

Titre: Développement d'une base de données cartographiques et de
modèles statistiques pour la caractérisation du cartilage articulaire

Auteur: Sotcheadt Sim

Date: 2017

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Sim, S. (2017). Développement d'une base de données cartographiques et de
modèles statistiques pour la caractérisation du cartilage articulaire [Thèse de
doctorat, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/2520/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/2520/>
PolyPublie URL:

**Directeurs de
recherche:** Michael D. Buschmann, & Éric Quenneville
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UNE BASE DE DONNÉES CARTOGRAPHIQUES ET DE
MODÈLES STATISTIQUES POUR LA CARACTÉRISATION DU CARTILAGE
ARTICULAIRE

SOTCHEADT SIM

INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR
(GÉNIE BIOMÉDICAL)

MAI 2017

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée:

DÉVELOPPEMENT D'UNE BASE DE DONNÉES CARTOGRAPHIQUES ET DE
MODÈLES STATISTIQUES POUR LA CARACTÉRISATION DU CARTILAGE
ARTICULAIRE

Présentée par : SIM Sotcheadt

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiae Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. LESAGE Frédéric, Ph. D., président

M. BUSCHMANN Michael, Ph. D., membre et directeur de recherche

M. QUENNEVILLE Éric, Ph. D., membre et codirecteur de recherche

M. LEBLOND Frédéric, Ph. D., membre

M. GETGOOD Alan, MD, membre externe

DÉDICACE

À ma famille

REMERCIEMENTS

Durant ces cinq années d'études supérieures, j'ai eu l'occasion de rencontrer et de travailler avec des gens merveilleux. J'ai énormément appris tant au niveau personnel que professionnel. Cette thèse est un bel accomplissement et cela n'aurait pas été possible sans leur aide. Donc, sans plus tarder...

Je tiens à remercier d'abord mon directeur de recherche, Michael Buschmann, pour ton soutien, tes conseils, ton expertise et plus particulièrement, pour ta confiance en mes capacités à mener un projet d'une aussi grande envergure.

Ensuite, un gros merci à mon codirecteur de recherche, Éric Quenneville, pour ton soutien, tes idées, les opportunités que tu m'as offertes et toute la confiance que tu as eue en mon travail. À travers nos nombreuses discussions, tu m'as beaucoup défié et grâce à cela, « j'avoue » être devenue une chercheuse confiante et beaucoup plus réfléchie!

Je remercie les gens à Biomomentum, spécialement Martin Garon, qui a également joué un rôle déterminant de mentors dans ma formation. De plus, ma chère collègue, Insaf, avec qui j'ai eu beaucoup de discussions enrichissantes tant sur nos projets, notre futur, nos inspirations culinaires et plein d'autres sujets! Souviens-toi que cela sera bientôt à ton tour de rédiger ta thèse, je te souhaite le meilleur!

Je souhaite exprimer ma grande reconnaissance à tous mes coauteurs qui m'ont aidé et soutenu à la rédaction de mes articles scientifiques et à tous mes procédés de conférences, spécialement Dr. Anik Chevrier, Prof. Caroline Hoemann, Dr. Patrick Lavigne, Alex Yaroshinsky et Dr. Mark Hurtig.

Le personnel et les étudiants de la Chaire de recherche en génie tissulaire du cartilage articulaire, Adele, Garima, Almas, Leili, Vincent, Colleen, Yuan, Daniel, David, Ousamah, Julie, Gabrielle, Marc, Nic... malgré le peu de temps passé à vos côtés, je n'oublierai pas les échanges que l'on a eus! Notamment, Anick Chevier, tu es une inspiration pour moi, j'ai eu la chance de commencer mon projet à tes côtés, avec ton organisation, ton aide et ton expertise. Tu as définitivement été un acteur-clé dans la réalisation de mon projet et la rédaction de mes articles.

À mes chères amies, Rox, Ada, Zerrin, Rosa, Blandine, Thavy, Dy, Any, Martine, Kim, Steph et Christine, je tiens à vous remercier de m'avoir soutenu tout au long de ses années d'études et surtout de m'avoir remonté le moral ou changer les idées à de nombreuses reprises!

Ma famille, qui m'a toujours soutenu tout au long de ma vie. Cela n'a pas toujours été facile ces dernières années, mais je vous aime profondément. Plus particulièrement, à mon cher neveu, Antonio, qui durant les moments passés avec toi me faisait revenir en enfance et oublier les tracas de la vie! Quand tu grandiras et que tu liras ses phrases, sache que je suis la tante la plus fière et heureuse au monde!

À mon amour depuis plus de 11 belles années, Ouicem, je tiens à te remercier de m'avoir toujours encouragé et appuyé dans les bons et mauvais moments. Maintenant que j'ai enfin fini d'étudier... j'espère que cela marquera un nouveau tournant dans notre vie.

RÉSUMÉ

L'arthrose est l'une des maladies causant le plus de douleur et d'invalidité auprès de millions de personnes. En effet, selon l'Organisation des Nations unies, 130 millions de personnes dans le monde souffriront d'arthrose, dont 40 millions seront sévèrement invalides suite à la maladie. Connue comme la forme la plus commune d'arthrite, elle est caractérisée par la détérioration du cartilage articulaire, dont l'articulation la plus touchée est le genou. Malheureusement, l'arthrose du genou est souvent diagnostiquée lorsque des lésions sévères du cartilage articulaire sont présentes. À ce stade avancé de la maladie, les possibilités de traitements sont limitées. Néanmoins, puisque l'arthrose est une maladie qui se développe au fil des décennies, elle offre une large plage de temps pour en altérer son cours. Ainsi, la détection de l'état du cartilage articulaire à un stade préarthrosique permettra un diagnostic précoce des lésions articulaires pour entamer des traitements efficaces à un stade peu avancé de la maladie. Par conséquent, il y a toujours un besoin urgent de concevoir un dispositif médical permettant l'évaluation précoce et fiable de l'intégrité du cartilage articulaire.

Depuis plus d'une décennie, notre groupe de recherche s'est intéressé à cette problématique. Au fil des années, nos chercheurs ont étudié les propriétés électromécaniques du cartilage articulaire, nommés potentiels d'écoulement. Ce phénomène, qui consiste à des potentiels électriques générés suite au chargement du cartilage, a conduit à la conception d'un dispositif médical, l'Arthro-BST. Ce dispositif est une sonde arthroscopique munie d'un embout de 37 microélectrodes, permettant de mesurer ces potentiels d'écoulement. De nombreuses recherches ont démontré que les potentiels d'écoulement reflètent la structure, la fonction et la composition du cartilage ainsi que d'être sensible à la dégradation de ce dernier. Cette technique permet donc de diagnostiquer de façon précise les anomalies du cartilage et donc d'innover la caractérisation de ce tissu. Toutefois, l'Arthro-BST demeure un outil de mesure des potentiels d'écoulement générés lors de la compression du cartilage. L'objectif général de cette thèse est donc, de transformer le dispositif actuel en un outil précis de classification de la qualité du cartilage articulaire.

Tout d'abord, la première étude expérimentale visait à examiner la corrélation du paramètre quantitatif (QP) de l'Arthro-BST avec des techniques conventionnelles de caractérisation du cartilage humain. Bien que plusieurs études antérieures aient démontré la corrélation des potentiels d'écoulement avec les propriétés histologiques, biochimiques ou mécaniques du cartilage

provenant d'articulations animales, il était essentiel d'étudier des tissus humains pour permettre une application clinique. Des mesures électromécaniques non destructives, à l'aide de l'Arthro-BST, ont d'abord été effectuées sur des surfaces articulaires entières, provenant de genoux cadavériques humains. Ensuite, des biopsies ont été extraites de ces échantillons afin d'y effectuer des analyses histologiques, biochimiques et mécaniques. Les résultats de cette étude ont démontré que le paramètre électromécanique corrèle fortement avec les scores histologiques et propriétés mécaniques du cartilage humain alors qu'une faible corrélation avec le contenu en protéoglycanes et en eau du cartilage a été observée. La forte corrélation entre le paramètre électromécanique et les scores histologiques suggère que les potentiels d'écoulements reflètent exactement la qualité du tissu et l'intégrité du réseau de collagène. De plus, la forte corrélation des propriétés électromécaniques avec les propriétés mécaniques démontre que les potentiels d'écoulement représentent effectivement les propriétés fonctionnelles du cartilage.

Par la suite, la seconde étude expérimentale visait à examiner la capacité du dispositif électromécanique, ainsi qu'une technique d'indentation automatisée (développée par la compagnie Biomomentum), à caractériser des surfaces articulaires humaines entières rapidement et d'une manière non destructive afin de détecter la dégénération précoce du cartilage. En effet, on a étudié la capacité du dispositif électromécanique à détecter efficacement l'état du cartilage ainsi que d'examiner sa rapidité à fournir les données électromécaniques. Pour ce faire, les échantillons ont été analysés de manière macroscopique, électromécanique, mécanique et en mesurant l'épaisseur du cartilage cartographiquement. Subséquemment, des biopsies ont été extraites de régions macroscopiquement saines et dégénérées à des fins histologiques, biochimiques et de compression non confinée. L'analyse macroscopique a permis de définir trois régions distinctes sur chaque surface articulaire : la région I était macroscopiquement dégénérée, la région II était macroscopiquement normale mais adjacente à la région I et la région III était le reste de la surface macroscopiquement normale. Chaque biopsie extraite a été assignée à une des trois régions et des analyses statistiques ont permis de révéler la sensibilité de chacune de ces caractérisations. Les résultats ont démontré que seuls les paramètres électromécaniques, obtenues par l'Arthro-BST, et mécaniques, obtenues par la technique d'indentation automatisée, permettaient de distinguer efficacement entre les régions II et III, soit d'identifier l'altération précoce du cartilage articulaire. Ces techniques ont montré non seulement une sensibilité supérieure aux techniques conventionnelles (histologiques ou biochimiques), mais elles étaient aussi bien plus rapides. Ainsi,

grâce à ces résultats prometteurs, ces deux techniques cartographiques pourraient être utilisées pour des études expérimentales telles que des études sur la réparation du cartilage, où des surfaces articulaires entières peuvent être évaluées rapidement et de manière non destructive ou pour une utilisation clinique en utilisant la sonde électromécanique.

Finalement, grâce aux résultats encourageants de ces deux premières études expérimentales, la transition du dispositif en un outil de classification de la qualité du cartilage articulaire était évidente. Tout d'abord, il est important de mentionner la volonté à traduire les propriétés électromécaniques obtenues par la sonde en un langage compréhensible par les orthopédistes. Parmi les systèmes de caractérisation macroscopique, le score de l'International Cartilage Repair Society (ICRS), nommé score ICRS, a été choisi. Ce score ICRS se fonde sur la profondeur des lésions du cartilage articulaire et est représenté par une échelle nominale de 0 à 4. Malgré la subjectivité de ce score, il est largement utilisé par les arthroscopistes. Ainsi, il a été convenu que le paramètre électromécanique sera converti en un score électromécanique analogue au score ICRS, soit représenté sur une échelle continue allant de 0 à 4. Pour ce faire, une base de données électromécaniques du cartilage sain a été développée afin d'établir une référence au paramètre électromécanique. Comme suite à cela, un examen approfondi des propriétés électromécaniques en fonction de la dégénération du cartilage (se fondant sur le score ICRS) a été fait sur 100 surfaces articulaires provenant de remplacement total de genoux. Ensuite, une analyse statistique de l'effet des caractéristiques propres au patient et de l'emplacement spécifique de la mesure sur les propriétés électromécaniques a été effectuée. Cette analyse a révélé que seul l'emplacement spécifique de la mesure a un effet sur les propriétés électromécaniques. Ainsi, il est critique de considérer cette information lors du développement du score électromécanique. Finalement, une vérification sur des surfaces articulaires, présentant des lésions à différents stades de dégénération, a montré que le score électromécanique permettait non seulement, de distinguer des lésions non détectables macroscopiquement, mais également de classer plus précisément les lésions.

Pour conclure, cette nouvelle fonctionnalité de classification a été implémentée dans l'Arthro-BST. En dépit des limitations, telles que la longue période de conservation des surfaces articulaires cadavériques et l'incapacité à diagnostiquer de manière autonome du cartilage normal ou très dégénéré (amincissement du cartilage), ce projet permet de révolutionner la caractérisation du cartilage articulaire d'une manière objective et quantitative. Cet outil est essentiel pour prévenir, mieux traiter et caractériser efficacement le cartilage articulaire. De plus, un projet en cours et

complémentaire à celui-ci a pour objectif général de rendre l'algorithme de classification complètement autonome en analysant les signaux bruts de potentiels d'écoulement du cartilage articulaire afin de différencier un cartilage visuellement normal ou anormalement mince.

