo, D., Connolly, S.A., Vajapeyam, S., Robertson, R.L., Dunning, P.S., Mulkern, R.V., Hayward, A., Maier, S.E., Shapiro, F., 2003. Normal and ischemic epiphysis of the femur: diffusion MR imaging study in piglets. *Radiology* 227, 825-832.

- Jaramillo, D., Villegas-Medina, O.L., Doty, D.K., Rivas, R., Strife, K., Dwek, J.R., Mulkern, R.V., Shapiro, F., 2004. Age-related vascular changes in the epiphysis, physis, and metaphysis: normal findings on gadolinium-enhanced MRI of piglets. *American Journal of Roentgenology* 182, 353-360.
- Jeffcott, L.B., 1991. Osteochondrosis in the horse--searching for the key to pathogenesis. *Equine Veterinary Journal* 23, 331-338.
- Kempson, G.E., 1973. Mechanical properties of articular cartilage. In: Freeman, M.A.R. (Ed). *Adult Articular Cartilage*, Pitman Medical, London, England, UK, pp. 171-227.
- Klein, T.J., Chaudhry, M., Bae, W.C., Sah, R.L., 2007. Depth-dependent biomechanical and biochemical properties of fetal, newborn, and tissue-engineered articular cartilage. *Journal of Biomechanics* 40, 182-190.
- 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 Veterinary Journal* 40, 442-454.
- Lepeule, J., Bareille, N., Valette, J.P., Seegers, H., Jacquet, S., Denoix, J.M., Robert, C., 2008. Developmental orthopaedic disease in limbs of foals: between-breed variations in the prevalence, location and severity at weaning. *Animal : an International Journal of Animal Bioscience* 2, 284-291.
- Lewis, R., 1986. Incidence of developmental orthopedic lesions, In: AQHA Developmental Orthopedic Disease Symposium, Dallas, TX, USA, 21st-22nd April 1986, pp. 10-12.
- McIlwraith, C.W., Foerner, J.J., Davis, D.M., 1991. Osteochondritis dissecans of the tarsocrural joint: results of treatment with arthroscopic surgery. *Equine Veterinary Journal* 23, 155-162.
- McIlwraith, C.W., 1996. Clinical Aspects of Osteochondritis Dissecans. In: McIlwraith, C.W., Trotter, G.W. (Eds). *Joint disease in the horse*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, USA, pp. 362-383.

- Menezes, N.M., Olear, E.A., Li, X., Connolly, S.A., Zurakowski, D., Foley, M., Shapiro, F., Jaramillo, D., 2006. Gadolinium-enhanced MR images of the growing piglet skeleton: ionic versus nonionic contrast agent. *Radiology* 239, 406-414.
- Menezes, N.M., Connolly, S.A., Shapiro, F., Olear, E.A., Jimenez, R.M., Zurakowski, D., Jaramillo, D., 2007. Early ischemia in growing piglet skeleton: MR diffusion and perfusion imaging. *Radiology* 242, 129-136.
- Oliver, L.J., Baird, D.K., Baird, A.N., Moore, G.E., 2008. Prevalence and distribution of radiographically evident lesions on repository films in the hock and stifle joints of yearling Thoroughbred horses in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 56, 202-209.
- Olsson, S.E., Reiland, S., 1978. The nature of osteochondrosis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man. *Acta Radiologica. Supplementum* 358, 299-306.
- Olstad, K., Ytrehus, B., Ekman, S., Carlson, C.S., Dolvik, N.I., 2007. Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals. *Journal of Orthopaedic Research* 25, 1094-1105.
- Olstad, K., Ytrehus, B., Ekman, S., Carlson, C.S., Dolvik, N.I., 2008a. Epiphyseal cartilage canal blood supply to the tarsus of foals and relationship to osteochondrosis. *Equine Veterinary Journal* 40, 30-39.
- Olstad, K., Cnudde, V., Masschaele, B., Thomassen, R., Dolvik, N.I., 2008b. 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., 2008c. Epiphyseal cartilage canal blood supply to the distal femur of foals. *Equine Veterinary Journal* 40, 433-439.
- Olstad, K., Ytrehus, B., Ekman, S., Carlson, C.S., Dolvik, N.I., 2011. Early lesions of articular osteochondrosis in the distal femur of foals. *Veterinary Pathology* 48, 1165-1175.

- Pool, R.R., 1986. Pathologic manifestations of osteochondrosis. In: McIlwraith, C.W., American Quarter Horse Association (Ed). Proceedings of the American Quarter Horse Association Developmental Orthopedic Disease Symposium, Amarillo, pp. 3-7.
- Poole, A.R., Laverty, S., Mwale, F., 2000. Endochondral bone formation and development in the axial and appendicular skeleton. In: Henderson, J.E., Goltzman, D. (Eds). The osteoporosis primer, Cambridge university press, Cambridge, England, UK, pp. 3-17.
- 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.
- Rivas, R., Shapiro, F., 2002. Structural stages in the development of the long bones and epiphyses: a study in the New Zealand white rabbit. *Journal of Bone and Joint Surgery* 84-A, 85-100.
- Roach, H.I., Baker, J.E., Clarke, N.M., 1998. Initiation of the bony epiphysis in long bones: chronology of interactions between the vascular system and the chondrocytes. *Journal of Bone and Mineral Research* 13, 950-961.
- Robert, C., Valette, J.P., Denoix, J.M., 2006. Correlation between routine radiographic findings and early racing career in French trotters. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, 473-478.
- Sandgren, B., Dalin, G., Carlsten, J., Lundeheim, N., 1993. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. II. Body measurements and clinical findings. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, 48-53.
- Shapiro, F., 2008. Bone development and its relation to fracture repair. The role of mesenchymal osteoblasts and surface osteoblasts. *European Cells and Materials* 15, 53-76.

- Soana, S., Gnudi, G., Bertoni, G., Botti, P., 1998. Anatomico-radiographic study on the osteogenesis of carpal and tarsal bones in horse fetus. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 27, 301-305.
- Van Grevenhof, E.M., Ducro, B.J., Van Weeren, P.R., Van Tartwijk, J.M., Van den Belt, A.J., Bijma, P., 2009. Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch warmblood horses. *Equine Veterinary Journal* 41, 11-16.
- van Weeren, P.R., Barneveld, A., 1999. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, 16-25.
- Ytrehus, B., Carlson, C.S., Lundeheim, N., Mathisen, L., Reinholt, F.P., Teige, J., Ekman, S., 2004. Vascularisation and osteochondrosis of the epiphyseal growth cartilage of the distal femur in pigs--development with age, growth rate, weight and joint shape. *Bone* 34, 454-465.
- Ytrehus, B., Carlson, C.S., Ekman, S., 2007. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Veterinary Pathology* 44, 429-448.

Table 1: Abbreviations used in this article and their meaning.

Abbreviation	Corresponding words
MOG	Months of gestation
WPP	Weeks post-partum
SOC	Secondary ossification center
AECC	Articular-epiphyseal cartilage complex

Table 2: Magnetic resonance imaging sequences employed to image the distal femur, distal tibia and talus epiphyses.

Sequence	Mode	FE	PE	TE (ms)	TR (ms)	NEX	FOV (cm)	Flip angle (°)	Slice thickness (mm)	Slice spacing	ZIP
Femur											
3-plane T2* FGRE	2D	256	128			1.00	24.0		3.0	3.0	
Sagittal T2W FS	2D	512	256	105.0	4000.0	3.00	16		2.0	0.0	1024
Sagittal SPGR FS	3D	384	384	15.0	47.0	2.00	20.0	20	2.0		
Dorsal Dual T2W + PD	2D	512	256	Min Full/ 119.9	4500.0	3.00	18.0		3.0	0.0	
Tibia and Talus											
3-plane T2*W FGRE	2D	256	128			1.00	24.0		3.0	3.0	
Sagittal Dual T2W + PD	2D	512	256	Min Full / 123.6	4500.0	3.00	21.0		3.0	0.0	512
Dorsal T2W FS	2D	512	256	105.0	4000.0	3.00	20.0		2.0	0.0	1024
Dorsal SPGR FS	3D	384	384	15.0	47.0	2.00	20.0	20	2.0		

FE: Frequency encoding, PE: Phase encoding, TE: Echo time, TR: Repetition time, NEX: Number of excitations, FOV: Field of view, SPGR: Spoiled gradient recalled echo, FGRE: Fast gradient recalled echo, FS: Fat Saturated, PD: Proton density, W: Weighted

Table 3: CT and MRI ossification scores: Distal femur/tibia and talus

		Sites				
Age Groups		Distal Femur	Distal Tibial Center of Ossification ^a	Medial Malleolus	Lateral Malleolus	Talus
CT	1 (4-5 MOG)	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2 (6-7 MOG)	0 (0;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3 (8-9 MOG)	3 (1;4)b	2 (0;4)b	0 (0;2)a	0.5 (0;4)a	4 (1;4)b
	4 (foals ≤ 3WPP)	4 (4;4)b	4 (4;5)c	2,5 (0;4)b	4 (3;5)b	4.5 (4;5)b
	p value	0.002	0.002	0.03	0.005	0.002
MRI	1 (4-5 MOG)	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2 (6-7 MOG)	0 (0;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3 (8-9 MOG)	2 (1;3)b	2 (0;4)b	0 (0;2)a	0.5 (0;4)a	3 (1;4)b
	4 (foals ≤ 3WPP)	4 (3;4)c	4 (4;4)c	1.5 (1;3)b	4 (3;4)b	4 (4;4)b
	p value	0.001	0.003	0.02	0.005	0.001

p value of the Cochran-Mantel-Haenszel test

Data is expressed as median grade (min;max)x Within a site, medians represented by different x values are significantly different on post-hoc tests.

CT: Computed tomography, MRI: Magnetic resonance imaging. FP/FT: Femoropatellar / Femorotibial joint, MOG: Months of gestation, WPP: Weeks post-partum

Table 4: CT and MRI contour score: Distal femur/tibia and talus

		Sites				
Age Groups		Distal Femur	Distal Tibia	Medial Malleolus	Lateral Malleolus	Talus
CT	FP/FT joint					
	1 (4-5 MOG)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
	2 (6-7 MOG)	0 (0;2)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
	3 (8-9 MOG)	2 (2;3)	1 (0;2)	0 (0;2)	0.5 (0;1)	1 (1;2)
	4 (foals ≤ 3WPP)	2.5 (2;3)	1 (1;1)	1 (0;3)	1 (1;1)	1 (1;1)
MRI	FP/FT joint					
	1 (4-5 MOG)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
	2 (6-7 MOG)	0 (0;3)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
	3 (8-9 MOG)	2 (2;3)	1 (0;1)	0 (0;2)	0.5 (0;1)	1 (1;2)
	4 (foals ≤ 3WPP)	2.5 (2;3)	1 (1;1)	1.5 (1;3)	1 (1;1)	1 (1;1)

Data is expressed as median grade (min;max)

CT: Computed tomography, MRI: Magnetic resonance imaging. FP/FT: Femoropatellar / Femorotibial joint, MOG: Months of gestation, WPP: Weeks Post-Partum

Table 5: Cartilage percentage measured on MRI at selected sites in the distal femur, tibia and talus in utero and post partum ranked according to a Freidman’s test.

Age groups	Femur	Tibia-talus
1 (4-5 MOG)	100% Cartilage	100% Cartilage
2 (6-7 MOG)	100% Cartilage	100% Cartilage
3 (8-9 MOG)	LTF 35.2 (23.0;100.0) a MTF 34.7 (19.8;56.8) b FG 28.9 (10.0;52.4) c	MM 100.0 (42.0;100.0) a
		DIRT(Cr) 100.0 (22.5;100.0) a
		DIRT(Cd) 100.0 (45.1;100.0) a
		LM 64.7 (18.8;100.0) ab
		LTT 25.5 (10.8;100.0) b
		MTT 18.8 (10.3;40.6) c
		DIRT(Ce) 11.7 (7.1;100.0) c
4 (foals ≤ 3WPP)	MTF 21.2 (18.5;23.5) a LTF 20.9 (10.9;21.3) ab FG 12.9 (8.7;15.0) b	MM 42.6 (38.3;65.7) a
		DIRT(Cr) 26.7 (22.6;38.9) a
		DIRT(Cd) 25.0 (13;8;40.6) a
		LM 15.4 (0.0;21.2) b
		LTT 12.2 (6.8;13.0) b
		MTT 8.1 (4.5;10.8) b
		DIRT(Ce) 7.6 (6.9;8.5) b

Data is expressed as site, median percentage, (min;max)x. For a given group within a joint, medians represented by different x values are significantly different.

MOG: Months of gestation, WPP: Weeks Post-Partum

LTF: lateral trochlear ridge of the femur, MTF: medial trochlear ridge of the femur, FG: femoral inter-trochlear groove, LTT: lateral trochlear ridge of the talus, MTT: medial trochlear ridge of the talus, MM: medial malleolus of the distal tibia, LM: lateral malleolus of the distal tibia, DIRT(Cr): cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia, DIRT(Ce): central part of the distal intermediate ridge of the tibia, DIRT(Cd): caudal part of the distal intermediate ridge of the tibia.

Figure legends

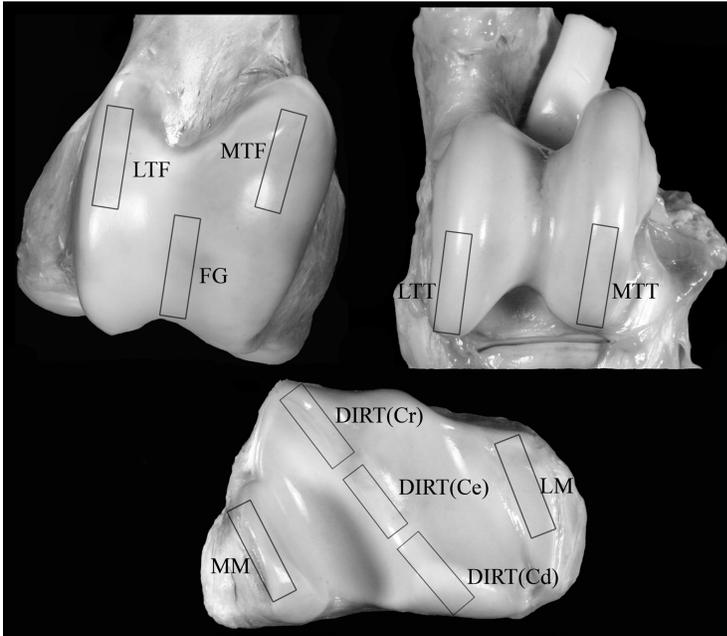


Fig.1.

Bones and sites studied: LTF: lateral trochlear ridge of the femur, MTF: medial trochlear ridge of the femur, FG: femoral inter-trochlear groove, LTT: lateral trochlear ridge of the talus, MTT: medial trochlear ridge of the talus; MM: medial malleolus of the distal tibia, LM: lateral malleolus of the distal tibia, DIRT(Cr): cranial part of the distal intermediate ridge of the tibia, DIRT(Ce): central part of the distal intermediate ridge of the tibia, DIRT(Cd): caudal part of the distal intermediate ridge of the tibia.

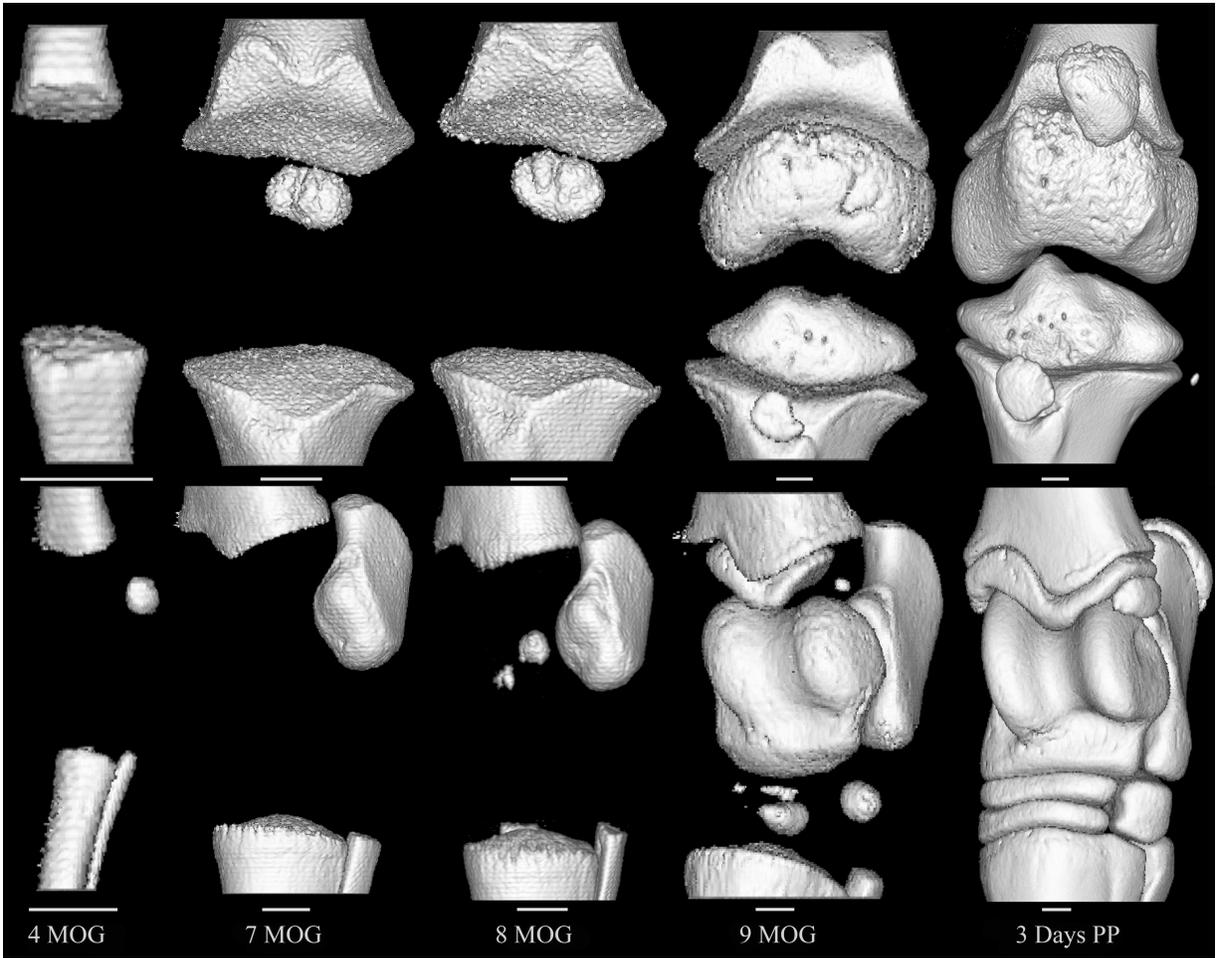


Fig. 2.

3Dimensions Computed Tomography reformatted images of the distal femur (upper row), distal tibia and talus (Lower row) illustrating the evolution of endochondral ossification of the secondary ossification centers in specimens of all age groups. The white bars represent 1cm

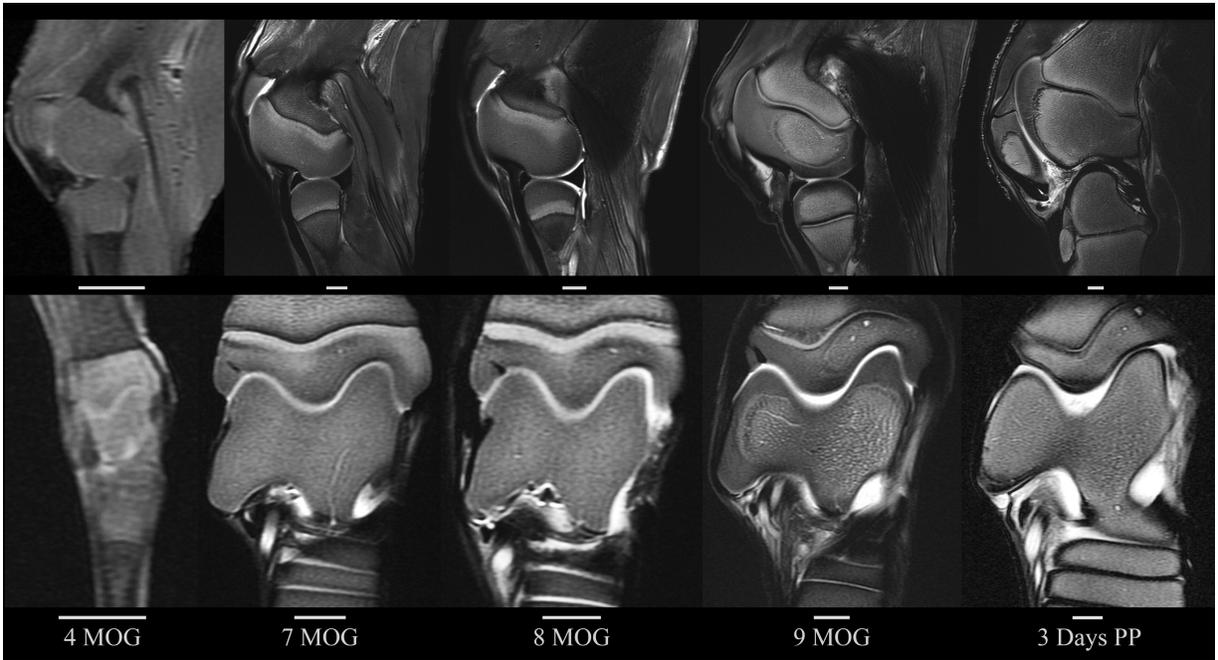


Fig.3.

Sagittal T2 Weighted MRI (Magnetic Resonance Imaging) images of the distal femoral epiphysis (upper row) and dorsal T2 Weighted MRI images of the distal tibia and tarsus (lower row) of specimens of all age groups representing epiphyseal development. The white bars represent 1cm

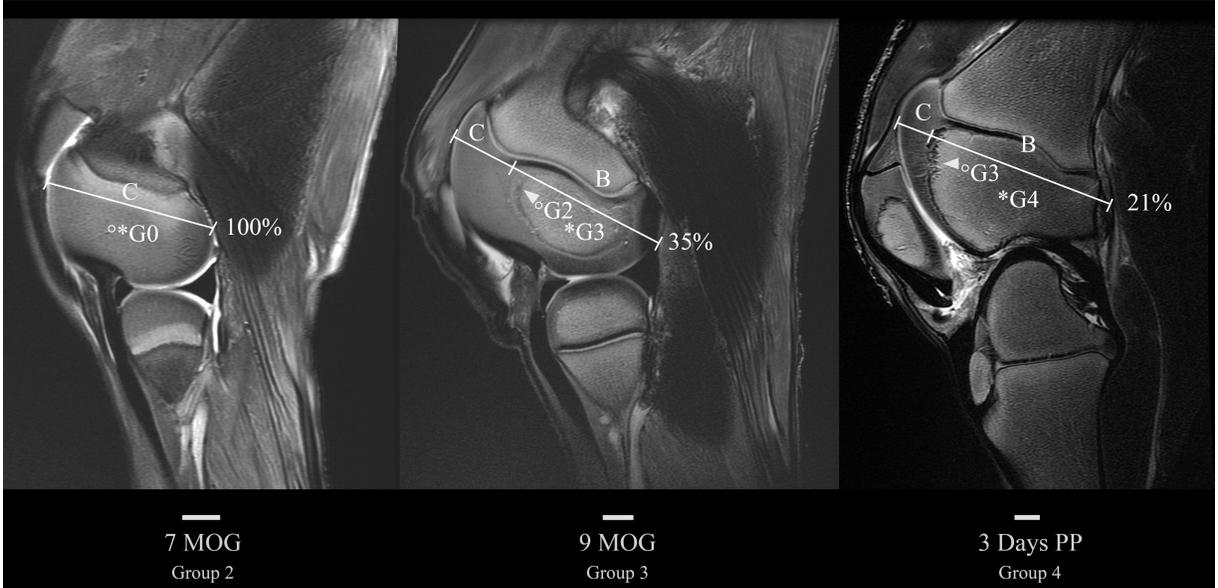


Fig.4.