Mots-clés : Cartilage articulaire, genou, potentiel d'écoulement, électromécanique, diagnostic, humain

ABSTRACT

Osteoarthritis (OA) is the most common form of disease causing pain and disability in millions of people. Indeed, according to the United Nations, 130 people in the world will suffer from osteoarthritis, of which 40 million will be severely disabled as a result of the disease. Known as the most common type of arthritis, OA is characterized by the degeneration of the articular cartilage. The knee is one of the joints most commonly affected by OA. Unfortunately, OA in the knee is often diagnosed when severe cartilage lesions (up to the bone) are present. In late-stage OA, treatment options are limited. Nevertheless, since OA is a disease that develops over decades, it offers a wide range of time to alter its course. Thus, the detection of cartilage quality at a pre-osteoarthritic stage will allow to initiate effective treatments at an early stage of the disease. Therefore, there is still an urgent need to design a tool providing quantitative and reliable evaluation of cartilage integrity.

For more than a decade, our research group has been interested in this issue. Over the years, our researchers have studied the electromechanical properties of articular cartilage, called streaming potential. This phenomenon, which consists of electrical potentials generated by cartilage loading, led to the design of a medical device, the Arthro-BST. This device is an arthroscopic probe, with 37 microelectrodes lying on its semi-spherical indenter tip, making it possible to measure these streaming potentials. Numerous studies have shown that streaming potentials reflect the structure, function and composition of cartilage as well as being sensitive to cartilage degeneration. This technology makes it possible to accurately diagnose cartilage abnormalities and therefore, innovate the evaluation of this tissue. However, the Arthro-BST remains a tool for measuring compression-induced streaming potentials of cartilage. Thus, the general objective of this thesis is to transform the current device into a precise grading tool for cartilage quality.

The first experimental study aimed at examining the correlation of the quantitative parameter (QP) of the Arthro-BST with conventional techniques of human cartilage assessment. Although several previous studies have demonstrated the correlation of streaming potentials with histological, biochemical or mechanical properties of cartilage in animal models, it was essential to study human tissues for clinical application. Non-destructive electromechanical measurements using the Arthro-BST were first performed on entire articular surfaces from human cadaveric knees. Osteochondral cores were harvested from these samples for histological, biochemical and mechanical

assessments. The results of this study demonstrated that the electromechanical QP correlates strongly with the histological and mechanical properties of human cartilage while a low correlation with the content of proteoglycans and water was observed. The strong correlation between the electromechanical QP and the histological scores suggested that the streaming potentials accurately reflects the quality of the tissue and the integrity of the collagen network. Moreover, the strong correlation of the electromechanical properties with the mechanical properties demonstrated that the streaming potentials represent the functional properties of the cartilage.

Subsequently, the second experimental study aimed to examine the capacity of the electromechanical device, as well as an automated indentation technique (developed by Biomomentum), to characterize entire human articular surfaces rapidly and non-destructively to distinguish between early degenerated and healthy articular cartilage. Effectively, we studied the ability of the electromechanical probe to accurately evaluate cartilage quality and the rapidity in which electromechanical data were obtained. To do this, the samples were mapped macroscopically, electromechanically, mechanically and by measuring cartilage thickness. Then, osteochondral cores were harvested from macroscopically healthy and degenerated areas for histological, biochemical and unconfined compression assessments. The macroscopic characterization allowed defining 3 distinct regions on each articular surface: region I was macroscopically degenerated, region II was macroscopically normal but adjacent to regions I and region III was the remaining normal articular surface. Each osteochondral core was assigned to one of the 3 regions and statistical analyses made it possible to reveal the sensitivity of each of these characterizations. The results demonstrated that only the electromechanical parameters obtained by the arthroscopic probe and the mechanical parameters obtained by the automated indentation technique allowed to distinguish early cartilage degeneration that appears visually normal but is adjacent to a defect. These techniques have not only shown superior sensitivity in regard to conventional techniques (histological or biochemical) but were also much faster. Thus, with these promising results, these two mapping techniques could be used in research such as cartilage repair studies where entire articular surfaces could be rapidly and non-destructively assessed or for clinical cartilage assessment using the electromechanical probe.

Taken together, the encouraging results of these two experimental studies revealed the diagnostic potential of the Arthro-BST and motivated its further development into a grading tool for articular cartilage quality. First, it is important to mention that to be clinically useful, the current output of

the device must be translated into a language easily implemented by surgeons. Among the existing macroscopic classification systems, the International Cartilage Repair Society (ICRS) grade was chosen. This grading system is based on cartilage lesion severity and is represented by a nominal scale of 0 to 4. Despite the subjectivity of this score, it is widely used by arthroscopists. Thus, it was agreed that the electromechanical QP would be converted into an electromechanical score analogous to the ICRS grade, which means being represented on a continuous scale ranging from 0 to 4. To do this, an electromechanical database of healthy cartilage was built to establish a baseline for the electromechanical QP. Following this, an examination of the electromechanical properties in function of cartilage degeneration (based on the ICRS score) was performed on 100 articular surfaces issued from patients undergoing total knee replacement surgeries. Statistical analysis on the effect of patient-specific and location-specific characteristics on the electromechanical QP was conducted. This analysis revealed that electromechanical properties were not affected by patient-specific characteristics within each ICRS grade, but were significantly different across the articular surface. Thus, it is crucial to consider the location-specific information during cartilage evaluation to provide an accurate diagnostic. The relationship between the electromechanical QP and the ICRS grade was established to construct a continuous and quantitative electromechanical score analogous to ICRS grade. Finally, the reliability of this novel score was assessed by comparing it with ICRS grade on a subset of human articular surfaces. The electromechanical score not only made it possible to distinguish cartilage lesions not detected macroscopically but also offered more accurate grading of the lesions.

To conclude, this new grading functionality has been implemented in the Arthro-BST. Despite limitations such as the extended period of preservation of cadaveric articular surfaces and the inability to independently diagnose normal or much degenerated cartilage (cartilage thinning), this project revolutionizes the assessment of this tissue by being objective and quantitative. This tool is essential to prevent, improve treatment and evaluate accurately articular cartilage. In addition, an ongoing project and complementary to this one has the overall objective of making the grading algorithm completely autonomous by analyzing the raw signals of compression-induced streaming potentials of cartilage to differentiate visually normal and severely degraded cartilage due to cartilage thinning.

Keywords: Articular cartilage, knee, streaming potential, electromechanics, diagnostic, human

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	VI
ABSTRACT	X
TABLE DES MATIÈRES	XIII
LISTE DES TABLEAUX.....	XVIII
LISTE DES FIGURES.....	XIX
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XXVII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
Organisation de la thèse	2
CHAPITRE 2 REVUE CRITIQUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
2.1 Cartilage articulaire.....	4
2.1.1 Composition du cartilage articulaire	4
2.1.2 Structure et intégrité du cartilage articulaire	6
2.2 Dégénération du cartilage.....	7
2.2.1 Caractéristiques macroscopiques de l'arthrose	8
2.2.2 Changements structurels et compositionnels	9
2.3 Évaluation du cartilage articulaire.....	11
2.3.1 Évaluations non invasives	11
2.3.2 Évaluations invasives	21
2.4 Électromécanique du cartilage articulaire	32
2.5 Sonde électromécanique.....	34

CHAPITRE 3	OBJECTIFS DE LA THÈSE ET SES HYPOTHÈSES	38
	Objectif & Hypothèses de l'article 1	39
	Objectifs & Hypothèses de l'article 2	39
	Objectifs & Hypothèses de l'article 3	40
CHAPITRE 4	ARTICLE 1: NON-DESTRUCTIVE ELECTROMECHANICAL ASSESSMENT (ARTHRO-BST) OF HUMAN ARTICULAR CARTILAGE CORRELATES WITH HISTOLOGICAL SCORES AND BIOMECHANICAL PROPERTIES	41
4.1	Abstract	43
4.2	Keywords	43
4.3	Introduction	44
4.4	Methods	46
4.4.1	Sample source and preparation.....	46
4.4.2	Arthro-BST mapping.....	48
4.4.3	Core extraction	49
4.4.4	Histoprocessing and Staining	49
4.4.5	Biochemical testing	50
4.4.6	Biomechanical testing	50
4.4.7	Statistical analysis	51
4.5	Results	51
4.5.1	Electromechanical QP correlates with histological scores.....	51
4.5.2	Electromechanical QP weakly correlates with glycosaminoglycan and water content	54
4.5.3	Electromechanical QP correlates with biomechanical properties	55
4.6	Discussion	59
4.7	Acknowledgements	63

4.8	Role of funding source	63
4.9	Conflict of interest.....	63
4.10	References	64
CHAPITRE 5 ARTICLE 2: ELECTROMECHANICAL PROBE AND AUTOMATED INDENTATION MAPS ARE SENSITIVE TECHNIQUES IN ASSESSING EARLY DEGENERATED HUMAN ARTICULAR CARTILAGE.....		68
5.1	Abstract	70
5.2	Keywords	70
5.3	Introduction	71
5.4	Methods.....	72
5.4.1	Tissue Source	72
5.4.2	Study Design	72
5.4.3	Electromechanical Probe Mapping	75
5.4.4	Visual Assessment.....	75
5.4.5	Automated Indentation Mapping.....	75
5.4.6	Osteochondral Core Harvesting	76
5.4.7	Automated Thickness Mapping.....	76
5.4.8	Osteochondral Cores Analyses.....	76
5.4.9	Data Processing	77
5.4.10	Statistical Analyses.....	77
5.5	Results.....	78
5.5.1	QP and IM Correlate with Osteochondral Core Assessments.....	78
5.5.2	Mixed Effects Model Analysis.....	80
5.5.3	Sensitivity Analysis	81
5.5.4	QP, IM and Thickness Mappings	82

5.5.5	Bilaterally Similar Distribution Patterns Revealed by Mappings	84
5.6	Discussion	85
5.7	Acknowledgements	88
5.8	Conflict of interest.....	89
5.9	References	89
CHAPITRE 6	ARTICLE 3: DEVELOPMENT OF AN ELECTROMECHANICAL SCORE TO ASSESS HUMAN KNEE ARTICULAR CARTILAGE DEGENERATION	95
6.1	Abstract	97
6.2	Key terms	97
6.3	Introduction	98
6.4	Materials and Methods	100
6.4.1	Tissue source	100
6.4.2	Tissue Processing	100
6.4.3	Creation of a reference electromechanical database	101
6.4.4	Comparison of electromechanical properties to visual ICRS grading of cartilage degradation	103
6.4.5	Patient-specific and topographic characteristics of electromechanical properties	103
6.4.6	Development of an electromechanical score.....	104
6.4.7	Analysis on the effect of location on the electromechanical score	104
6.4.8	Evaluation of the electromechanical score reliability	105
6.4.9	Statistical Analysis	105
6.5	Results	106
6.5.1	Electromechanical reference database.....	106
6.5.2	Electromechanical QP variation with cartilage degeneration	106

6.5.3	Electromechanical QP variation with patient-specific and topographic characteristics	108
6.5.4	Development of an electromechanical score.....	108
6.5.5	Effect of location on the electromechanical score.....	109
6.5.6	Diagnostic algorithm	111
6.5.7	Implementing the electromechanical score to detect cartilage degeneration	113
6.6	Discussion	116
6.7	Conflict of interest.....	119
6.8	Acknowledgement.....	119
6.9	References	120
CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE		124
7.1	Paramètre quantitatif électromécanique	124
7.2	Sensibilité de la sonde électromécanique.....	127
7.3	Outil de diagnostic	128
7.4	Applications possibles.....	130
CHAPITRE 8 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		132
BIBLIOGRAPHIE		136

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Système de notation en échographie pour l'évaluation du cartilage	20
Tableau 2.2: Système de notation du score histologique Mankin.....	22
Tableau 2.3: Classification d'Outerbridge	25
Tableau 2.4: Classification d'Outerbridge modifiée.....	25
Tableau 2.5: Classification ICRS	26
Table 4.1: Parametric Univariate Statistical Analysis (values in bold are statistically significant)	57
Table 4.2: Multiple Regression Statistical Analysis (values in bold are statistically significant) .	58
Table 6.1: Characteristics of all cadaveric donors and total knee replacement (TKR) patients ..	100
Table 6.2: Fixed effects for model predicting electromechanical QP within each ICRS grade ..	108