Sagittal T2 Weighted Magnetic Resonance Imaging images of the distal femoral epiphysis of specimens from groups 2-4. Cartilage percentage was calculated as $C/(C+B)$. Regularity grade of the ossification front and corresponding area indicated by an arrowhead: °G. Ossification grade of the distal femoral secondary ossification center: *G.

The white bars represent 1cm

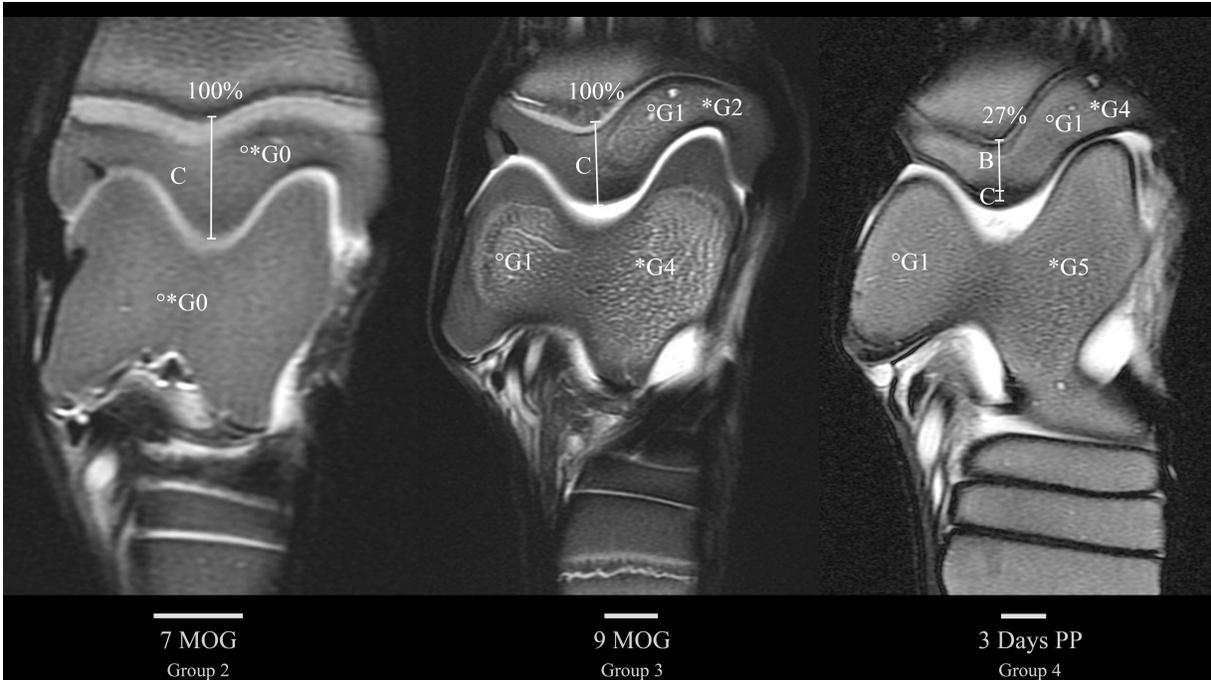


Fig.5.

Dorsal T2 Weighted Magnetic Resonance Imaging images of the distal tibial epiphysis and talus of specimens from groups 2-4. Cartilage percentage was calculated as $C/(C+B)$. Regularity grade of the ossification front: °G. Ossification grade of the distal femoral secondary ossification center: *G. The white bars represent 1cm

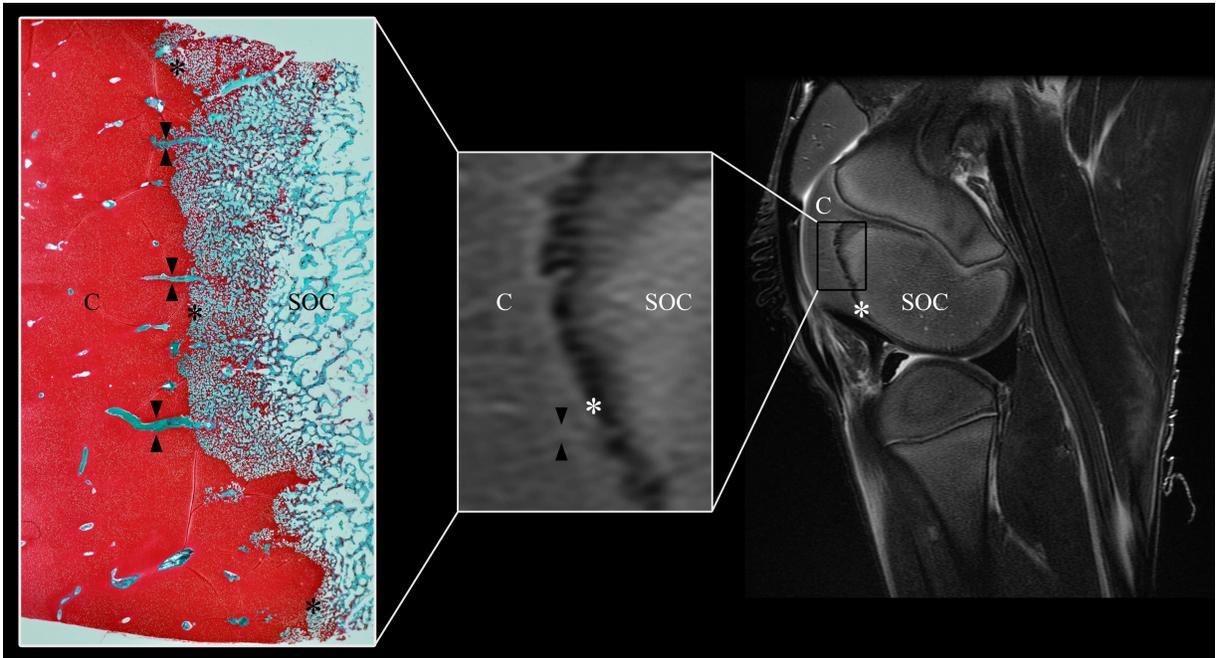


Fig.6.

MRI and histology images revealing irregularity of the ossification front.

Sagittal T2 weighted magnetic resonance images of the distal femoral epiphysis of a specimen from group 4 showing the irregularity of the ossification front of the secondary ossification center (right image). Central rectangle magnifies the site of irregularity. The safranin O stained histological section (left) is from the corresponding site on the lateral trochlear ridge of the same specimen. The irregularity of the ossification front is due to the presence of cartilage indentations. No cartilage matrix alterations compatible with early osteochondrosis were visible in the cartilage indentations.

SOC: secondary ossification center, C: articular-epiphyseal cartilage complex, *: ossification front of the SOC of the distal femur, arrowheads: cartilage canal entering the ossification front of the SOC of the distal femur.

Chapitre 3 : Discussion

Le présent projet nous a permis d'étudier le développement épiphysaire équin au niveau de l'articulation fémorotibiale et tibiotarsienne de sujets variant de 5 mois de gestation à 3 semaines d'âge. L'IRM et le CT, des modalités d'imagerie qui n'avaient jamais été utilisées à ces fins auparavant, ont su fournir un regard novateur sur le développement du membre pelvien fœtal et néonatal équin, avec un intérêt particulier porté aux sites communs d'OCD. Le protocole mis sur pied a pu exploiter les avantages de ces deux modalités afin de décrire subjectivement le processus d'ossification épiphysaire, semi-quantitativement le grade d'ossification de ces épiphyses, la régularité de leur front d'ossification et le pourcentage de cartilage à divers sites prédéterminés.

Les images de CT, multi-planaires et reformatages 3D, illustrent bien l'ossification progressive des centres secondaires d'ossification. Elles révèlent également que les aspects crânioproximaux des trochlées fémorales, l'aspect crâniomedial de la MM et l'aspect dorsodistal de la DIRT(Cr) sont les dernières parties à s'ossifier. Ces observations suggèrent que la majorité des sites communs d'OCD, étudiés chez des poulains néonataux, s'ossifient plus tard ou encore conservent un cartilage plus épais plus longtemps. Une exception digne de mention étant la DIRT(Cd), qui s'est également ossifiée tardivement, mais qui ne compte pas parmi les sites communs d'OCD. Cela supporte une théorie voulant que des facteurs additionnels, tel que les traumatismes potentiellement liés à la morphologie articulaire, puissent contribuer à l'expression phénotypique de la maladie. Ainsi, un cartilage plus épais causé par un développement plus tardif ne serait pas le seul facteur impliqué dans le développement de lésions. Comme escompté, une bonne concordance a été observée entre la description

qualitative du patron d'ossification de l'épiphyse, son grade d'ossification et les pourcentages de cartilage obtenus des images de résonance magnétique.

Les centres secondaires d'ossification des épiphyses du fémur distal, du tibia distal et du talus ont pu être observés pour la première fois entre 7 et 8 mois de gestation. Cela indique que les événements moléculaires déclenchant ce processus sont similaires pour cette partie du membre pelvien équin. La séquence d'ossification identifiée dans le présent ouvrage correspond également à celle issue de travaux précurseurs quant à l'articulation tarsocrurale chez le fœtus équin (Soana, Gnudi et al. 1998, Olstad, Ytrehus et al. 2007) et le membre pelvien du poulain (Brown and MacCallum 1975, Firth and Greydanus 1987). Nous avons d'ailleurs recueilli des données sur l'ossification de tous les os présents dans l'articulation fémorotibiale ainsi que tarsocrurale dans le but de produire un atlas d'ossification. L'apparition des centres secondaires d'ossification a déjà été caractérisée chez quelques autres espèces. Similairement à ce qui a été observé lors de cette étude, l'épiphyse fémorale distale porcine apparaît lors du second tiers de gestation (Connolly, Jaramillo et al. 2004). L'épiphyse fémorale distale du lapin, quant à elle, se développe plus tardivement. Elle n'est observable qu'à partir du 28^e jour sur 30 de la gestation, alors que l'épiphyse tibiale distale apparaît au 4^e jour postpartum (Rivas and Shapiro 2002), soulignant d'intéressantes différences développementales entre les diverses espèces. Le moment de développement de l'épiphyse pourrait éventuellement être considéré comme un facteur parmi tant d'autres lors d'une étude multi-espèces sur la pathogénie de l'OCD.

Selon les résultats de la présente étude, l'OCD, caractérisée par un défaut focal d'ossification endochondrale (Rejno and Stromberg 1978), ne pourrait débiter qu'après 7 mois de gestation, alors que l'ossification débute au niveau des centres secondaires

d'ossification, et ce, si la maladie peut se produire chez le fœtus tel que précédemment proposé (Sandgren, Dalin et al. 1993, Carlsten, Sandgren et al. 1993a, Lecocq, Girard et al. 2008, Ekman, Carlson et al. 2009). Il ne peut toutefois être exclu qu'un évènement précoce au niveau moléculaire de la matrice cartilagineuse de l'épiphyse ouvre la voie au développement éventuel de lésions.