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Schéma représentant le cartilage articulaire du genou	4
Figure 2.2: Schéma représentant une molécule de protéoglycane et de glycosaminoglycane chargée négativement composée de chaînes de chondroïtine-sulfate et de kératine-sulfate	5
Figure 2.3: Schéma représentant la structure organisationnelle du cartilage articulaire, soit la zone superficielle, la zone transitionnelle, la zone profonde et la couche calcifiée	6
Figure 2.4: Structures de l'articulation du genou affectées par l'arthrose. Le panneau gauche montre une articulation saine. Le panneau droit montre une articulation arthrosique. Source : adapté de de Boer, 2012.....	8
Figure 2.5: Caractéristiques macroscopiques de la dégénération du cartilage articulaire. A) Présence de fibrillation sur le tibial plateau B) Présence de fissures sur la patella C) Présence d'érosion du cartilage sur le distal fémur	9
Figure 2.6: Changements au niveau de la structure et composition du cartilage articulaire avec la dégénération	10
Figure 2.7: Score radiographique de Kellgren et Lawrence tenant compte à la fois des ostéophytes et du pincement de l'interligne articulaire. Source : adapté de Cooper et al., 1998.....	12
Figure 2.8: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération T2 d'un genou sain, d'un genou faiblement dégénéré et d'un genou sévèrement dégénéré. Les cartographies représentent le score Z qui est converti comme suit : chaque compartiment du cartilage est référencé aux valeurs normales de ce compartiment; les régions en jaune indiquent une augmentation de la valeur T2. Les cartographies montrent une augmentation de l'intensité du signal en pondération T2 avec la dégénération. Source : adapté de Dunn et al., 2004	14
Figure 2.9: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération T1ρ des condyles postérieurs. (a) d'un patient sain âgé de 30 ans; (b) d'une patiente atteinte d'arthrose précoce âgée de 27 ans. Les valeurs moyennes T1ρ sont de 40.05 ± 11.43 pour le patient sain et de 50.56 ± 19.26 pour la patiente atteinte d'arthrose. Source : Blumenkrantz et al., 2007	15
Figure 2.10: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération T1 avec ajout d'agent de contraste (dGEMRIC). Le panneau de gauche représente un genou blessé et le panneau de	

- droit un genou sain. On observe une perte de protéoglycanes (cartographie rougeâtre) dans le genou blessé comparativement au genou sain (cartographie plutôt verdâtre). Source : adapté de Kim et al., 2013 16
- Figure 2.11: Images obtenues à travers la tomодensitométrie avec agent de contraste (A) Image acquise immédiatement après l'injection de l'agent de contraste (image arthrographique). Les lésions du cartilage sont montrées par les flèches. (B) Image acquise après 45 minutes d'accumulation de l'agent de contraste dans l'articulation (image différée). (C) Image de la soustraction entre l'image arthrographique et l'image différée. La différenciation entre les lésions du cartilage et l'intégrité du cartilage adjacent est possible sur l'image soustraite. Source : Kokkonen et al., 2013 18
- Figure 2.12: Représentation schématique d'une échographie du genou pour la détection des changements du cartilage articulaire. Source : Saarakkala et al., 2012 19
- Figure 2.13: Échographie du genou droit d'une patiente de 67 ans qui a de la difficulté à marcher et qui est diagnostiquée avec l'arthrose. L'échographie révèle que son genou droit possède une épaisseur de cartilage normal au niveau de son condyle fémoral latéral: hypoéchoïque, structure allongée (représentée par les flèches) et une perte de l'épaisseur de son cartilage dans son condyle fémoral médial (entre les flèches rouges). Source : Artul et al., 2014..... 21
- Figure 2.14: Images représentantes des coupes histologiques de cartilage humain à différents niveaux de dégénération (a) aucune dégénération : surface intacte, bonne coloration de Safranin-O; (b) dégénération modérée : perte de coloration Safranin-O représentant une perte du contenu en protéoglycanes, irrégularités à la surface; (c) dégénération sévère : présence de fissures dans le cartilage, perte de la coloration de Safranin-O à la surface du cartilage. 23
- Figure 2.15: Arthroscopie du genou montrant trois différentes incisions pour l'arthroscope, la canule et l'instrument arthroscopique. Source : adapté de www.newhealthadvisor.com 24
- Figure 2.16: Lésions cartilagineuses d'un genou humain évaluées en arthroscopie par la classification d'Outerbridge. Source : Zhang et al., 2014..... 26
- Figure 2.17: Schéma des lésions cartilagineuses par sous-grades de la classification ICRS 27
- Figure 2.18: Classification ICRS pour la localisation des lésions. Source : Robert et al., 2007 ... 27
- Figure 2.19: Palpeur mécanique. Source : Smith & Newpew Division Endoscopique 28

- Figure 2.20: Images obtenues en tomographie par cohérence optique. Le grade A représente un cartilage intact avec des propriétés de biréfringence normale. Le grade B représente un cartilage avec une surface normale, mais avec des caractéristiques de biréfringence anormale. Le grade C représente un cartilage avec une surface irrégulière. Source : Bear et al., 2010.29
- Figure 2.21: Cartilage évalué par la classification ICRS comparativement aux paramètres extraits avec la sonde ultrasonore. Source : adapté de Kaleva et al., 201130
- Figure 2.22: Sonde ARTSCAN et ACTAEON pour l'évaluation in situ du cartilage articulaire par indentation. Source : Lyyra et al., 2005 et Niederauer et al., 2004.....31
- Figure 2.23: Phénomène électromécanique générant des potentiels d'écoulement dans le cartilage articulaire. Source : adapté de Garon et al., 200232
- Figure 2.24: Première matrice de microélectrodes. Des fils de platine/iridium ont été tissés à travers une maille de nylon. Le maillage contenant les électrodes a ensuite été coulé dans un cylindre époxy, dont la surface a été usinée pour exposer les électrodes. Le cylindre a ensuite été incorporé dans la base d'une chambre de test. Source : Garon et al., 200233
- Figure 2.25: Vue schématique de l'indentateur sphérique (rayon de 3.18 mm) comptant 37 microélectrodes distribuées uniformément sur la surface de l'indentateur. Une 38^e microélectrode, située en retrait, est utilisée comme référence lors de la mesure des potentiels d'écoulement. Une plus grosse électrode de polarisation est utilisée pour appliquer une tension de polarisation. Source : Garon, 200734
- Figure 2.26: Potentiels d'écoulements typiques mesurés à l'aide de l'Arthro-BST sur un cartilage d'origine bovine. Les potentiels d'écoulement mesurés sur chacune des microélectrodes commencent à diminuer au contact du cartilage. Les flèches indiquent l'instant où le contact se produit. Source : Garon, 2007.....35
- Figure 2.27: Représentation graphique de la variabilité entre les utilisateurs des mesures électromécaniques. Chaque point représente la moyenne de trois mesures obtenues par un utilisateur et la ligne, la moyenne des 5 utilisateurs. Les positions sont ordonnées selon un ordre croissant de la moyenne. Source : Garon, 2007.....36
- Figure 2.28: Distribution du potentiel électrique à la surface de l'indentateur en fonction de la vitesse de compression. Source : Quenneville, 200637

- Figure 2.29: Analyse des potentiels d'écoulement pour l'extraction du paramètre électromécanique selon l'ancienne et la nouvelle version37
- Figure 4.1: Trimming and fixation of the distal femur and central/posterior condyles onto the sample holder and cored sample with the position grid superimposed. (A) Distal femur cut horizontally with the band saw; (B) Fixation of the femur onto the cylindrical platform by screws positioned to remain at least 1 cm from the articular surface; (C) Central/posterior condyles cut with the band saw at the correct orientation; (D) Fixation of the central/posterior condyles onto the cylindrical platform by screws positioned to remain at least 1 cm from the articular surface; (E) Top view of the trochlea, anterior and central condyles cored; (F) Top view of the central/posterior condyles cored.....47
- Figure 4.2: (A) Arthro-BST device with the testing chamber and the camera-positioning software; (B) Arthro-BST manually compressing the cartilage surface; (C) Photograph of an osteochondral core used for cartilage thickness measurement; (D) Photograph of the osteochondral core maintained in the sample holder during mechanical characterization; (E) Mechanical tester equipped with manual angular and horizontal positioner.48
- Figure 4.3: (A, B, C) Representative Safranin O/Fast Green stained sections for three groups of the Mankin score and the corresponding electromechanical QP (mean \pm SD, N = 110 cores); (D, E) Representative Polarized Light Microscopy (PLM) slides for two groupings of the PLM score and the corresponding QP (mean \pm SD, N = 68 cores). Bars = 1 mm.53
- Figure 4.4: (A) Positive correlation between electromechanical QP and water content; (B) Negative correlation between electromechanical QP and GAG content (chondroitin sulfate per wet weight); (C) No correlation between electromechanical QP and collagen per dry weight; (D) No correlation between electromechanical QP and number of cells per wet weight.55
- Figure 4.5: (A) Negative correlation between electromechanical QP and fibril modulus E_f ; (B) Negative correlation between electromechanical QP and matrix modulus E_m ; (C) Positive correlation between electromechanical QP and permeability logk; (D) No correlation between the electromechanical QP and cartilage thickness obtained with a calibrated dissection microscope.56
- Figure 4.6: The electromechanical QP (logarithmic scale) correspondence with the 3 parameters showing the highest statistical correlations, i.e. Mankin score, Fibril Modulus E_f and GAG

content per wet weight based on multiple regression analysis. The solid portions of the blue, red, and green lines correspond to the measured QP in this study, i.e. from 6 to 22. The electromechanical QP increases from 7 to ~11 indicating slight cartilage degeneration corresponding to: i) Mankin scores increasing from 0 to 2, ii) Fibril modulus E_f decreasing from > 20 to ~ 10 MPa and, iii) GAG content decreasing from 68 to ~ 28 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Further increase of QP from 11 to 15 corresponds to: i) Mankin scores increasing from 2 to 5, ii) Fibril modulus E_f decreasing from 10 to $\sim 10^{-1}$ MPa and, iii) GAG content decreasing from 28 to ~ 5 $\mu\text{g}/\text{mg}$. QP values above 15 correspond to yet more advanced cartilage degeneration on histological, biomechanical and biochemical scales.60

Figure 5.1: Methods Summary. Articular surfaces were electromechanically mapped, macroscopically visually assessed and prepared for the automated indentation/thickness mapping as well as subsequent processing for mechanical, histological and biochemical analyses on osteochondral cores. The macroscopic visual assessment allowed defining three distinct regions on the articular surface. First, the encircled region of the abnormal cartilage (ICRS grade >0) was considered as region I. Then, region II was defined by delimiting the area (ICRS grade 0) surrounding region I. Finally, region III was defined as the remaining normal articular surface (ICRS grade 0). A representative example of one distal femur where osteochondral cores has been extracted and assigned to either region I, II or III. The indentation modulus (IM) was obtained using the thickness and an elastic model in spherical indentation.74

Figure 5.2: Panel a, b and c are representative Safranin-O/Fast Green stained sections for 3 Mankin scores and their corresponding IM (MPa) and corresponding QP (AU); Bars = 1 mm. Panel d and e display boxplots showing median values (central horizontal line), first and third quartiles (box) and 1.5 x interquartile range (bars). The number of cores in each Mankin score group for each characterization is shown in the corresponding graph next to the boxplot.79

Figure 5.3: All cores (statistical unit) extracted from 4 pairs of distal femurs and 4 pairs of tibial plateaus were used in the multiple regression model (mixed effects). This multiple regression analysis was conducted to compare the performance of the histological Mankin score, thickness, electromechanical QP, instantaneous modulus and unconfined compression parameters (fibril modulus, matrix modulus and permeability) in distinguishing between

regions I, II and III. The number of cores in each region for each characterization is shown above each bar. Region II is the surrounding 5 mm around region I. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$. Bar graph displays adjusted Least Squares Means and Standard Error outputs from the mixed effects model. The legend only shows a representative example of the three regions of one distal femur.....81

Figure 5.4: Effect sizes for the electromechanical QP, instantaneous modulus, thickness, histological Mankin score and unconfined compression assessment (fibril modulus, matrix modulus and permeability). Forest plot displays the effect size (difference between each region means divided by the pooled standard deviation) and their 95% confidence interval. The effect size analysis has been conducted without taking the within donor correlations into account. Forest plot highlights that QP and IM are the best performing technique with the three confidence interval furthest from the zero vertical line and the highest effect size, indicating greater sensitivity to distinguish early degeneration of cartilage.82