Les lèvres trochléaires du fémur distal sont des sites prédisposés à développer de l'OCD (Foland, McIlwraith et al. 1992, Dik, Enzerink et al. 1999, van Weeren and Barneveld 1999, Robert, Valette et al. 2006, Lepeule, Bareille et al. 2008, Oliver, Baird et al. 2008, Van Grevenhof, Ducro et al. 2009), de manière plus commune au niveau de la lèvre trochléaire latérale (Dik, Enzerink et al. 1999, van Weeren and Barneveld 1999, Bourzac, Alexander et al. 2009). Le centre secondaire d'ossification du fémur distal n'a pas atteint le cartilage de croissance des lèvres trochléaires, et ce, jusqu'à la 3^e semaine *postpartum*. Les résultats de cette étude ont révélé qu'à 7-10 mois de gestation, le cartilage de la lèvre latérale de la trochlée fémorale était plus épais que celui de la lèvre médiale. En revanche, lors de la période néonatale, aucune différence n'a pu être observée entre ces 2 sites alors qu'ils étaient tous deux plus épais que le sillon intertrochléaire. Bien que nos trouvailles au sujet d'une maturation retardée au niveau des deux lèvres trochléaires du fémur concordent avec celles de différents investigateurs (Firth and Greydanus 1987, Lecocq, Girard et al. 2008, Olstad, Ytrehus et al. 2008c), une épaisseur de cartilage supérieure au niveau de la lèvre médiale de la trochlée fémorale distale par rapport à la lèvre latérale a déjà été rapportée (Firth and Greydanus 1987). Les différences entre ces résultats peuvent être attribuées aux méthodes de mesures, à la différente taille d'échantillon ainsi qu'à la distribution d'âge des spécimens. En effet, l'étude précédemment mentionnée a analysé des spécimens d'âge allant jusqu'à 150

jours *postpartum*, alors que les plus vieux spécimens de la présente étude étaient âgés de 3 semaines *postpartum*. Il faut également souligner que, lors de l'établissement du présent projet, des analyses statistiques ont été incluses afin de traiter les données; en conséquence, une différence n'était mentionnée que lorsqu'elle était significative. Les études auxquelles nous avons comparé nos données ne présentaient pas de telles analyses, et les données brutes, principalement l'épaisseur de cartilage à différents sites d'intérêt, sont simplement présentées et directement comparées. Dans certains cas, nos médianes de pourcentage de cartilage vont dans le même sens que les résultats des quelques études ayant effectué le même type de mesures; par contre, suite aux analyses statistiques, les différences n'étant pas significatives, il nous était impossible de tirer des conclusions quant à certains sites précis. Cela peut donc également expliquer certaines différences entre notre étude et les précédentes.

La partie crâniale de la crête intermédiaire du tibia distal, la malléole médiale, et la lèvre latérale de la trochlée du talus sont les sites présentant le plus fréquemment des lésions d'OCD au niveau de l'articulation tarsocrurale (Hoppe 1984, Alvarado, Marcoux et al. 1989, Schougaard, Falk Ronne et al. 1990, McIlwraith, Foerner et al. 1991, Philipsson, Andréasson et al. 1993, Sandgren, Dalin et al. 1993, Sandgren, Dalin et al. 1993c, Dik, Enzerink et al. 1999, Valentino, Lillich et al. 1999, Robert, Valette et al. 2006, Wittwer, Hamann et al. 2006, Lepeule, Bareille et al. 2008, Lepeule, Bareille et al. 2009, Relave, Meulyzer et al. 2009). Le patron ainsi que le grade d'ossification, couplés avec les mesures de pourcentages de cartilage au niveau du tibia distal et du talus, ont révélé la progression variable de l'ossification à différents sites. Au niveau du tibia, en période néonatale, l'évolution des pourcentages de cartilage allait comme suit: MM (42%), DIRT(Cr) (27%), DIRT(Cd) (25%), LM (15%) et

DIRT(Ce) (8%); alors qu'au niveau du talus: LTT (12%) et MTT (8%). La persistance d'un pourcentage de cartilage plus important traduit une immaturité ou un processus d'ossification tardif. Abondant dans le même sens que le présent projet, des études phares avaient également identifié la partie crâniale de la crête intermédiaire du tibia distal (Firth and Greydanus 1987, Olstad, Ytrehus et al. 2007, Olstad, Ytrehus et al. 2008a) ainsi que la partie caudale de la crête intermédiaire du tibia distal (Firth and Greydanus 1987, Olstad, Ytrehus et al. 2008a) comme étant deux des structures les plus cartilagineuses du tibia distal chez le poulain nouveau-né. La malléole médiale (Olstad, Ytrehus et al. 2008a) et la lèvre latérale de la trochlée du talus (Firth and Greydanus 1987, Olstad, Ytrehus et al. 2008a) ont été rapportées comme demeurant plus cartilagineuses pour une période prolongée. Par contre, comme mentionné précédemment, le fait que l'OCD n'affecte pas la partie caudale de la crête intermédiaire du tibia distal ou la lèvre médiale de la trochlée du talus renforce l'idée que la présence d'un cartilage de croissance plus épais ne peut être le seul facteur dans la pathogénèse des lésions. La combinaison des résultats du présent projet et des études l'ayant précédé révèle que les sites prédisposés à l'OCD du fémur distal, du tibia distal et du talus ont une maturation retardée, causant la persistance d'un cartilage plus épais lors de la période néonatale.

Il est reconnu depuis un certain temps qu'un cartilage plus épais ou immature est déformé de manière plus importante lors de compression qu'un cartilage plus mince ou plus mature. (Kempson 1973, Klein, Chaudhry et al. 2007). Cette plus grande susceptibilité aux forces compressives potentiellement dommageables d'un cartilage immature et plus épais a déjà été proposée comme faisant partie des facteurs menant au développement de lésions d'OCD : la déformation pourrait causer des dommages aux canaux de cartilage ainsi qu'aux vaisseaux contenus dans le cartilage de croissance (Lewis 1986, Pool 1986). L'augmentation

soudaine de charge et forces compressives sur cet épais cartilage lors des premiers jours *postpartum* pourrait prédisposer à la formation de lésions d'OCD, comme cela a déjà été suggéré (Grondalen 1974, Firth and Greydanus 1987).

Des irrégularités du front d'ossification n'ont été observées qu'au niveau de l'épiphyse fémorale distale au cours de la présente étude. Au cours d'un projet précurseur issu de notre laboratoire, 41% des échantillons provenant de différentes articulations de membres thoraciques et pelviens de fœtus équins portaient des évidences histologiques de microscopiques indentations digitées de cartilage dans le front d'ossification (Lecocq, Girard et al. 2008). La majorité de ces indentations étaient associées à des canaux de cartilage malgré le fait que ces canaux étaient également présents à certains sites où il n'y avait aucune évidence d'indentation (Lecocq, Girard et al. 2008). Des irrégularités du front d'ossification de l'épiphyse fémorale distale détectées lors d'études radiographiques chez des poulains de moins de 11 semaines d'âge ont déjà été rapportées (Adams and Thilsted 1985). Ces irrégularités sont maintenant reconnues comme faisant partie d'un processus physiologique (Lecocq, Girard et al. 2008). Il a été suggéré que les canaux de cartilage et les vaisseaux associés étaient plus susceptibles à des perturbations au niveau de l'interface cartilage-os (Olstad, Ytrehus et al. 2007, Olstad, Ytrehus et al. 2008a, Olstad, Cnudde et al. 2008b, Olstad, Ytrehus et al. 2011) en raison des différentes propriétés biomécaniques de ces deux zones. Une interface cartilage-os irrégulière couplée avec l'exercice et la mise en charge pourraient, au niveau fémoral, prédisposer à des dommages à la matrice extracellulaire cartilagineuse ou aux canaux de cartilage dans ces régions d'indentation de l'os, menant ainsi à de la nécrose cartilagineuse (Lecocq, Girard et al. 2008, Olstad, Ytrehus et al. 2008a, Olstad, Cnudde et al. 2008b, Olstad, Ytrehus et al. 2011). Lecocq et al. ont rapporté des anomalies histologiques de la

matrice extracellulaire plus fréquentes au niveau de ces indentations du front d'ossification (Lecocq, Girard et al. 2008).

La jonction ostéochondrale de jeunes humains est reconnue comme à risque de fracture suite à une mise en charge significativement moins importante que celle des adultes lorsque soumise à une contrainte de cisaillement (Flachsmann, Broom et al. 2000). Des changements structuraux au niveau de ces sites lors de la maturation en seraient responsables. Ces changements au niveau cellulaire impliquent un plus grand volume de cellules de différentes tailles et orientations, combiné avec une matrice moins résistante; ce qui peut avoir un effet majeur sur les propriétés mécaniques du cartilage immature (Klein, Chaudhry et al. 2007). L'hypertrophie des chondrocytes et la protéolyse de la matrice de collagène sont des aspects caractéristiques de l'ossification endochondrale du cartilage de croissance (Poole, Lavery et al. 2000). Une faiblesse au niveau de la structure de la partie sub-articulaire pourrait prédisposer à des lésions traumatiques ayant entre autres des effets sur les canaux de cartilage à cette interface et sur le développement subséquent d'OCD. Lecoq et al. avaient identifié des changements substantiels dans la structure du collagène, passant de très dense à composé de fibrilles très minces, et ce, entre la zone proliférative et hypertrophique du cartilage de croissance sub-articulaire équin, traduisant des changements cellulaires à ce niveau (Lecoq, Girard et al. 2008). De plus, cette même étude a rapporté une augmentation du diamètre moyen des canaux de cartilage dans les zones profondes de cartilage ainsi qu'une augmentation de ce diamètre au cours de la maturation, ce qui pourrait jouer un rôle dans la susceptibilité de ces sites aux traumatismes (Lecoq, Girard et al. 2008). L'utilisation d'un micro-CT aurait pu nous fournir plus d'information sur le front d'ossification, les canaux de cartilage et ses structures vasculaires; malheureusement, ce type de technologie ne permet pas

l'acquisition d'une séquence couvrant toute l'épiphyse en raison de la taille de l'ouverture, qui ne peut accommoder que de très petits échantillons. Cela aurait nécessité la découpe de nos épiphyses en petits échantillons.

Au cours de la présente étude, des irrégularités compatibles avec une lésion précoce d'OCD ont pu être observées sur les images d'IRM et CT d'un spécimen au niveau de la malléole médiale du tibia. L'évaluation histologique de cette lésion n'a pas été réalisée en raison de contraintes de temps. En conséquence, un diagnostic définitif ne peut être confirmé ou infirmé. Il est fort possible que les lésions d'OCD débutent chez le fœtus. Afin de parvenir à le détecter de manière appropriée, il sera nécessaire d'étudier des groupes d'individus génétiquement prédisposés à la maladie, augmentant ainsi les chances de voir se développer des lésions, comme cela a été suggéré par plusieurs auteurs (Olstad, Ytrehus et al. 2008a, Olstad, Cnudde et al. 2008b, Olstad, Ytrehus et al. 2008c, Olstad, Ytrehus et al. 2009). Il serait particulièrement intéressant de pouvoir imager des fœtus d'une telle population *in vivo* et suivre leur développement dans le temps, de façon à ainsi être témoin des différents changements menant à la manifestation ou à la guérison d'une lésion d'OCD. Il va sans dire qu'une telle étude, du moins pour la partie *in utero*, est encore impossible avec les technologies présentement disponibles.

Malgré tous les efforts déployés pour mettre sur pied un solide protocole expérimental, la présente étude comporte plusieurs limitations. Premièrement, l'évaluation subjective du processus d'ossification pourrait avoir failli à identifier de manière précise les différences subtiles quant à l'ossification des sites communs d'OCD et sites contrôles, ce qui pourrait expliquer des différences mineures entre les résultats des grades d'ossification, l'évaluation

semi-quantitative, et l'évaluation subjective du processus d'ossification. Deuxièmement, étant donné une disponibilité limitée des spécimens, un faible nombre de sujets ont pu être inclus dans l'étude, résultant en une puissance statistique parfois diminuée par rapport à ce qu'un plus important échantillon aurait pu procurer. Troisièmement, une combinaison de la variation de la forme épiphysaire, de l'épaisseur de tranche des images de résonance magnétique, ainsi que de l'intervalle d'espacement auquel les images ont été échantillonnées, pourrait avoir causé un certain degré de variation quant à l'identification des sites où les mesures d'épaisseur de cartilage ont été réalisées. En effet, il est possible que les tranches sur lesquelles les pourcentages de cartilage ont été calculés ne soient pas exactement représentatives du même endroit en raison de l'espacement de 3mm entre les tranches de coupes à l'IRM. L'épaisseur de cartilage a été exprimée en pourcentage du diamètre de l'épiphyse dans le même plan que la mesure d'épaisseur de cartilage elle-même, dans le but de véhiculer une idée représentative de la quantité de cartilage par rapport à la masse osseuse de l'épiphyse. En terme de technique, plusieurs variations auraient pu être réalisées. Une mesure directe de l'épaisseur de cartilage aurait probablement mieux servi notre but puisque selon le site, l'épaisseur d'os adjacent au cartilage mesuré, était hautement variable. De plus, que ce soit une mesure directe ou un pourcentage, il aurait pu être utile de mesurer une moyenne sur la zone d'intérêt plutôt qu'une seule mesure ponctuelle. Dans cet ordre d'idée, une mesure de volume de cartilage plutôt qu'une mesure linéaire aurait pu être utile. Autant pour une moyenne de mesure linéaire que pour un volume, le problème demeure de définir les limites de la zone à mesurer et de demeurer constant entre les spécimens, qui eux-mêmes ont une forme hautement variable en fonction de leur stade de développement. Une fois de plus, l'espacement entre les tranches de coupes représenterait une limitation considérable. Indépendamment de la technique de mesure

du cartilage, obtenir des mesures de différents observateurs et procéder à un test d'agrément pourrait s'avérer bénéfique.