Figure 5.5: Representative mappings from two distal femurs from one female donor (46 year old female) and two tibial plateau from a male donor (54 year old male). a) QP mapping of one representative distal femur and tibial plateau with logarithmic scale from 4 to 30 AU; b) IM mapping of one representative distal femur and tibial plateau with logarithmic scale from 0.2 to 40 MPa; c) Thickness mapping of one representative distal femur and tibial plateau with linear scale from 1 to 5 mm. The three distinct delimited regions are drawn into the mappings where a red solid line delimits region I from region II and red dashed line delimits region II from region III. A distance of 5 mm surrounding region I is being represented in the figure for region II. Symmetric pattern (black arrowheads) are shown for both right and left joints of the same donor. A 60% transparency has been applied to the mapping layer so that some articular surface landmarks remain visible through it. Note that the associated scale has also been blended with 60% transparency with the average cartilage surface color (this allows for better matching of the scale colors to match those of the mapping).83

Figure 5.6: Parametric Pearson's r of entire mappings of distal femurs and tibial plateaus for electromechanical QP (a), instantaneous modulus IM (b) and thickness (c) mappings. Within-donor values are in the diagonal and consist of the comparison between the right and left knee of the same pair of joints. Between-donor values are shown off-diagonally and consist of the

comparison between the right and left knee of any pair of joints. A red-white-green color scale is used to show minimum to maximum correlation coefficient r values within each table. The correlation between the right knees of any between-donor joints have also been tested and resulted in similar conclusions.84

Figure 6.1: Flowchart of the creation of the electromechanical reference database 102

Figure 6.2: Box Plot of the electromechanical QP in function of ICRS grade and cartilage repair outcome (incomplete repair) for the posterior femoral condyles. ICRS grade 3 was separated in 2 sub-grades following the increase of lesion depth towards bone such as ICRS grade 3 and ICRS grade 3.5. An increase of the electromechanical QP can be observed from grade 0 to grade 3 while the electromechanical QP decreases from ICRS grade 3 and becomes 0 for ICRS grade 4. The same trend can be observed for all other knee articular surfaces. Incomplete repair of cartilage exhibits a lower electromechanical QP than normal cartilage (QP_{REF}) and is represented by the blue dotted line. Box plot shows median value (central horizontal solid line) and mean value (central horizontal dotted line), first and third quartiles (box) and 1.5 x interquartile range (bars). 107

Figure 6.3: Receiver Operating Characteristics (ROC) curves assessing the sensitivity and specificity of the electromechanical score in the differentiation between ICRS grades for different regional segmentation. The area under the curve (AUC) is reported for each regional segmentation. Four comparisons were investigated: 1 region being the knee, 4 regions being each articular surface, 5 regions being each articular surface but dividing the tibial plateau in 2 distinct regions such as covered and not covered by the meniscus and high-resolution regions (at least 50 regions per articular surface). 110

Figure 6.4: Software interface overview. After entering pertinent patient info and indicating which knee is under investigation, the user indicates to the software which of the 5 regional segment — distal femur (trochlea and anterior femoral condyles), posterior femoral condyles, patella, tibial plateau covered and not covered by the meniscus — will be characterized. The user provides input on the presence of cartilage repair or severe degeneration for that surface and indicates if he wishes to perform a detailed mapping. The device is then ready for measurement. Following each measurement, an electromechanical score is displayed. After completing all measurements over the articular surface, the software displays an average

electromechanical score and a relative frequency count for each electromechanical score segment. A mapping of the electromechanical score over the articular surface is also displayed. If needed, the user can repeat this process for another articular surface. 112

Figure 6.5: Scatter Plot of pooled data (from all positions of the 37 articular surfaces). A strong positive correlation can be observed between the electromechanical score and the ICRS grade. The presented electromechanical scores were calculated considering the high-resolution segmentation. Scatter plot shows mean value (grey marker) and standard deviation (error bars). 113

Figure 6.6: Scatter plot of the percentage of lesions found by the electromechanical score (Y-axis) and the percentage of lesions found by the ICRS grade (X-axis). Lesions are defined when the ICRS score or the electromechanical score is greater or equal to 1. The dotted line represents a perfect match between the two scores. The percentage of lesions detected by the electromechanical score is greater or equal to the one detected by the ICRS score. Distal femurs, patellas and tibial plateaus from OA asymptomatic donors are represented by square, diamond and circle markers respectively. Tibial plateaus from patients undergoing total knee replacement surgeries are represented by a triangle marker. 114

Figure 6.7: Representative mappings of the ICRS grade and electromechanical score for each type of articular surface. The mappings of the electromechanical score shows early degenerated regions (beige-yellowish regions with an electromechanical score between 0.5 and 2) not detected macroscopically by the surgeon (white regions with an ICRS grade of 0). Also, the degeneration stage seems more advanced when defined by the electromechanical score (orange-reddish regions with an electromechanical score between 2.5 and 3.5) than the ICRS grade (yellow and orange regions with an ICRS grade of 1 and 2 respectively) — as shown by the black arrows on the OA tibial plateau. The black dotted lines represent missing parts of the OA tibial plateau. 115

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

La liste des sigles et abréviations présente, dans l'ordre alphabétique, les sigles et abréviations utilisés dans la thèse ainsi que leur signification en français et en *anglais* lorsque pertinent.

AIB	<i>Apparent integrated backscatter</i> / Rétrodiffusion apparente intégrée
AU	<i>Arbitrary unit</i> / Unité arbitraire
AUC	<i>Area under the curve</i> / Aire sous la courbe
BMI	<i>Body mass index</i> / Indice de masse corporelle
CECT	<i>Contrast-enhanced computed tomography</i> / Tomodensitométrie à injection automatique de produit de contraste
cm	Centimètre
dGEMRIC	<i>Delayed gadolinium enhanced magnetic resonance imaging of cartilage</i> / Gadolinium retardé IRM Amélioré de l'incrément de cartilage
D	Diamètre
DMMB	<i>Dimethyl-methylene blue zinc</i> / Bleu de méthylène
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> / Acide désoxyribonucléique
E_f	Module élastique des fibrilles
E_m	Module élastique de la phase isotropique solide du cartilage
FCD	<i>Fixed charge density</i> / Densité de charges fixes
GAG	Glycosaminoglycane
Gd-DTPA	<i>Gadolinium-diethylenetriamine penta-acetic acid</i> / Acide diethylene triamine penta-acétique
H	Hauteur
HCl	<i>Hydrogen chloride</i> / Chlorure d'hydrogène
HPR	Hydroproxylene
ICC	<i>Intraclass correlation coefficient</i> / Coefficient de corrélation intraclasse

ICRS	<i>International Cartilage Repair Society</i>
IM	<i>Instantaneous modulus</i> / Module instantané
IRC	<i>Integrated reflection coefficient</i> / Coefficient de réflexion intégrée
IRM	Imagerie par résonance magnétique
k	Perméabilité hydraulique
m	Mètre
MEC	Matrice extracellulaire
MHz	Mégahertz
min	Minute
mg	Milligramme
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mN	Millinewton
MPa	Mégapascal
mV	Millivolt
N	Newton
OA	<i>Osteoarthritis</i> / Arthrose
ρ	Coefficient de Spearman
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i> / Solution saline physiologique tamponnée au phosphate
PLM	<i>Polarized light microscopy</i> / Microscopie en lumière polarisée
QP	<i>Quantitative parameter</i> / Paramètre quantitatif
QP _{REF}	Valeur moyenne des propriétés électromécaniques du cartilage sain
QP ₁	Valeur moyenne des propriétés électromécaniques du cartilage évalué ICRS 1
QP ₂	Valeur moyenne des propriétés électromécaniques du cartilage évalué ICRS 2

QP ₃	Valeur moyenne des propriétés électromécaniques du cartilage évalué ICRS 3
QP ₄	Valeur moyenne des propriétés électromécaniques du cartilage évalué ICRS 4
<i>r</i>	Coefficient de Pearson
R	<i>Reflection coefficient</i> / Coefficient de réflexion
RF	<i>Radiofrequency</i> / Radiofréquence
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i> / Caractéristique de performance
s	Seconde
SPI	<i>Streaming potentials integrals</i> / Intégrale du potentiel d'écoulement sur la surface de l'indentateur
T1	Temps de relaxation spin-réseau
T2	Temps de relaxation transversal
TE	Temps de l'écho
TKR	<i>Total knee replacement</i> / Remplacement total de genou
TR	Temps de répétition
UC	<i>Unconfined compression</i> / Compression non confinée
μg	Microgramme
μL	Microlitre
μm	Micromètre
URI	<i>Ultrasound roughness index</i> / Indice de rugosité ultrasonore

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

Le cartilage articulaire est un tissu très complexe qui recouvre les extrémités des os dans les articulations diarthroidales. Ce tissu est dépourvu de vascularisation et de nerfs et possède donc des capacités limitées de réparation (Buckwalter & Mankin, 1998a). Par conséquent, des dommages au cartilage articulaire peuvent initier la dégénération du tissu et favoriser le développement de l'arthrose (Lotz & Kraus, 2010). Cela étant dit, l'arthrose est une maladie dégénérative du système musculo-squelettique touchant des millions de personnes dans le monde entier (Litwic et al., 2013). Cette maladie se caractérise par une altération lente du cartilage articulaire. Aussi prévalente soit-elle, aucune évaluation quantitative de l'état de santé du cartilage articulaire n'est, à ce jour, revendiquée comme référence absolue (Spahn et al., 2013). En effet, les procédures diagnostiques conventionnelles se rapportent à l'examen de clichés radiographiques, des images de résonance magnétique ou par l'évaluation directe et qualitative du tissu à travers une procédure arthroscopique. Plus récemment, les procédures diagnostiques développées consistent à évaluer des images de résonance magnétique obtenues par des modalités raffinées (Peterfy et al., 2004; Wheaton et al., 2005), des images ultrasonores (Liukkonen et al., 2014; Podlipska et al., 2013; Sun et al., 2015; Viren et al., 2009), des techniques spectroscopiques (Afara et al., 2014; Spahn et al., 2010) ou des images tomographiques (Lakin et al., 2013; Xie et al., 2006). Or, aucune de ces techniques ne permet de quantifier directement les propriétés fonctionnelles du cartilage. En effet, le rôle principal du cartilage articulaire est d'assurer un minimum de friction dans l'articulation et une répartition des forces générées vers les os. Ainsi, l'évaluation quantitative de la capacité fonctionnelle du cartilage est primordiale pour développer une technique de diagnostic hors pair.

Notre groupe de recherche étudie les propriétés électromécaniques du cartilage depuis plus d'une dizaine d'années. Les propriétés électromécaniques proviennent d'un phénomène d'échange tissulaire, soit le potentiel d'écoulement. Ce potentiel d'écoulement tient origine de la nature même du cartilage articulaire. Effectivement, le cartilage est composé de protéoglycanes chargés négativement et entrelacés dans un réseau de fibres de collagène, baignant dans le fluide interstitiel et présentant un excès d'ions mobiles chargés positivement pour maintenir l'électroneutralité du tissu. Dans un état d'équilibre, soit en absence de chargement mécanique, la distribution de ces charges électriques ne génère aucun champ électrique macroscopique. Par

contre, lors d'un chargement mécanique, des potentiels électriques sont induits par le déplacement des charges mobiles positives du fluide par rapport aux charges négatives immobiles de protéoglycanes. À la lumière des recherches, les propriétés électromécaniques du cartilage se sont avérées non seulement représentatives de ses propriétés fonctionnelles, mais également de ses propriétés structurelles (Buschmann & Grodzinsky, 1995; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). Dans cette perspective, un dispositif médical a été développé, à travers deux projets de doctorat (Garon, 2007; Quenneville, 2006), pour l'évaluation quantitative du cartilage articulaire du genou humain. Ce dispositif médical mesure les propriétés électromécaniques durant une procédure arthroscopique.

Cela dit, le genou est l'articulation d'intérêt de ce travail. En effet, l'arthrose du genou, aussi appelé gonarthrose, est notoire et entraîne de lourdes conséquences sur le plan des incapacités fonctionnelles et motrices (Cross et al., 2014). Ainsi, l'objectif général de ce projet est donc de transformer le dispositif actuel en un outil de diagnostic quantitatif de la dégénération du cartilage de surfaces articulaires du genou humain. Un premier objectif était d'examiner la corrélation des propriétés électromécaniques avec des techniques conventionnelles telles que l'histologie, la biochimie et la mécanique. Un second objectif était d'obtenir la sensibilité du paramètre électromécanique dans la dégénération précoce du cartilage qui n'est pas détectable par les techniques conventionnelles. Finalement, le troisième objectif vise à développer une banque de données des propriétés électromécaniques du cartilage provenant de surfaces articulaires saines du genou et à développer un algorithme de diagnostic se fondant sur les propriétés électromécaniques en fonction de la dégénération du cartilage. Cela implique évidemment l'étude de la robustesse de cette fonctionnalité diagnostic du cartilage articulaire.