Conclusion

En conclusion, la présente étude confirme et complète les trouvailles générées par des travaux connexes en avançant que l'épaisseur de cartilage est plus importante aux sites prédisposés à l'OCD au cours du développement épiphysaire du fémur distal, du tibia distal et du talus chez le fœtus et le jeune poulain. Nos résultats soulèvent également le fait que l'épaisseur du cartilage ne peut être le seul facteur impliqué dans la pathogénie de l'OCD. En effet, certains sites où la maladie n'a jamais été observée comptent également parmi les sites ayant la plus grande épaisseur de cartilage. Le CT et l'IRM ont pu illustrer le patron tridimensionnel de progression de l'ossification endochondrale épiphysaire au niveau du fémur distal, du tibia distal et du talus. Ces modalités ont pu fournir ce qui pourra désormais être considéré comme un point de référence quant au développement articulaire chez le fœtus équin et le jeune poulain. Une étude similaire incluant des analyses histologiques et une attention particulière à l'interface cartilage-os sur une population plus étendue et génétiquement prédisposée à la formation de lésions pourrait aider à l'avancement du savoir quant à la pathogénie de cette importante maladie.

Bibliographie

- Adams, M. W. and P. J. Thilsted (1985). "Radiographic appearance of the equine stifle from birth to 6 months." Vet Radiol Ultrasound **26**(4): 126-132.
- Adams, R. and P. Poulos (1988). "A SKELETAL OSSIFICATION INDEX FOR NEONATAL FOALS." Veterinary Radiology **29**(5): 217-222.
- Alvarado, A. F., M. Marcoux and L. Breton (1989). "The Incidence of Osteochondrosis in a Standardbred Breeding Farm in Quebec." Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners **35**: 293-307.
- Alvarez, J., L. Costales, R. Serra, M. Balbin and J. M. Lopez (2005). "Expression patterns of matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factor during epiphyseal ossification." J Bone Miner Res **20**(6): 1011-1021.
- Armbrust, L. J. (2007). Digital Images and Digital Radiographic Image Capture. Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology. D. E. Thrall. St-Louis, Saunders Elsevier: 22-37.
- Audigie, F., D. Didierlaurent, V. Coudry, S. Jacquet and J. M. Denoix (2009). MRI of the musculoskeletal system of horses: status and prospects. 35eme Journee de la Recherche Equine, jeudi 26 fevrier 2009, Paris, France, Les Haras Nationaux Direction du Developpement: 195-205.
- Babyn, P. S., H. K. Kim, C. Lemaire, H. K. Gahunia, A. Cross, J. DeNanassy and K. P. Pritzker (1996). "High-resolution magnetic resonance imaging of normal porcine cartilaginous epiphyseal maturation." J Magn Reson Imaging **6**(1): 172-179.
- Ballock, R. T. and R. J. O'Keefe (2003). "Physiology and pathophysiology of the growth plate." Birth Defects Res C Embryo Today **69**(2): 123-143.
- Banks, W., A. Kemler, H. Guttridge and W. Kirkham (1969). "Radiography of the tuber calcis and its use in Thoroughbred training." Proceedings of the nineteenth annual convention of the American Association of Equine Practitioners **15**: 209-217.
- Banks, W. J. (1993). Osteogenesis. Applied Veterinary Histology. R. W. Reinhardt. St. Louis, MO, USA, Mosby-Year Book: 127-141.
- Banks, W. J. (1993a). Supportive Tissue - Cartilage. Applied Veterinary Histology. R. W. Reinhardt. St. Louis, Mosby-Year Book. **3**: 96-106.
- Banks, W. J. (1993c). Musculoskeletal System. Applied Veterinary Histology. R. W. Reinhardt. St. Louis, Mosby-Year Book. **3**: 210-231.
- Barneveld, A. and P. R. van Weeren (1999a). "Conclusions regarding the influence of exercise on the development of the equine musculoskeletal system with special reference to osteochondrosis. (Osteochondrosis and musculoskeletal development in the foal under the influence of exercise)." Equine Vet J Suppl **31**(0425-1644): 112-119.
- Billinghurst, R. C., P. A. Brama, P. R. van Weeren, M. S. Knowlton and C. W. McIlwraith (2004). "Evaluation of serum concentrations of biomarkers of skeletal metabolism and results of radiography as indicators of severity of osteochondrosis in foals." Am J Vet Res **65**(2): 143-150.

- Blumer, M. J., S. Longato and H. Fritsch (2004). "Cartilage canals in the chicken embryo are involved in the process of endochondral bone formation within the epiphyseal growth plate." The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology **279**(1): 692-700.
- Blumer, M. J., S. Longato and H. Fritsch (2008). "Structure, formation and role of cartilage canals in the developing bone." Ann Anat **190**(4): 305-315.
- Blumer, M. J., C. Schwarzer, M. T. Perez, K. Z. Konakci and H. Fritsch (2006). "Identification and location of bone-forming cells within cartilage canals on their course into the secondary ossification centre." J Anat **208**(6): 695-707.
- Bourzac, C., K. Alexander, Y. Rossier and S. Laverty (2009). "Comparison of radiography and ultrasonography for the diagnosis of osteochondritis dissecans in the equine femoropatellar joint." Equine Vet J **41**(7): 685-692.
- Brama, P. A. J., E. C. Firth, P. R. v. Weeren, J. Tuukkanen, J. Holopainen, H. J. Helminen and M. M. Hyttinen (2009a). "Influence of intensity and changes of physical activity on bone mineral density of immature equine subchondral bone." Equine Veterinary Journal **41**(6): 564-571.
- Brama, P. A. J., J. Holopainen, P. R. v. Weeren, E. C. Firth, H. J. Helminen and M. M. Hyttinen (2009b). "Influence of exercise and joint topography on depth-related spatial distribution of proteoglycan and collagen content in immature equine articular cartilage." Equine Veterinary Journal **41**(6): 557-563.
- Brama, P. A. J., J. M. Tekoppele, R. A. Bank, P. R. v. Weeren and A. Barneveld (1999). "Influence of different exercise levels and age on the biochemical characteristics of immature equine articular cartilage. (Osteochondrosis and musculoskeletal development in the foal under the influence of exercise)." Equine Veterinary Journal **Suppl.31**: 55-61.
- Bridges, C. H. and E. D. Harris (1988). "Experimentally induced cartilaginous fractures (osteochondritis dissecans) in foals fed low-copper diets." J Am Vet Med Assoc **193**(2): 215-221.
- Brommer, H., P. A. Brama, M. S. Laasanen, H. J. Helminen, P. R. van Weeren and J. S. Jurvelin (2005). "Functional adaptation of articular cartilage from birth to maturity under the influence of loading: a biomechanical analysis." Equine Vet J **37**(2): 148-154.
- Brown, M. P. and F. J. MacCallum (1975). "A system of grading ossification in limbs of foals to assist in radiologic interpretation." Am J Vet Res **36**(5): 655-661.
- Bushberg, J. T., J. A. Seibert, E. M. J. Leidholdt and J. M. Boone (2002). The Essential Physics of Medical Imaging. Philadelphia.
- Carlson, C. S., L. D. Cullins and D. J. Meuten (1995). "Osteochondrosis of the articular-epiphyseal cartilage complex in young horses: evidence for a defect in cartilage canal blood supply." Vet Pathol **32**(6): 641-647.
- Carlson, C. S. and S. E. Weisbrode (2012). Bone, Joints, Tendons, and Ligaments. Pathologic Basis of Veterinary Disease. M. D. McGavin and J. F. Zachary. St.Louis, MO, USA, Elsevier Mosby. **1**: 920-971.
- Carlsten, J., B. Sandgren and G. Dalin (1993a). "Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. I. A radiological survey." Equine Veterinary Journal **25**(S16): 42-47.

- Cnudde, V., B. Masschaele, H. E. De Cock, K. Olstad, L. Vlamminck, J. Vlassenbroeck, M. Dierick, Y. D. Witte, L. Van Hoorebeke and P. Jacobs (2008). "Virtual histology by means of high-resolution X-ray CT." *J Microsc* **232**(3): 476-485.
- Connolly, S. A., D. Jaramillo, J. K. Hong and F. Shapiro (2004). "Skeletal development in fetal pig specimens: MR imaging of femur with histologic comparison." *Radiology* **233**(2): 505-514.
- Cook, C. R. and J. L. Cook (2009). "Diagnostic imaging of canine elbow dysplasia: a review." *Vet Surg* **38**(2): 144-153.
- Crijns, C. P., I. M. Gielen, H. J. van Bree and E. H. Bergman (2010). "The use of CT and CT arthrography in diagnosing equine stifle injury in a Rheinlander gelding." *Equine Vet J* **42**(4): 367-371.
- Dardzinski, B. J., T. Laor, V. J. Schmithorst, L. Klosterman and T. B. Graham (2002). "Mapping T2 relaxation time in the pediatric knee: feasibility with a clinical 1.5-T MR imaging system." *Radiology* **225**(1): 233-239.
- Dardzinski, B. J., T. J. Mosher, S. Li, M. A. Van Slyke and M. B. Smith (1997). "Spatial variation of T2 in human articular cartilage." *Radiology* **205**(2): 546-550.
- de Grauw, J. C., M. Donabedian, C. H. van de Lest, G. Perona, C. Robert, O. Lepage, W. Martin-Rosset and P. R. van Weeren (2011). "Assessment of synovial fluid biomarkers in healthy foals and in foals with tarsocrural osteochondrosis." *Vet J* **190**(3): 390-395.
- De Smet, A. A., D. R. Fisher, B. K. Graf and R. H. Lange (1990). "Osteochondritis dissecans of the knee: value of MR imaging in determining lesion stability and the presence of articular cartilage defects." *AJR Am J Roentgenol* **155**(3): 549-553.
- Deckers, M. M., E. R. Van Beek, G. Van Der Pluijm, A. Wetterwald, L. Van Der Wee-Pals, M. G. Cecchini, S. E. Papapoulos and C. W. Lowik (2002). "Dissociation of angiogenesis and osteoclastogenesis during endochondral bone formation in neonatal mice." *J Bone Miner Res* **17**(6): 998-1007.
- Dik, K. J., E. Enzerink and P. R. v. Weeren (1999). "Radiographic development of osteochondral abnormalities, in the hock and stifle of Dutch Warmblood foals, from age 1 to 11 months. (Osteochondrosis and musculoskeletal development in the foal under the influence of exercise)." *Equine Vet J Suppl* **31**: 9-15.
- Donabédian, M., G. Fleurance, G. Perona, C. Robert, O. Lepage, C. Trillaud-Geyl, S. Leger, A. Ricard, D. Bergero and W. Martin-Rosset (2006). "Effect of fast vs. moderate growth rate related to nutrient intake on developmental orthopaedic disease in the horse." *Anim. Res.* **55**(5): 471-486.
- Donabedian, M., P. R. van Weeren, G. Perona, G. Fleurance, C. Robert, S. Leger, D. Bergero, O. Lepage and W. Martin-Rosset (2008). "Early changes in biomarkers of skeletal metabolism and their association to the occurrence of osteochondrosis (OC) in the horse." *Equine Vet J* **40**(3): 253-259.
- Doschak, M. R., D. M. Cooper, C. N. Huculak, J. R. Matyas, D. A. Hart, B. Hallgrímsson, R. F. Zernicke and R. C. Bray (2003). "Angiogenesis in the distal femoral chondroepiphysis of the rabbit during development of the secondary centre of ossification." *Journal of Anatomy* **203**(2): 223-233.
- Dykgraaf, S., E. C. Firth, C. W. Rogers and C. E. Kawcak (2008). "Effects of exercise on chondrocyte viability and subchondral bone sclerosis in the distal third metacarpal and metatarsal bones of young horses." *Veterinary Journal* **178**(1): 53-61.