Organisation de la thèse

Cette thèse compte six chapitres. Le premier chapitre passe en revue la littérature nécessaire à la compréhension des connaissances actuelles du projet. Le second chapitre, quant à lui, aborde la rationalité du projet et les objectifs spécifiques qui permettent de vérifier les hypothèses scientifiques. Les trois chapitres subséquents constituent le noyau du travail en présentant des articles scientifiques qui répondent aux objectifs établis précédemment. Le troisième chapitre traite le premier article scientifique intitulé « *Non-Destructive Electromechanical Assessment (Arthro-BST) of Human Articular Cartilage Correlates with Histological Scores and Biomechanical*

Properties » publié dans la revue *Osteoarthritis and Cartilage*. Cette étude examine la corrélation des propriétés électromécaniques avec les techniques conventionnelles d'histologie, de biochimie et de tests mécaniques en compression non confinée du cartilage articulaire provenant de genoux humains cadavériques. Le quatrième chapitre comprend le second article intitulé « *Electromechanical Probe and Automated Indentation Maps are Sensitive Techniques in Assessing Early Degenerated Human Articular Cartilage* » publié dans la revue *Journal of Orthopedic Research*. Cet article analyse la sensibilité à détecter la dégénération précoce du cartilage articulaire humain grâce à deux techniques de cartographie, soit la sonde arthroscopique mesurant les propriétés électromécaniques (faisant l'objet de cette thèse) et une technique d'indentation automatisée développée par la compagnie Biomomentum Inc. Le cinquième chapitre présente le troisième article scientifique intitulé « *Development of an Electromechanical Score to Assess Human Knee Articular Cartilage Degeneration* » soumis au journal *Annals of Biomedical Engineering*. Cet article expose le processus de développement de la fonctionnalité diagnostic de l'Arthro-BST ainsi que la vérification de sa fiabilité à diagnostiquer des surfaces articulaires humaines présentant différents stades de dégénération du cartilage. Finalement, le sixième chapitre porte sur une discussion générale reliant les travaux et les résultats afin de mettre en perspective la contribution scientifique de cette thèse. Des recommandations sur la poursuite des recherches dans le même ordre d'idée sont présentées à la fin.

CHAPITRE 2 REVUE CRITIQUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Cartilage articulaire

Le cartilage articulaire est de type hyalin et se retrouve à la surface des os d'une articulation (Figure 2.1). C'est un tissu conjonctif hautement spécialisé d'une apparence lisse et translucide lorsqu'il est sain. Le cartilage a comme rôle essentiel d'amortir et de répartir les forces tout en assurant un bon glissement entre les parties osseuses articulaires avec un coefficient de friction très bas. Ces caractéristiques biomécaniques particulières proviennent essentiellement de la composition et de la structure du tissu cartilagineux.

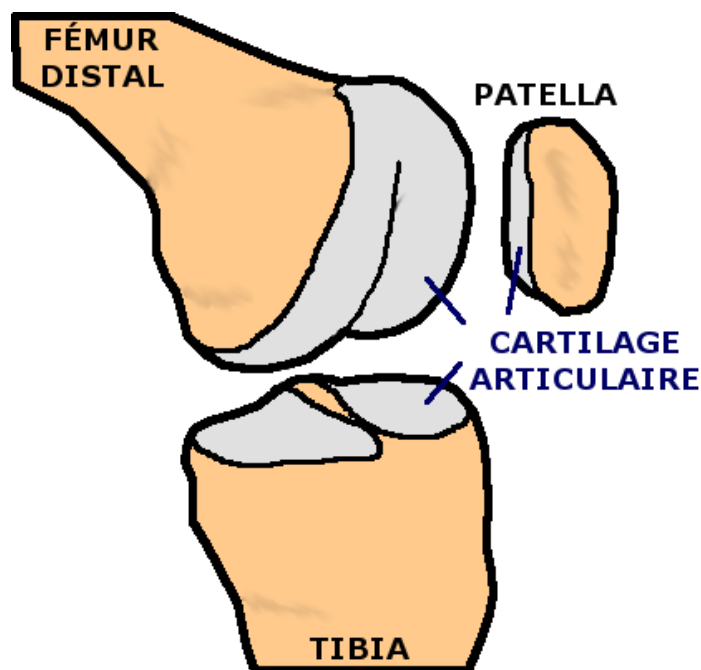


Figure 2.1: Schéma représentant le cartilage articulaire du genou

2.1.1 Composition du cartilage articulaire

Le cartilage articulaire est composé de cellules spécialisées, soit de chondrocytes, et d'une matrice extracellulaire (MEC). C'est un tissu absent de vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi que de nerfs. Contrairement à d'autres tissus mous, il est relativement hypocellularisé. Seulement 1% du volume total de cartilage est représenté par les chondrocytes qui produisent la MEC, ce réseau moléculaire hautement organisé, qui offre au cartilage ses propriétés mécaniques exceptionnelles (Buckwalter & Mankin, 1998b). Les composants principaux de la MEC sont : l'eau et les

macromolécules, telles que des collagènes, des protéoglycane et des protéines non collagéniques (Buckwalter & Mankin, 1998b). Le contenu en eau du cartilage peut correspondre jusqu'à 60 à 80% de son poids humide alors que les macromolécules contribuent aux 20 à 40% restant (Buckwalter & Mankin, 1998b). Les protéoglycane sont des molécules formées par une protéine porteuse à laquelle sont branchées des molécules de glycosaminoglycane (GAG) et de longues chaînes disaccharidiques de chondroïtine-sulfate et de kératine-sulfate. Les GAG sont des molécules chargées négativement en raison des sulfates carboxyles (Figure 2.2).

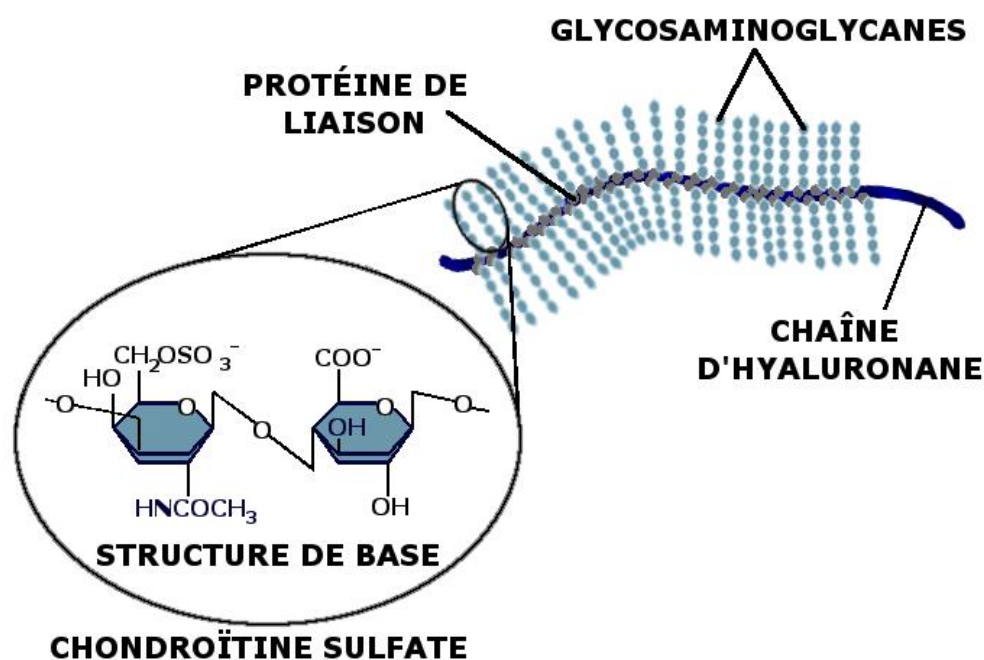


Figure 2.2: Schéma représentant une molécule de protéoglycane et de glycosaminoglycane chargée négativement composée de chaînes de chondroïtine-sulfate et de kératine-sulfate

Un autre composant de la matrice extracellulaire est le collagène qui est assemblé en un réseau très structuré et intègre dans le cartilage (Buckwalter & Mankin, 1998b). Le collagène spécifique du cartilage est de type II (Huber et al., 2000). Les protéoglycane ont la capacité de former de larges agrégats et se lient aux molécules d'eau du tissu environnant afin de provoquer un gonflement du cartilage. D'autre part, le réseau de fibres de collagène résiste à ce gonflement en créant une pression osmotique à l'intérieur du cartilage, aidant ainsi à distribuer les forces et augmenter la durabilité du cartilage (Huber et al., 2000).

2.1.2 Structure et intégrité du cartilage articulaire

Le cartilage articulaire est divisé morphologiquement en quatre zones (Figure 2.3):

1. La zone superficielle
2. La zone transitionnelle
3. La zone profonde
4. La zone calcifiée

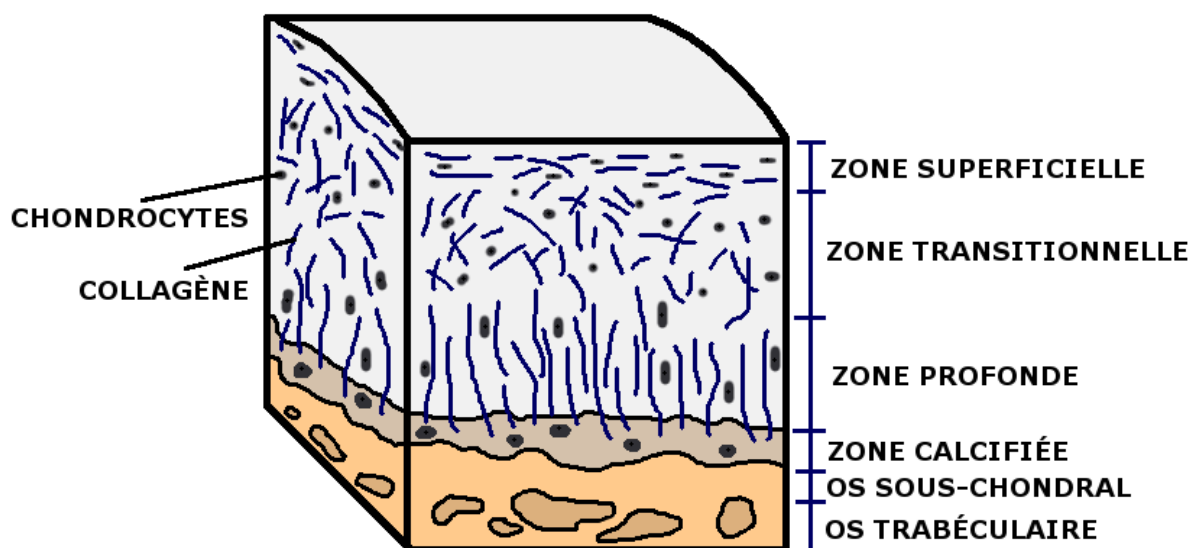


Figure 2.3: Schéma représentant la structure organisationnelle du cartilage articulaire, soit la zone superficielle, la zone transitionnelle, la zone profonde et la couche calcifiée

Ces différentes couches du cartilage correspondent à des teneurs distinctes des composants de la matrice extracellulaire et à une organisation variable des fibres de collagène dans chaque couche. Une telle organisation suggère que les fibres de collagène sont structurées en arceaux dont les extrémités s'ancrent dans la couche calcifiée et dont la courbure se situe dans les couches tangentiels et superficielles formant ainsi une armature au tissu cartilagineux.

La zone superficielle possède la moins grande concentration en protéoglycanes alors que les fibres de collagène sont denses et placées de manière tangentielle à la surface du cartilage (Hunziker et al., 2002). Les chondrocytes sont alignés avec les fibres de collagène et possèdent une apparence allongée et plate (Jasin, 1995). La zone tangentielle présente une concentration un peu plus élevée en protéoglycanes, les fibres de collagène sont plus épaisses et orientées de manière plus aléatoire. De plus, les cellules ont une apparence plus ronde (Hunziker et al., 2002). La zone profonde, quant

à elle, est caractérisée par des fibres de collagène les plus épaisses et orientées perpendiculairement à l'interface os-cartilage. La concentration en protéoglycanes est également la plus grande. Les chondrocytes ont une apparence plus ronde et forment des colonnes alignées aux fibres de collagène (Hunziker et al., 2002). De plus, il existe un gradient du contenu en eau dépendant de la profondeur, qui est inversement proportionnel à la distribution de protéoglycanes. Ce gradient en contenu en eau passe de son maximum dans la zone superficielle à son minimum dans la zone profonde (Aydelotte & Kuettner, 1988). La zone calcifiée représente une interface entre le cartilage et l'os sous-chondral et elle est constituée de cartilage calcifié. Cette limite de la calcification est définie par la présence d'une ligne bordante ondulée et hyperminéralisée et cette zone calcifiée possède des chondrocytes hypertrophiés (Hwang et al., 1990).

2.2 Dégénération du cartilage

La structure et la composition du cartilage changent constamment avec l'environnement mécanique (Arokoski et al., 2000). De plus, compte tenu que le cartilage articulaire soit dépourvu de vaisseaux sanguins, de vaisseaux lymphatiques et de nerfs, il possède des capacités de régénération très limitées. Ainsi, il est très probable que ce tissu soit affecté par des maladies dégénératives. Des facteurs tels que des traumatismes, des blessures, une anomalie d'alignement articulaire, l'obésité, le vieillissement ou la présence d'inflammation dans l'articulation peuvent compromettre la santé du cartilage articulaire (Heidari, 2011). Ces facteurs entraînent des contraintes anormales sur le cartilage et des processus métaboliques irréguliers qui culminent éventuellement vers l'arthrose, une maladie dégénérative du système musculo-squelettique, caractérisée par une dégradation du cartilage articulaire. L'arthrose est la forme la plus commune de maladies des articulations dans le monde (Oliveria et al., 1995). Toutes les articulations peuvent y être affectées, mais l'arthrose du genou (gonarthrose) reste celle qui entraîne le plus gros fardeau sur la société. À ce jour, l'arthrose est considérée comme une maladie impliquant l'articulation entière, incluant des changements au niveau du cartilage, de l'os, de la membrane synoviale et des tissus mous environnants (Figure 2.4).

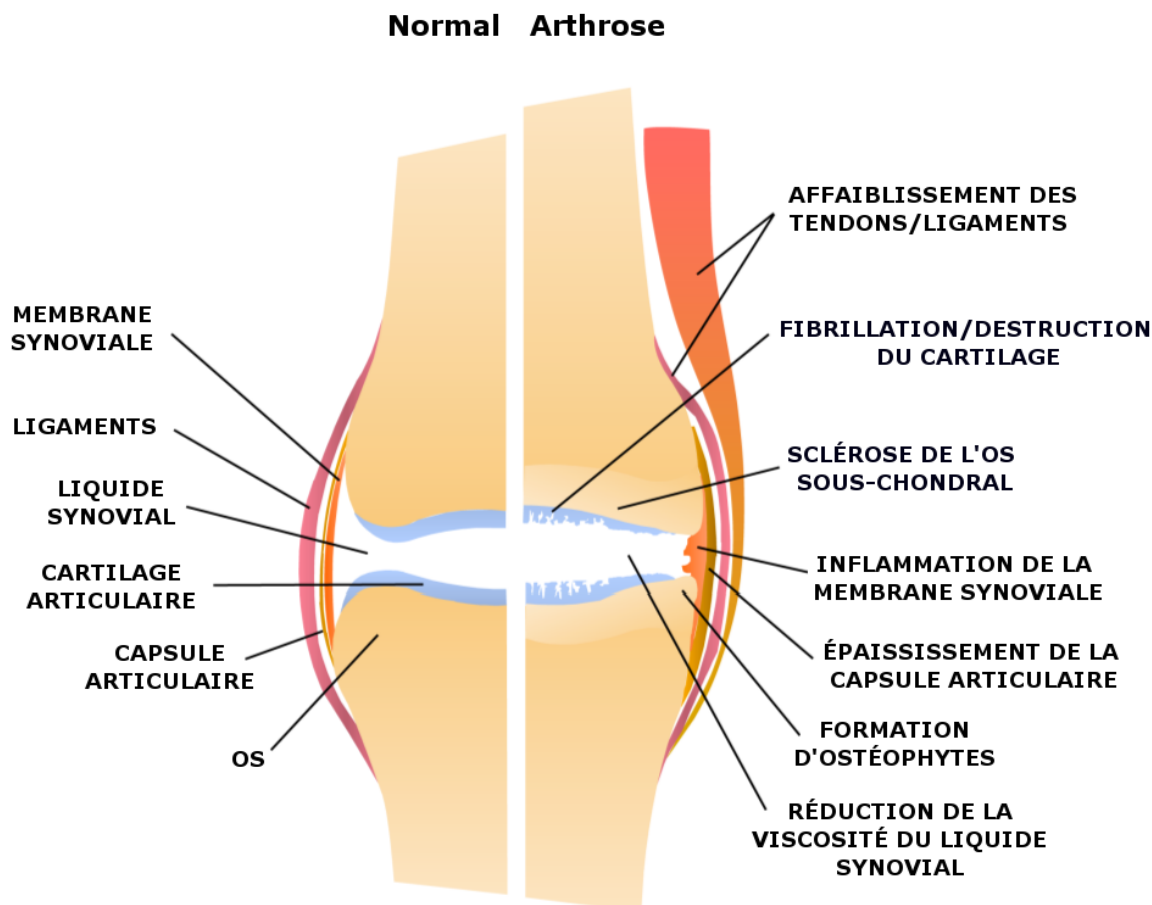


Figure 2.4: Structures de l'articulation du genou affectées par l'arthrose. Le panneau gauche montre une articulation saine. Le panneau droit montre une articulation arthrosique. Source : adapté de de Boer, 2012

2.2.1 Caractéristiques macroscopiques de l'arthrose

L'arthrose est caractérisée par une dégradation du cartilage articulaire qui consiste à la présence de fibrillation et de fissures jusqu'à l'érosion du tissu (Bullough, 2004) (Figure 2.5). De plus, le cartilage articulaire devient plus mou en raison d'une perte de protéoglycanes et d'intégrité du réseau de fibres de collagène. Ainsi, la progression générale de l'arthrose est définie comme suit (Pritzker et al., 2006) :

- a) Dans les premiers stades de l'arthrose, des fibrillations superficielles sont présentes et des fissures microscopiques s'étendent de la surface du cartilage à la zone superficielle.

- b) Avec la progression de la maladie, ces fissures s'étendent plus profondément dans le tissu formant ainsi de larges fissures verticales.
- c) Ces fissures s'étendent et se croisent créant ainsi des fragments dans la zone superficielle du cartilage. Ces fragments sont ensuite délamérés de la zone tangentielle par des forces de cisaillement. Ainsi, le tissu sous-jacent continue de s'éroder avec la progression de la maladie.
- d) Dans les derniers stades de la maladie, le cartilage est complètement usé jusqu'à voir la présence de la couche calcifiée et même l'os sous-chondral.

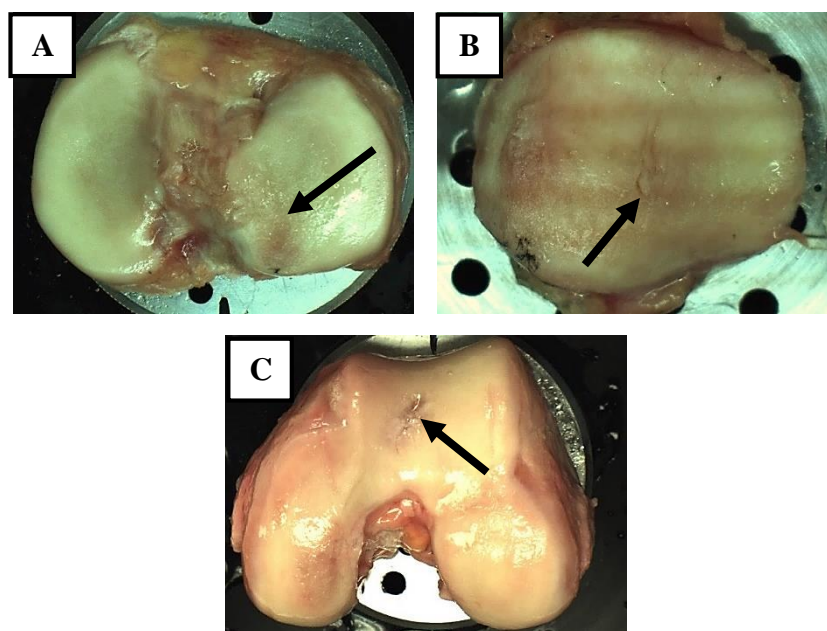


Figure 2.5: Caractéristiques macroscopiques de la dégénération du cartilage articulaire. A) Présence de fibrillation sur le tibial plateau B) Présence de fissures sur la patella C) Présence d'érosion du cartilage sur le distal fémur

2.2.2 Changements structurels et compositionnels

L'arthrose est caractérisée par des changements structurels et compositionnels du cartilage articulaire (Figure 2.6). Le contenu en protéoglycanes semble être maintenu dans les premiers stades de la maladie, mais il y a une perte progressive de protéoglycanes en fonction de la progression de la maladie (Saarakkala et al., 2010). En effet, la longueur de la protéine porteuse est réduite à cause d'une dégradation protéolytique. Ainsi, une plus grande proportion de protéoglycanes est libre des complexes hyaluroniques et les chaînes sulfatées de

glycosaminoglycanes sont altérées (Inerot et al., 1978). Ces modifications au niveau de la structure et composition des protéoglycanes dues à la progression de la maladie, conduisent vers un changement significatif de la densité de charges fixes et ainsi, vers une augmentation de la perméabilité de la matrice extracellulaire lorsque le cartilage est dégradé (Palmer et al., 2006). De plus, au niveau du réseau de collagène, l'arthrose est caractérisée par une dégradation de ce réseau à la surface du cartilage (Saarakkala et al., 2010). Ensuite, avec la progression de la maladie, cette dégradation continue plus profondément dans le tissu entraînant une perte de l'organisation du réseau de collagène dépendante de la profondeur (Hollander et al., 1995). Malgré cette dégradation dans l'organisation du réseau de collagène, le contenu en collagène n'est pas affecté jusqu'aux derniers stades de la maladie (Saarakkala et al., 2010). Depuis des décennies, plusieurs études histologiques ont démontré un changement significatif dans la structure et le contenu des protéoglycanes en présence d'arthrose (Malemud, 1991; McDevitt & Muir, 1976). Au niveau des chondrocytes, lors des premiers stades de la maladie, les cellules semblent intactes et maintiennent leur morphologie qui dépend de la profondeur du cartilage. Cependant, il peut avoir un commencement de prolifération et d'hypertrophie des cellules et même une mort cellulaire (Pritzker et al., 2006). En fonction de la progression de la maladie, ces irrégularités s'accroissent et les cellules deviennent plus désorganisées (Pritzker et al., 2006).

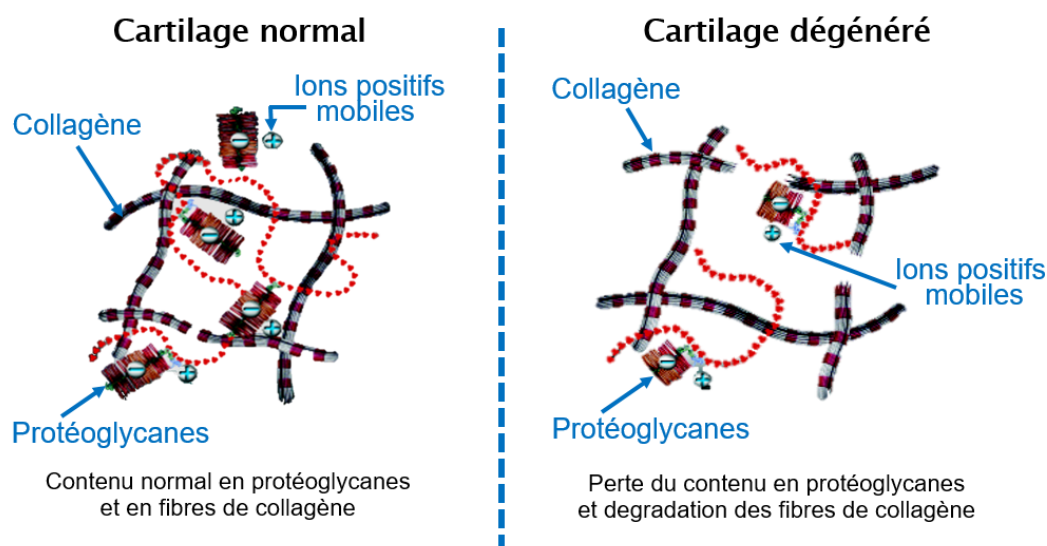


Figure 2.6: Changements au niveau de la structure et composition du cartilage articulaire avec la dégénération

2.3 Évaluation du cartilage articulaire

Plusieurs techniques permettent d'évaluer et de diagnostiquer la dégénération du cartilage articulaire. Ces fins d'évaluation sont basées principalement sur la radiographie, l'imagerie par résonance magnétique, la tomodensitométrie et l'échographie. Ces techniques sont plutôt considérées de première ligne, car elles sont non invasives et permettent au chirurgien de visualiser et d'évaluer grossièrement le cartilage articulaire. Par contre, l'arthroscopie est une technique de seconde ligne qui permet une évaluation plus poussée, mais invasive, car elle offre une visualisation directe du cartilage articulaire.