- Ekman, S., C. S. Carlson and P. R. van Weeren (2009). "Workshop report. Third International Workshop on Equine Osteochondrosis, Stockholm, 29-30th May 2008." Equine Vet J **41**(5): 504-507.
- Eurell, J. A. and D. C. V. Sickle (2006). Connective and Supportive Tissues. Textbook of Veterinary Histology. J. A. Eurell and B. L. Frappier. Ames, Blackwell Publishing: 31-60.
- Fawcett, D. W. (1994). Bone. A Textbook of Histology. D. W. Fawcett. New York, Chapman & Hall: 194-233.
- Firshman, A. M. and S. J. Valberg (2007). "Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses." Equine Vet J **39**(6): 567-575.
- Firth, E. C. and Y. Greydanus (1987). "Cartilage thickness measurement in foals." Res Vet Sci **42**(1): 35-46.
- Firth, E. C. and P. W. Poulos (1993). "Vascular characteristics of the cartilage and subchondral bone of the distal radial epiphysis of the young foal." N Z Vet J **41**(2): 73-77.
- Flachsmann, R., N. D. Broom, A. E. Hardy and G. Moltschaniwskyj (2000). "Why is the adolescent joint particularly susceptible to osteochondral shear fracture?" Clinical Orthopaedics and Related Research **381**: 212-221.
- Foland, J. W., C. W. McIlwraith and G. W. Trotter (1992). "Arthroscopic surgery for osteochondritis dissecans of the femoropatellar joint of the horse." Equine Vet J **24**(6): 419-423.
- French, J., N. Gingles, J. Stewart and N. Woodhouse (2010). "Use of magnetic resonance imaging (MRI) and micro-computed tomography (micro-CT) in the morphological examination of rat and rabbit fetuses from embryo-fetal development studies." Reproductive Toxicology **30**(2): 292-300.
- Garvican, E. R., A. Vaughan-Thomas, C. Redmond and P. D. Clegg (2008). "Chondrocytes harvested from osteochondritis dissecans cartilage are able to undergo limited in vitro chondrogenesis despite having perturbations of cell phenotype in vivo." J Orthop Res **26**(8): 1133-1140.
- Gee, E. K., E. C. Firth, P. C. Morel, P. F. Fennessy, N. D. Grace and T. D. Mogg (2005). "Articular / epiphyseal osteochondrosis in Thoroughbred foals at 5 months of age: influences of growth of the foal and prenatal copper supplementation of the dam." N Z Vet J **53**(6): 448-456.
- Gielen, I., H. van Bree, B. Van Ryssen, T. De Clercq and H. De Rooster (2002). "Radiographic, computed tomographic and arthroscopic findings in 23 dogs with osteochondrosis of the tarsocrural joint." Vet Rec **150**(14): 442-447.
- Gielen, I., B. van Ryssen and H. van Bree (2005). "Computerized tomography compared with radiography in the diagnosis of lateral trochlear ridge talar osteochondritis dissecans in dogs." Vet Comp Orthop Traumatol **18**(2): 77-82.
- Glade, M. J. and T. H. Belling (1986). "A dietary etiology for osteochondrotic cartilage." Journal of Equine Vet Sci **6**: 151-155.
- Glade, M. J., S. Gupta and T. J. Reimers (1984a). "Hormonal responses to high and low planes of nutrition in weanling thoroughbreds." J Anim Sci **59**(3): 658-665.
- Glade, M. J. and T. J. Reimers (1985). "Effects of dietary energy supply on serum thyroxine, tri-iodothyronine and insulin concentrations in young horses." J Endocrinol **104**(1): 93-98.

- Glyde, M., R. Doyle, H. McAllister, L. Campoy and J. J. Callanan (2004). "Magnetic resonance imaging in the diagnosis and surgical management of sacral osteochondrosis in a mastiff dog." Vet Rec **155**(3): 83-86.
- Grondahl, A. M. and N. I. Dolvik (1993). "Heritability estimations of osteochondrosis in the tibiotarsal joint and of bony fragments in the palmar/plantar portion of the metacarpo- and metatarsophalangeal joints of horses." J Am Vet Med Assoc **203**(1): 101-104.
- Grondalen, T. (1974). "Osteochondrosis and arthrosis in pigs. VII. Relationship to joint shape and exterior conformation." Acta Vet Scand Suppl **46**(0): 1-32.
- Henson, F. M. D., C. Davenport, L. Butler, I. Moran, W. D. Shingleton and L. B. Jeffcott (1997c). "Effects of insulin and insulin-related peptides on the growth of fetal equine chondrocytes." Equine Vet J **29**: 440-447.
- Hernandez-Vidal, G., L. B. Jeffcott and M. E. Davies (1998). "Immunolocalization of cathepsin B in equine dyschondroplastic articular cartilage." Veterinary Journal **156**(3): 193-201.
- Hoa, D., A. Micheau, G. Gahide, E. Le Bars and P. Taourel (2007). L'IRM pas à pas. Paris.
- Hoogen, B. M. v. d., C. H. A. v. d. Lest, P. R. v. Weeren, L. M. G. v. Golde and A. Barneveld (1999). "Effect of exercise on the proteoglycan metabolism of articular cartilage in growing foals. (Osteochondrosis and musculoskeletal development in the foal under the influence of exercise)." Equine Veterinary Journal Suppl.**31**: 62-66.
- Hoppe, F. (1984). "Radiological investigations of osteochondrosis dissecans in Standardbred Trotters and Swedish Warmblood horses." Equine Veterinary Journal **16**(5): 425-429.
- Hoppe, F. and J. Philipsson (1985). "A genetic study of osteochondrosis dissecans in Swedish horses." Equine Practice **7**(7): 7-15.
- Hurtig, M., S. Green, L., H. Dobson and J. Burton (1990). "Defective bone and cartilage in foals fed a low-copper diet." Scientific Proceedings 36th Congress American Association Of Equine Practitioners: 637-643.
- Hurtig, M., S. Green, L., H. Dobson, Y. Mikuni-Takagaki and J. Choi (1993). "Correlative study of defective cartilage and bone growth in foals fed a low-copper diet." Equine Vet J Suppl **16**: 66-73.
- Hurtig, M. B. and R. R. Pool (1996). Pathogenesis of equine osteochondrosis. Joint disease in the horse. C. W. McIlwraith and G. W. Trotter. Philadelphia, PA, USA, W.B. Saunders Company: 335-358.
- Jaramillo, D., S. A. Connolly, R. V. Mulkern and F. Shapiro (1998). "Developing epiphysis: MR imaging characteristics and histologic correlation in the newborn lamb." Radiology **207**(3): 637-645.
- Jaramillo, D., S. A. Connolly, S. Vajapeyam, R. L. Robertson, P. S. Dunning, R. V. Mulkern, A. Hayward, S. E. Maier and F. Shapiro (2003). "Normal and ischemic epiphysis of the femur: diffusion MR imaging study in piglets." Radiology **227**(3): 825-832.
- Jaramillo, D. and F. Shapiro (1998). "Growth cartilage: normal appearance, variants and abnormalities." Magn Reson Imaging Clin N Am **6**(3): 455-471.
- Jeffcott, L. B. (1991). "Osteochondrosis in the horse--searching for the key to pathogenesis." Equine Vet J **23**(5): 331-338.
- Jeffcott, L. B. and F. M. Henson (1998). "Studies on growth cartilage in the horse and their application to aetiopathogenesis of dyschondroplasia (osteochondrosis)." Vet J **156**(3): 177-192.

- Karaplis, A. C. (2008). Embryonic Development of Bone and Regulation of Intramembranous and Endochondral Bone Formation. Principles of Bone Biology. J. P. Bilezikian, L. G. Raisz and T. J. Martin. San Diego, Elsevier. **1**: 53-84.
- Kawcak, C. E., C. W. McIlwraith and E. C. Firth (2010). "Effects of early exercise on metacarpophalangeal joints in horses." Am J Vet Res **71**(4): 405-411.
- Kempson, G. E. (1973). Mechanical properties of articular cartilage. Adult Articular Cartilage. M. A. R. Freeman. London, England, UK, Pitman Medical: 171-227.
- Kippenes, H. and G. Johnston (1998). "Diagnostic imaging of osteochondrosis." Vet Clin North Am Small Anim Pract **28**(1): 137-160.
- Klein, T. J., M. Chaudhry, W. C. Bae and R. L. Sah (2007). "Depth-dependent biomechanical and biochemical properties of fetal, newborn, and tissue-engineered articular cartilage." J Biomech **40**(1): 182-190.
- Lampe, V., C. Dierks, K. Komm and O. Distl (2009a). "Identification of a new quantitative trait locus on equine chromosome 18 responsible for osteochondrosis in Hanoverian warmblood horses." J Anim Sci **87**(11): 3477-3481.
- Laor, T. and D. Jaramillo (2009). "MR imaging insights into skeletal maturation: what is normal?" Radiology **250**(1): 28-38.
- Lavery, S. and C. Girard (2013). "In Press: Pathogenesis of epiphyseal osteochondrosis." The Veterinary Journal
- Lavery, S., M. Ionescu, M. Marcoux, L. Boure, B. Doize and A. R. Poole (2000). "Alterations in cartilage type-II procollagen and aggrecan contents in synovial fluid in equine osteochondrosis." J Orthop Res **18**(3): 399-405.
- Lavery, S., S. Okouneff, M. Ionescu, A. Reiner, I. Pidoux, C. Webber, Y. Rossier, R. C. Billingham and A. R. Poole (2002). "Excessive degradation of type II collagen in articular cartilage in equine osteochondrosis." J Orthop Res **20**(6): 1282-1289.
- Lecocq, M., C. A. Girard, U. Fogarty, G. Beauchamp, H. Richard and S. Lavery (2008). "Cartilage matrix changes in the developing epiphysis: early events on the pathway to equine osteochondrosis?" Equine Vet J **40**(5): 442-454.
- Lepeule, J., N. Bareille, C. Robert, P. Ezanno, J. P. Valette, S. Jacquet, G. Blanchard, J. M. Denoix and H. Seegers (2009). "Association of growth, feeding practices and exercise conditions with the prevalence of Developmental Orthopaedic Disease in limbs of French foals at weaning." Prev Vet Med **89**(3-4): 167-177.
- Lepeule, J., N. Bareille, J. P. Valette, H. Seegers, S. Jacquet, J. M. Denoix and C. Robert (2008). "Developmental orthopaedic disease in limbs of foals: between-breed variations in the prevalence, location and severity at weaning." Animal : an International Journal of Animal Bioscience **2**(2): 284-291.
- Lewis, R. (1986). Incidence of developmental orthopedic lesions. AQHA Developmental Orthopedic Disease Symposium, Dallas, TX, USA.
- MacCallum, F. J., M. P. Brown and H. O. Goyal (1978). "An assessment of ossification and radiological interpretation in limbs of growing horses." Br Vet J **134**(4): 366-374.
- MacCallum, F. J., W. K. Latshaw and R. E. Kelly (1971). "Identification of postnatal ossification sites: a contribution to radiographic interpretation." Br Vet J **127**(2): 83-87.
- Mackie, E. J., Y. A. Ahmed, L. Tatarczuch, K. S. Chen and M. Mirams (2008). "Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton." Int J Biochem Cell Biol **40**(1): 46-62.

- Madry, H., C. N. van Dijk and M. Mueller-Gerbl (2010). "The basic science of the subchondral bone." Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc **18**(4): 419-433.
- Martinelli, M. J., G. J. Baker, R. B. Clarkson, J. C. Eurell, G. J. Pijanowski and I. V. Kuriashkin (1996). "Magnetic resonance imaging of degenerative joint disease in a horse: a comparison to other diagnostic techniques." Equine Vet J **28**(5): 410-415.
- McIlwraith, C. W., J. J. Foerner and D. M. Davis (1991). "Osteochondritis dissecans of the tarsocrural joint: results of treatment with arthroscopic surgery." Equine Vet J **23**(3): 155-162.
- McRobbie, D. W., E. A. Moore, M. J. Graves and M. R. Prince (2003). MRI from picture to proton, Cambridge University press.
- Mirams, M., L. Tatarczuch, Y. A. Ahmed, C. N. Pagel, L. B. Jeffcott, H. M. Davies and E. J. Mackie (2009). "Altered gene expression in early osteochondrosis lesions." J Orthop Res **27**(4): 452-457.
- Murray, R. C., M. V. Branch, C. Tranquille and S. Woods (2005). "Validation of magnetic resonance imaging for measurement of equine articular cartilage and subchondral bone thickness." Am J Vet Res **66**(11): 1999-2005.
- Murray, R. C., T. S. Mair, C. E. Sherlock and A. S. Blunden (2009). "Comparison of high-field and low-field magnetic resonance images of cadaver limbs of horses." Vet Rec **165**(10): 281-288.
- Nakamura, T., T. Aikawa, M. Iwamoto-Enomoto, M. Iwamoto, Y. Higuchi, M. Pacifici, N. Kinto, A. Yamaguchi, S. Noji, K. Kurisu and T. Matsuya (1997). "Induction of osteogenic differentiation by hedgehog proteins." Biochem Biophys Res Commun **237**(2): 465-469.
- Nykamp, S. (2005). Equine MRI - clinical applications. Better medicine, better life. OVMA Conference Proceedings 2005, Ontario Veterinary Medical Association: 230-233.
- Olive, J. (2010). "Distal interphalangeal articular cartilage assessment using low-field magnetic resonance imaging." Vet Radiol Ultrasound **51**(3): 259-266.
- Olive, J., M. A. D'Anjou, C. Girard, S. Laverty and C. Theoret (2010). "Fat-suppressed spoiled gradient-recalled imaging of equine metacarpophalangeal articular cartilage." Vet Radiol Ultrasound **51**(2): 107-115.
- Oliver, L. J., D. K. Baird, A. N. Baird and G. E. Moore (2008). "Prevalence and distribution of radiographically evident lesions on repository films in the hock and stifle joints of yearling Thoroughbred horses in New Zealand." N Z Vet J **56**(5): 202-209.
- Olsson, S. E. and S. Reiland (1978). "The nature of osteochondrosis in animals. Summary and conclusions with comparative aspects on osteochondritis dissecans in man." Acta Radiol Suppl **358**: 299-306.
- Olstad, K., V. Cnudde, B. Masschaele, R. Thomassen and N. I. Dolvik (2008b). "Micro-computed tomography of early lesions of osteochondrosis in the tarsus of foals." Bone **43**(3): 574-583.
- Olstad, K., E. H. Hendrickson, C. S. Carlson, S. Ekman and N. I. Dolvik (2013). "Transection of vessels in epiphyseal cartilage canals leads to osteochondrosis and osteochondritis dissecans in the femoro-patellar joint of foals; a potential model of juvenile osteochondritis dissecans." Osteoarthritis and Cartilage **21**(5): 730-738.
- Olstad, K., B. Ytrehus, S. Ekman, C. S. Carlson and N. I. Dolvik (2007). "Early lesions of osteochondrosis in the distal tibia of foals." J Orthop Res **25**(8): 1094-1105.

- Olstad, K., B. Ytrehus, S. Ekman, C. S. Carlson and N. I. Dolvik (2008a). "Epiphyseal cartilage canal blood supply to the tarsus of foals and relationship to osteochondrosis." Equine Vet J **40**(1): 30-39.
- Olstad, K., B. Ytrehus, S. Ekman, C. S. Carlson and N. I. Dolvik (2008c). "Epiphyseal cartilage canal blood supply to the distal femur of foals." Equine Vet J **40**(5): 433-439.
- Olstad, K., B. Ytrehus, S. Ekman, C. S. Carlson and N. I. Dolvik (2009). "Epiphyseal cartilage canal blood supply to the metatarsophalangeal joint of foals." Equine Vet J **41**(9): 865-871.
- Olstad, K., B. Ytrehus, S. Ekman, C. S. Carlson and N. I. Dolvik (2011). "Early lesions of articular osteochondrosis in the distal femur of foals." Vet Pathol **48**(6): 1165-1175.
- Pearce, S. G., E. C. Firth, N. D. Grace and P. F. Fennessy (1998a). "Effect of copper supplementation on the evidence of developmental orthopaedic disease in pasture-fed New Zealand Thoroughbreds." Equine Vet J **30**(3): 211-218.
- Pearce, S. G., N. D. Grace, E. C. Firth, J. J. Wichtel, S. A. Holle and P. F. Fennessy (1998b). "Effect of copper supplementation on the copper status of pasture-fed young Thoroughbreds." Equine Vet J **30**(3): 204-210.
- Pearce, S. G., N. D. Grace, J. J. Wichtel, E. C. Firth and P. F. Fennessy (1998c). "Effect of copper supplementation on copper status of pregnant mares and foals." Equine Vet J **30**(3): 200-203.
- Philipsson, J., E. Andréasson, B. Sandgren, G. Dalin and J. Carlsten (1993). "Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. II. Heritability." Equine Vet J Suppl **16**: 38-41.
- Pieramati, C., M. Pepe, M. Silvestrelli and A. Bolla (2003). "Heritability estimation of osteochondrosis dissecans in Maremmano horses." Livestock Production Science **79**: 249-255.
- Pool, R. R. (1986). Pathologic manifestations of osteochondrosis. Proceedings of the American Quarter Horse Association Developmental Orthopedic Disease Symposium. C. W. McIlwraith, American Quarter Horse Association. Amarillo: 3-7.
- Pool, R. R. (1993). "Difficulties in definition of equine osteochondrosis; differentiation of developmental and acquired lesions." Equine vet. J., Suppl. **16**: 5-12.
- Poole, A. R., T. Kojima, T. Yasuda, F. Mwale, M. Kobayashi and S. Laverty (2001). "Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair." Clin Orthop Relat Res(391 Suppl): S26-33.
- Poole, A. R., S. Laverty and F. Mwale (2000). Endochondral bone formation and development in the axial and appendicular skeleton. The osteoporosis primer. J. E. Henderson and D. Goltzman. Cambridge, England, UK, Cambridge university press: 3-17.
- Ralston, S. L. (1996). "Hyperglycemia/hyperinsulinemia after feeding a meal of grain to young horses with osteochondritis dissecans (OCD) lesions." Pferdeheilkunde **12**(3): 320-322.
- Rejno, S. and B. Stromberg (1978). "Osteochondrosis in the horse. II. Pathology." Acta Radiol Suppl **358**: 153-178.
- Relave, F., M. Meulyzer, K. Alexander, G. Beauchamp and M. Marcoux (2009). "Comparison of radiography and ultrasonography to detect osteochondrosis lesions in the tarsocrural joint: a prospective study." Equine Vet J **41**(1): 34-40.

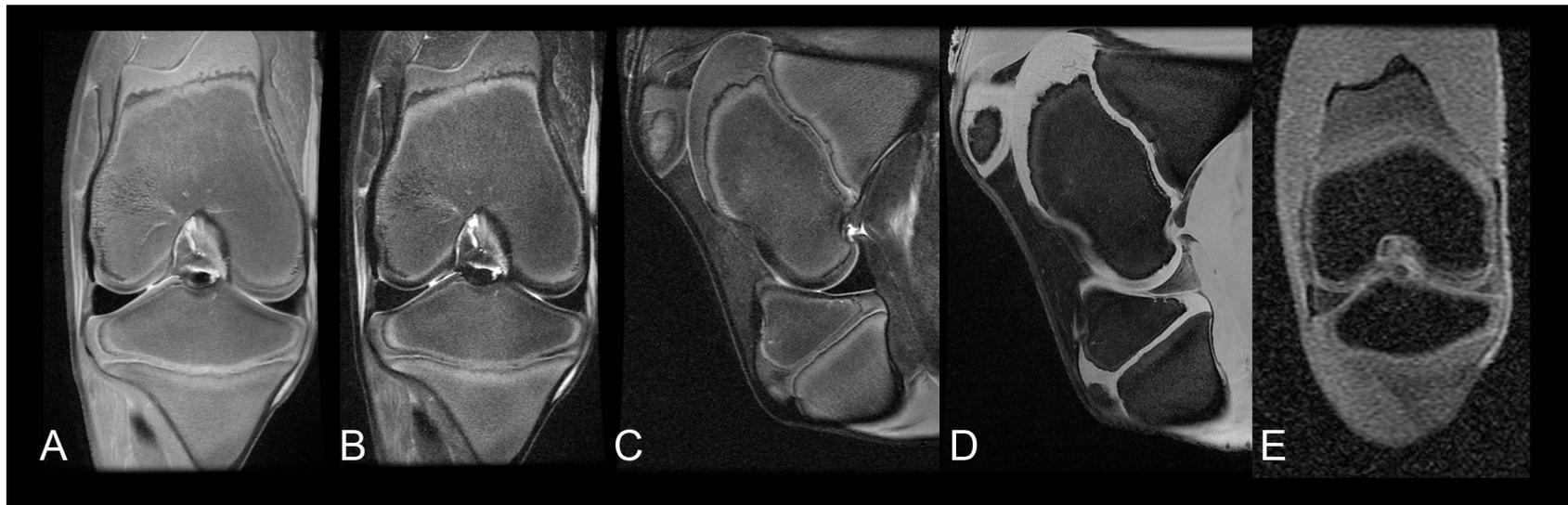
- Rivas, R. and F. Shapiro (2002). "Structural stages in the development of the long bones and epiphyses: a study in the New Zealand white rabbit." J Bone Joint Surg Am **84-A**(1): 85-100.
- Robert, C., J. P. Valette and J. M. Denoix (2006). "Correlation between routine radiographic findings and early racing career in French trotters." Equine Vet J Suppl(36): 473-478.
- Romvari, R., Z. Szendro and P. Horn (1996). "Studies on the growth of rabbits by X-ray computerised tomography." Acta Veterinaria Hungarica **44**(2): 135-144.
- Sandgren, B., G. Dalin and J. Carlsten (1993c). "Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. I. Epidemiology." Equine Vet J Suppl **16**: 31-37.
- Sandgren, B., G. Dalin, J. Carlsten and N. Lundeheim (1993). "Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. II. Body measurements and clinical findings." Equine Vet J Suppl: 48-53.
- Savage, C. J., R. N. McCarthy and L. B. Jeffcott (1993a). "Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals." Equine Veterinary Journal suppl **16**: 74-79.
- Savage, C. J., R. N. McCarthy and L. B. Jeffcott (1993b). "Effects of dietary phosphorus and calcium on induction of dyschondroplasia in foals." Equine Vet Journal suppl **16**: 80-83.
- Schougaard, H., J. Falk Ronne and J. Phillipson (1990). "A radiographic survey of tibiotarsal osteochondrosis in a selected population of trotting horses in Denmark and its possible genetic significance." Equine Vet J **22**(4): 288-289.
- Semevolos, S. A., A. J. Nixon and M. L. Strassheim (2004). "Expression of bone morphogenetic protein-6 and -2 and a bone morphogenetic protein antagonist in horses with naturally acquired osteochondrosis." Am J Vet Res **65**(1): 110-115.
- Semevolos, S. A., M. L. Strassheim, J. L. Haupt and A. J. Nixon (2005). "Expression patterns of hedgehog signaling peptides in naturally acquired equine osteochondrosis." Journal of Orthopaedic Research **23**(5): 1152-1159.
- Sertejn, D., D. Piquemal, L. Vanderheyden, J. P. Lejeune, D. Verwilghen and C. Sandersen (2010). "Gene expression profiling from leukocytes of horses affected by osteochondrosis." J Orthop Res.
- Shelley, J. and S. Dyson (1984). "Interpreting radiographs. 5. Radiology of the equine hock." Equine Veterinary Journal **16**(6): 488-495.
- Sherlock, C. E., T. S. Mair and F. Ter Braake (2009). "Osseous lesions in the metacarpo(tarso)phalangeal joint diagnosed using low-field magnetic resonance imaging in standing horses." Vet Radiol Ultrasound **50**(1): 13-20.
- Shingleton, W. D., E. J. Mackie, T. E. Cawston and L. B. Jeffcott (1997). "Cartilage canals in equine articular/epiphyseal growth cartilage and a possible association with dyschondroplasia." Equine Vet J **29**(5): 360-364.
- Sloet van, O.-O., J. A. Mol and A. Barneveld (1999). "Hormones, growth factors and other plasma variables in relation to osteochondrosis." Equine Vet J Suppl(31): 45-54.
- Soana, S., G. Gnudi, G. Bertoni and P. Botti (1998). "Anatomo-radiographic study on the osteogenesis of carpal and tarsal bones in horse fetus." Anat Histol Embryol **27**(5): 301-305.