2.3.1 Évaluations non invasives

2.3.1.1 Radiographie

La radiographie à rayons X est la méthode d'évaluation la plus conventionnelle et la plus utilisée en raison de son faible coût et de sa grande disponibilité (Ravaud et al., 1999). Or, la radiologie conventionnelle évalue mal les tissus mous, soit le cartilage, contrairement aux structures osseuses. Ainsi, les clichés radiographiques du genou permettent d'évaluer indirectement l'état du cartilage articulaire à travers le rétrécissement de l'interligne articulaire, la présence d'ostéophytes et de kystes sous-chondraux, la sclérose de l'os sous-chondral au niveau des surfaces portantes, les changements de forme de l'os et les mal alignements (Rogers et al., 1990; Zhang et al., 2010). Principalement, ces modifications sont notées par un système standard nommé le score de Kellgren et Lawrence (Kellgren & Lawrence, 1957). C'est une échelle de cinq catégories, soit le grade 0 qui définit une articulation normale; le grade 1 qui est caractérisé par le début de formation d'ostéophytes sur les proéminences; le grade 2 qui définit une diminution modérée de l'interligne articulaire et une sclérose modérée de l'os sous-chondral; le grade 3 qui représente une diminution de plus de 50% de l'interligne articulaire, une sclérose avancée de l'os sous-chondral et une quantité importante d'ostéophytes; finalement le grade 4 qui est caractérisé par une destruction de l'articulation, un pincement important de l'interligne articulaire, la présence de kystes sous-chondraux et un désalignement de l'articulation (Figure 2.7). Cependant, la radiologie présente plusieurs désavantages comme son incapacité à évaluer directement le cartilage articulaire ou d'autres tissus mous et à évaluer l'articulation en trois dimensions. De plus, plusieurs auteurs

s'entendent sur le manque de corrélation entre les symptômes de l'arthrose et les signes radiographiques (Hannan et al., 2000; Teichtahl et al., 2008).

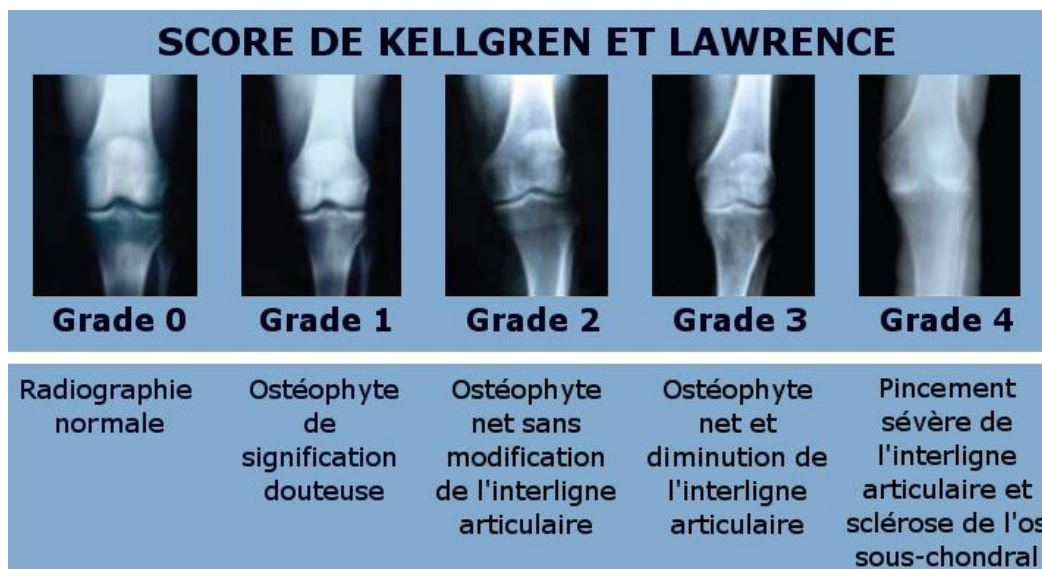


Figure 2.7: Score radiographique de Kellgren et Lawrence tenant compte à la fois des ostéophytes et du pincement de l'interligne artriculaire. Source : adapté de Cooper et al., 1998

2.3.1.2 Imagerie par résonance magnétique

L'imagerie par résonance magnétique (IRM), quant à elle, permet de visualiser l'articulation du genou en trois dimensions. Par ailleurs, elle permet une évaluation directe du cartilage, des os et des structures intra et extra articulaires. En revanche, l'IRM coûte plus cher que la radiographie, mais elle est plus sensible aux changements morphologiques survenant dans l'articulation causés par la maladie (Koster et al., 2011). Par contre, les changements morphologiques ne permettent pas de détecter précocement l'arthrose, car ces changements (amincissement du cartilage ou présence de lésions) ne sont pas toujours présents dans les premiers stades de la maladie (Zhang et al., 2013). Des nouvelles modalités d'imagerie mesurant la composition biochimique du cartilage plutôt que des mesures de volume (épaisseur) ont démontré des résultats prometteurs. En effet, l'IRM se base sur la présence de protons d'hydrogène dans les tissus imagés et de leurs propriétés magnétiques (Moonen et al., 1990). Il s'agit d'observer la réponse de ces protons d'hydrogène lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique externe et à une excitation électromagnétique. L'excitation des protons se fait selon des séries successives d'impulsions radiofréquences (RF) appelées « séquences d'excitation ». Le temps de l'écho (TE) est l'intervalle de temps entre l'excitation et

le recueil du signal et le temps de répétition (TR) est l'intervalle de temps écoulé entre deux excitations. Selon les paramètres TE et TR, plusieurs pondérations sont possibles, entre autres les pondérations ρ , T2 et T1, qui permettent d'identifier les tissus avec un niveau de contraste différent. Ainsi, l'IRM est sensible aux changements dans le contenu en eau et donc, à l'hydratation du tissu. La technique est donc capable de mesurer le fluide interstitiel qui augmente dans les premiers stades de la maladie et qui diminue avec l'aggravation de la maladie. Ce changement au niveau du fluide peut être observé à travers les pondérations T2 et T1 (Mathur-De Vre, 1984).

Pondération T2

La pondération T2 est obtenue grâce à un long TR et un long TE et est sensible à l'hydratation du tissu et à sa composition biochimique. En effet, l'immobilisation des molécules d'eau dans le cartilage par la matrice de collagène-protéoglycanes favorise le temps de relaxation T2. Ainsi, cela rend le cartilage moins intense dans les images pondérées en T2 alors que la mobilité des molécules d'eau dans le liquide synoviale conserve leur haute intensité (Figure 2.8). Ceci étant dit, la dégénération du cartilage caractérisée par une rupture du réseau de collagène et une perte de protéoglycanes augmentent la mobilité des molécules d'eau. Cela augmente donc l'intensité du cartilage sur les images pondérées en T2 (Konig & van Kaick, 1987). De plus, le signal d'intensité sera d'autant plus grand avec la progression de la dégénération, car il y a une augmentation du contenu en eau (gonflement) accompagné d'une perte d'intégrité de la matrice extracellulaire du cartilage (Lehner et al., 1989). Des études *in vitro* ont démontré clairement une corrélation entre les mesures en pondération T2 et le contenu en eau du cartilage et l'intégrité de son réseau de collagène (Blumenkrantz & Majumdar, 2007; Mosher & Dardzinski, 2004). Par contre, la corrélation entre les mesures en pondération T2 et le contenu en protéoglycanes demeure controversée et reste à être investiguée. Or, la dégradation des fibres de collagène apparaît après la réduction du contenu en glycosaminoglycanes et ainsi la pondération T2 ne permet pas une détection précoce de l'arthrose.

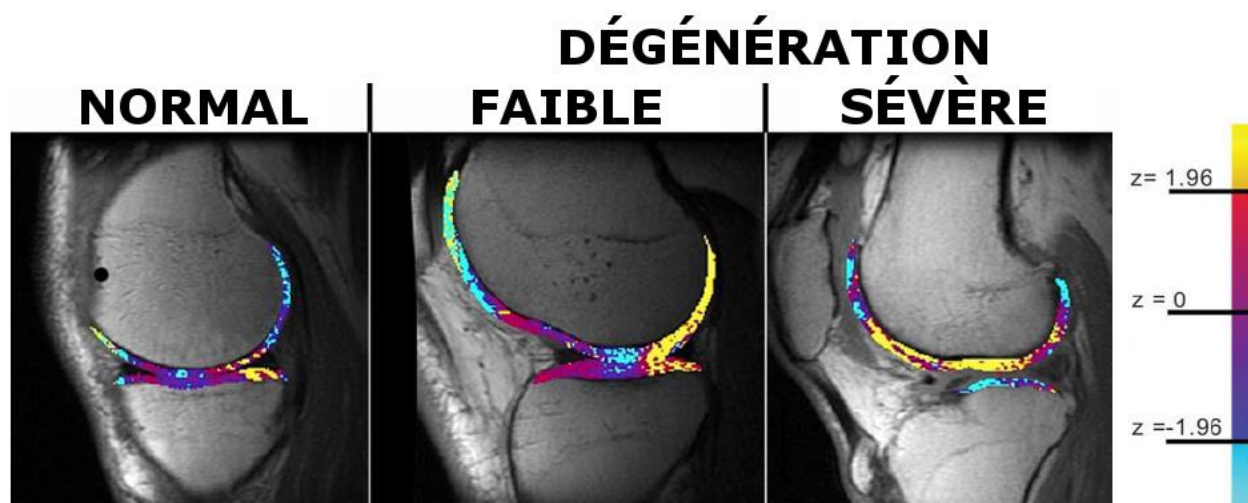


Figure 2.8: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération T2 d'un genou sain, d'un genou faiblement dégénéré et d'un genou sévèrement dégénéré. Les cartographies représentent le score Z qui est converti comme suit : chaque compartiment du cartilage est référencé aux valeurs normales de ce compartiment; les régions en jaune indiquent une augmentation de la valeur T2. Les cartographies montrent une augmentation de l'intensité du signal en pondération T2 avec la dégénération. Source : adapté de Dunn et al., 2004

Pondération T1 ρ

La pondération T1 ρ est obtenue en mesurant le temps de relaxation longitudinale dans le cadre rotatoire et elle est reliée aux pondérations T1 et T2. La pondération T1 ρ est bien adapté pour évaluer le contenu en macromolécules du cartilage dans des champs statiques élevés (Akella et al., 2001). Puisque le cartilage est constitué de protéoglycanes, qui est une macromolécule composée de plusieurs chaînes de glycosaminoglycanes, la pondération T1 ρ permet de bien détecter le contenu en protéoglycanes du cartilage (Figure 2.9). Des études *in vitro* ont évalué la relation entre le temps de relaxation T1 ρ et la composition biochimique du cartilage (Blumenkrantz & Majumdar, 2007). Entre autres, une étude *in vivo* a démontré une augmentation des valeurs T1 ρ dans le cartilage de patients atteints d'arthrose comparativement à des patients sains (Li et al., 2005b; Regatte et al., 2004).