- Stock, K. F. and O. Distl (2006). "Genetic correlations between osseous fragments in fetlock and hock joints, deforming arthropathy in hock joints and pathologic changes in the navicular bones of Warmblood riding horses." Livestock Sciences **105**: 35-43.
- Stock, K. F., H. Hamann and O. Distl (2005). "Estimation of genetic parameters for the prevalence of osseous fragments in limb joints of Hanoverian Warmblood horses." J Anim Breed Genet **122**(4): 271-280.
- Stromberg, B. (1979). "A review of the salient features of osteochondrosis in the horse." Equine Vet J **11**(4): 211-214.
- Thrall, D. E. and W. R. Widmer (2013). Radiation Protection and Physics of Diagnostic Radiology. Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology. D. E. Thrall. St-Louis, Saunders Elsevier: 2-21.
- Tidwell, A. S. (2007). Principles of Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging. Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology. D. E. Thrall. St-Louis, Saunders Elsevier: 50-77.
- Todhunter, R. J. (1996). Anatomy and physiology of synovial joints. Joint disease in the horse. C. W. McIlwraith and G. W. Trotter. Philadelphia, W.B. Saunders Company: 1-28.
- Valentino, L. W., J. D. Lillich, E. M. Gaughan, D. R. Biller and R. H. Raub (1999). "Radiographic Prevalence of Osteochondrosis in Yearling Feral Horses." Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology **12**: 151-155.
- van Bree, H., H. Degryse, B. Van Ryssen, F. Ramon and M. Desmidt (1993). "Pathologic correlations with magnetic resonance images of osteochondrosis lesions in canine shoulders." J Am Vet Med Assoc **202**(7): 1099-1105.
- van Bree, H., B. Van Ryssen, H. Degryse and F. Ramon (1995). "Magnetic resonance arthrography of the scapulohumeral joint in dogs, using gadopentetate dimeglumine." Am J Vet Res **56**(3): 286-288.
- van Bree, H. J. and B. Van Ryssen (1998). "Diagnostic and surgical arthroscopy in osteochondrosis lesions." Vet Clin North Am Small Anim Pract **28**(1): 161-189.
- van der Harst, M. R., C. H. van de Lest, J. Degroot, G. H. Kiers, P. A. Brama and P. R. van Weeren (2005). "Study of cartilage and bone layers of the bearing surface of the equine metacarpophalangeal joint relative to different timescales of maturation." Equine Vet J **37**(3): 200-206.
- Van Grevenhof, E. M., B. J. Ducro, P. R. Van Weeren, J. M. Van Tartwijk, A. J. Van den Belt and P. Bijma (2009). "Prevalence of various radiographic manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch warmblood horses." Equine Vet J **41**(1): 11-16.
- van Grevenhof, E. M., A. Schurink, B. J. Ducro, P. R. van Weeren, J. M. van Tartwijk, P. Bijma and J. A. van Arendonk (2009b). "Genetic variables of various manifestations of osteochondrosis and their correlations between and within joints in Dutch warmblood horses." J Anim Sci **87**(6): 1906-1912.
- van Weeren, P. R. (2006a). "Etiology, Diagnosis, and Treatment of OC(D)." Clinical Techniques in Equine Practice: 248-258.
- van Weeren, P. R. (2006b). Osteochondrosis. Equine Surgery. J. A. Auer and J. A. Stick. St. Louis, Saunders Elsevier: 1166-1178.
- van Weeren, P. R. and A. Barneveld (1999). "The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in the Warmblood foal." Equine Vet J Suppl(31): 16-25.

- van Weeren, P. R., E. C. Firth, B. Brommer, M. M. Hyttinen, A. E. Helminen, C. W. Rogers, J. Degroot and P. A. Brama (2008). "Early exercise advances the maturation of glycosaminoglycans and collagen in the extracellular matrix of articular cartilage in the horse." Equine Vet J **40**(2): 128-135.
- van Weeren, P. R., J. Knaap and E. C. Firth (2003). "Influence of liver copper status of mare and newborn foal on the development of osteochondrotic lesions." Equine Vet J **35**(1): 67-71.
- van Weeren, P. R., O.-O. Sloet van and A. Barneveld (1999b). "The influence of birth weight, rate of weight gain and final achieved height and sex on the development of osteochondrotic lesions in a population of genetically predisposed Warmblood foals." Equine Vet J Suppl(31): 26-30.
- Voute, L. C., F. M. D. Henson, D. Platt and L. B. Jeffcott (1997). "Lesions of the lateral trochlear ridge of the distal femur in ponies with histological features of equine dyschondroplasia." Scientific Proceedings, 36th Congress of the British Equine Veterinary Association: 153-154.
- Wittwer, C., C. Dierks, H. Hamann and O. Distl (2008). "Associations between candidate gene markers at a quantitative trait locus on equine chromosome 4 responsible for osteochondrosis dissecans in fetlock joints of South German Coldblood horses." J Hered **99**(2): 125-129.
- Wittwer, C., H. Hamann and O. Distl (2009). "The candidate gene XIRP2 at a quantitative gene locus on equine chromosome 18 associated with osteochondrosis in fetlock and hock joints of South German Coldblood horses." J Hered **100**(4): 481-486.
- Wittwer, C., H. Hamann, E. Rosenberger and O. Distl (2006). "Prevalence of osteochondrosis in the limb joints of South German Coldblood horses." Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine **53**(10): 531-539.
- Wittwer, C., K. Lohring, C. Drogemuller, H. Hamann, E. Rosenberger and O. Distl (2007b). "Mapping quantitative trait loci for osteochondrosis in fetlock and hock joints and palmar/plantar osseus fragments in fetlock joints of South German Coldblood horses." Anim Genet **38**(4): 350-357.
- Ytrehus, B., C. S. Carlson and S. Ekman (2007). "Etiology and pathogenesis of osteochondrosis." Vet Pathol **44**(4): 429-448.

Annexe : Illustration des différentes séquences IRM utilisées et complément d'information sur l'ossification au niveau du grasset et du tarse.

FIGURE 1: Illustration des cinq séquences utilisées au cours du présent projet et décrites par la revue de littérature du présent mémoire.



A) Grasset plan dorsal, séquence densité de protons (PD). B) Grasset plan dorsal, séquence pondérée T2. C) Grasset plan sagittal, séquence pondérée T2 long temps d'écoute avec suppression du signal des gras. D) Grasset plan sagittal, séquence d'inversion récupération à court tau avec suppression du signal des gras (STIR FS). E) Grasset plan dorsal, séquence de gradient d'écho rapide (FGRE).

TABLEAU 1: Grades d'ossification pour l'entièreté de l'articulation fémorotibiale/fémoropatellaire et tarsocrurale.

		Sites													
Age Groups		Fémur Distal *	Crête Tibiale	Plateau Tibial	Patella	Centre d'ossification du Tibia Distal	Malléole Médiale	Malléole Latérale	Calcaneus	Tuber calcanei	Talus	Os Central du Tarse	1er & 2 ^e Os du Tarse	3e Os du Tarse	4e Os du Tarse
CT Articulation FP/FT	1, 4-5 MOG	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1 (1;2)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2, 6-7 MOG	0 (0;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	3 (3;3)b	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3, 8-9 MOG	3 (1;4)b	2 (0;3)b	3 (0;4)b	0 (0;3)a	2 (0;4)b	0 (0;2)a	0.5 (0;4)a	4 (3;4)c	0 (0;4)a	4 (1;4)b	1 (0;4)a	0 (0;4)a	2 (0;4)b	2 (0;4)b
	4, 10-11 MOG 3 WPP	4 (4;4)b	3.5 (2;4)b	4 (4;5)b	3 (1;4)b	4 (4;5)c	2.5 (0;4)b	4 (3;5)b	4.5 (4;5)c	4 (3;4)b	4.5 (4;5)b	4.5 (4;5)b	4.5 (4;5)b	4.5 (4;5)c	4.5 (4;5)c
	Valeur de p	0.002	0.004	0.003	0.01	0.002	0.03	0.005	0.002	0.006	0.002	0.003	0.004	0.007	0.002
IRM Articulation FP/FT	1, 4-5 MOG	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1 (1;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2, 6-7 MOG	0 (0;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	2 (2;2)b	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3, 8-9 MOG	2 (1;3)b	1 (0;2)b	3 (0;4)b	0 (0;2)a	2 (0;4)b	0 (0;2)a	0.5 (0;4)a	3 (3;4)c	0 (0;3)a	3 (1;4)b	1 (0;4)a	0 (0;4)a	1.5 (0;4)a	2 (0;4)b
	4, 10-11 MOG 3 WPP	4 (3;4)c	3 (1;3)b	4 (4;4)b	2.5 (1;3)b	4 (4;4)c	1.5 (1;3)b	4 (3;4)b	4 (4;5)d	3 (2;4)b	4 (4;4)b	4.5 (4;5)b	4 (4;5)b	4 (4;5)b	4 (4;5)c
	Valeur de	0.001	0.005	0.003	0.008	0.003	0.02	0.005	0.001	0.006	0.001	0.003	0.004	0.003	0.003

* *Valeur médiane (min;max)x Au niveau d'un site les médianes représentées par une différente valeur de x sont significativement différentes selon une valeur de p indiquée sous la colonne de données.*

TABLEAU 2: Grade de régularité du front d'ossification pour l'entièreté l'articulation fémorotibiale/fémoropatellaire et tarsocrurale.

	Groupes	Sites													
		Fémur Distal *	Crête Tibiale	Plateau Tibial	Patella	Centre d'ossification du Tibia Distal	Malléole Médiale	Malléole Latérale	Calcaneús	Tuber calcanei	Talus	Os Central du Tarse	1er & 2 ^e Os du Tase	3e Os du Tarse	4e Os du Tarse
CT	Articulation FP/FT														
	1, 4-5 MOG	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1.5 (1;2)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2, 6-7 MOG	0 (0;2)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1 (1;2)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3, 8-9 MOG	2 (2;3)b	1 (0;2)b	1 (0;2)b	0 (0;2)a	1 (0;2)b	0 (0;2)a	0.5 (0;1)ab	1 (1;1)a	0 (0;2)ab	1 (1;2)b	1 (0;2)ab	0 (0;2)ab	1 (0;1)b	1 (0;1)b
	4, 10-11 MOG 3 WPP	2.5 (2;3)b	1.5 (1;2)b	1 (1;2)b	2.5 (1;3)b	1 (1;1)b	1 (0;3)a	1 (1;1)b	1 (1;1)a	1 (1;2)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b	1 (1;2)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b
	Valeur de p	0.004	0.01	0.01	0.008	0.008	0.12	0.01	0.17	0.04	0.002	0.03	0.04	0.003	0.003
IRM	Articulation FP/FT														
	1, 4-5 MOG	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1 (1;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	2, 6-7 MOG	0 (0;3)ab	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	1 (1;1)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a	0 (0;0)a
	3, 8-9 MOG	2 (2;3)b	1 (0;2)b	1 (0;1)b	0 (0;3)ab	1 (0;1)b	0 (0;2)a	0.5 (0;1)ab	1 (1;1)a	0 (0;1)a	1 (1;2)b	1 (0;2)ab	0 (0;1)a	1 (0;1)b	1 (0;2)b
	4, 10-11 MOG 3 WPP	2.5 (2;3)b	1 (1;2)b	1 (1;1)b	2 (2;2)b	1 (1;1)b	1.5 (1;3)b	1 (1;1)b	1 (1;1)a	2 (1;2)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b	1 (1;1)b
	Valeur de p	0.009	0.01	0.003	0.02	0.003	0.02	0.01	1	0.003	0.003	0.02	0.01	0.003	0.008

* Valeur médiane (min;max)x Au niveau d'un site les médianes représentées par une différente valeur de x sont significativement différentes selon une valeur de p indiquée sous la colonne de données.