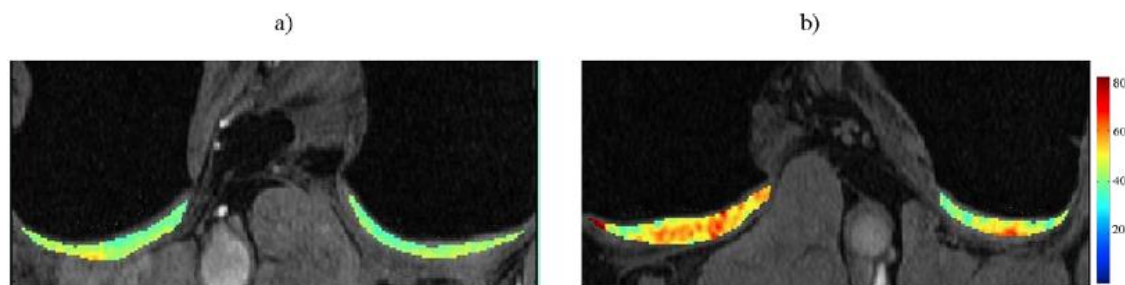


Figure 2.9: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération $T1\rho$ des condyles postérieurs. (a) d'un patient sain âgé de 30 ans; (b) d'une patiente atteinte d'arthrose précoce âgée de 27 ans. Les valeurs moyennes $T1\rho$ sont de 40.05 ± 11.43 pour le patient sain et de 50.56 ± 19.26 pour la patiente atteinte d'arthrose. Source : Blumenkrantz et al., 2007

Imagerie dGEMRIC

Une nouvelle modalité, nommée dGEMRIC, utilise un agent de contraste chargé positivement qui s'accumule dans le cartilage, qui lui est chargé négativement dû à son contenu en glycosaminoglycanes (Bashir et al., 1996). La technique se fait en pondération T1. En effet, une des altérations dans le cartilage, dans les stades précoces de l'arthrose, est un changement de la densité de charges fixes (FCD) dans le tissu en raison d'une diminution de la concentration des GAGs (Figure 2.10). Ainsi, les changements dans le contenu en protéoglycanes du cartilage peuvent être détectés par des différences dans l'absorption de l'agent de contraste chargé positivement tel que le $Gd-DTPA^{2-}$ (Bashir et al., 1996). Le principal désavantage de cette modalité provient de l'utilisation d'un agent de contraste qui est injecté par intraveineuse qui augmente son coût d'utilisation et qui peut potentiellement être dangereux pour les patients ayant un dysfonctionnement rénal. De plus, le temps d'examen est extrêmement long puisqu'un délai est requis pour atteindre un état d'équilibre entre le cartilage et l'agent de contraste. Ainsi, l'imagerie par résonance magnétique permet une utilisation limitée dans le diagnostic de l'arthrose et des lésions du cartilage à cause de son prix très élevé, des temps d'acquisition très longs et de sa disponibilité restreinte.

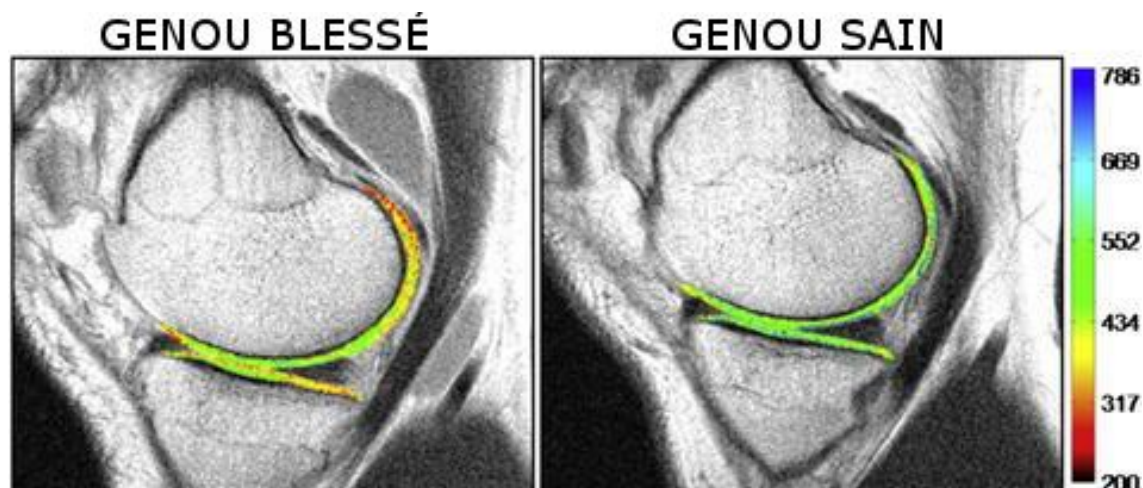


Figure 2.10: Cartographies IRM représentatives obtenues en pondération T1 avec ajout d'agent de contraste (dGEMRIC). Le panneau de gauche représente un genou blessé et le panneau de droit un genou sain. On observe une perte de protéoglycanes (cartographie rougeâtre) dans le genou blessé comparativement au genou sain (cartographie plutôt verdâtre). Source : adapté de

Kim et al., 2013

2.3.1.3 Tomodensitométrie

Une autre forme d'imagerie médicale permettant d'examiner le cartilage articulaire non invasivement est la tomodensitométrie. Le scanner est composé d'une source de voltage (tube) qui génère et projette des rayons X à travers le patient. Une série de détecteurs, positionnés à l'opposé du tube, mesure la quantité de rayons X résiduels qui sont reçus après avoir traversé le corps étudié. Un logiciel mesure le rapport entre la quantité de rayons envoyé par le tube et la quantité de rayons ressortis du corps étudié. Ce rapport permet de déduire la densité de la région traversée par les rayons. Grâce au traitement informatique de ces données, des images anatomiques précises sont générées. La tomodensitométrie permet d'obtenir des tranches successives de l'articulation. Donc, s'il y a présence d'anomalie, elle peut être détectée selon sa profondeur avec exactitude. De plus, ces tranches successives permettent de générer des images 3D du corps étudié. Tout comme l'imagerie en résonance magnétique, la tomodensitométrie peut être réalisée avec ou sans agent de contraste. En effet, la tomodensitométrie ne permet pas une visualisation directe du cartilage articulaire dans les articulations intactes, ni d'évaluer sa composition chimique ou ses propriétés mécaniques, puisque le cartilage est principalement constitué d'eau et donc radiolucent. Ainsi, l'ajout d'un agent de contraste permet d'examiner le cartilage et ainsi pourrait évaluer son

épaisseur, sa morphologie, sa composition chimique et ses propriétés mécaniques. Le principe de la tomодensitométrie avec agent de contraste (CECT) repose sur le même principe que la technique dGEMRIC de l'IRM où l'agent de contraste va diffuser à travers le cartilage proportionnellement avec la densité de charges fixes du cartilage qui proviennent des glycosaminoglycanes (Silvast et al., 2009). En effet, des études *in vivo* ont démontré que la dégénération du cartilage peut être détectée sur les images différées de CECT par une augmentation de la concentration de l'agent de contraste dans le cartilage (Kokkonen et al., 2014). Les mesures quantitatives de CECT sont calculées en soustrayant l'image native (immédiatement après injection de l'agent de contraste) de l'image différée, soit acquise après un certain délai suite à l'injection de l'agent de contraste dans le cartilage (Figure 2.11). Cette soustraction permet de déterminer quantitativement la diffusion de l'agent de contraste dans le cartilage (Kokkonen et al., 2014). Or, ce protocole nécessite l'exposition du patient à une double exposition aux rayons X, une pour acquérir l'image arthrographique et une autre pour acquérir l'image différée. Ainsi, cette limite doit être grandement considérée pour une utilisation en clinique. Alors que la tomодensitométrie avec agent de contraste possède des avantages significatifs tels qu'un temps d'acquisition court, une relativement large disponibilité et un faible coût (Oei et al., 2014), il existe des inquiétudes concernant l'exposition aux rayonnements ainsi qu'à l'utilisation d'un agent de contraste injecté intra-articulaire.

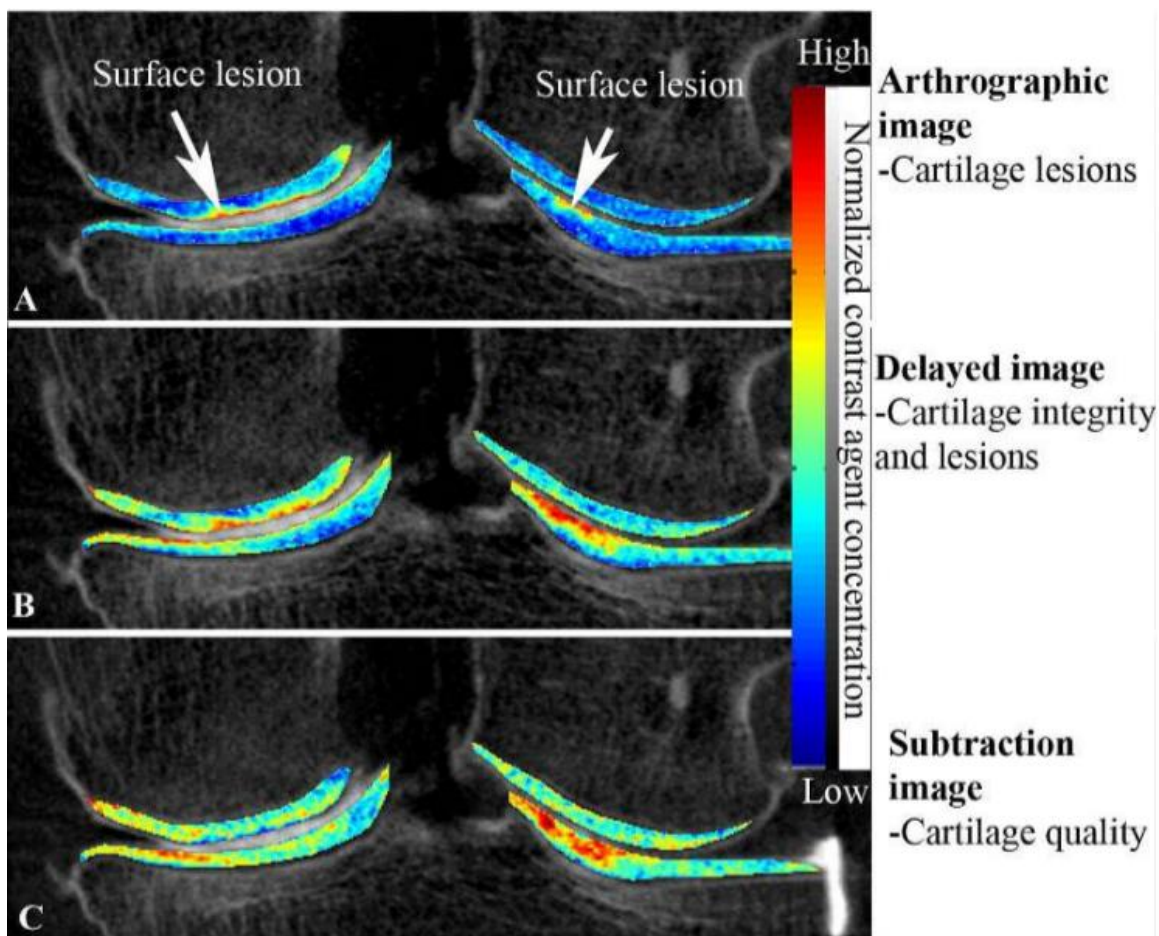


Figure 2.11: Images obtenues à travers la tomодensitométrie avec agent de contraste (A) Image acquise immédiatement après l'injection de l'agent de contraste (image arthrographique). Les lésions du cartilage sont montrées par les flèches. (B) Image acquise après 45 minutes d'accumulation de l'agent de contraste dans l'articulation (image différée). (C) Image de la soustraction entre l'image arthrographique et l'image différée. La différenciation entre les lésions du cartilage et l'intégrité du cartilage adjacent est possible sur l'image soustraite. Source :

Kokkonen et al., 2013

2.3.1.4 Échographie

Une autre technique d'imagerie non invasive pour l'évaluation du cartilage articulaire repose sur les ultrasons, soit l'échographie. Les sondes nouvelle génération sont beaucoup plus performantes, car elles émettent des ultrasons à des fréquences allant de 10 à 12 MHz. Ainsi, en utilisant ces sondes, l'échographie du genou est possible et permet de caractériser les tissus mous, tels que le cartilage. En effet, l'échographie non invasive possède les bénéfices tels que d'être à très faible

coût, rapide, offre une mesure en temps réel, en plus d'être très accessible (Iagnocco, 2010). Des anomalies structurales du cartilage, de l'os périphérique ou des ménisques peuvent être visualisées et évaluées. Le patient est en position couchée avec un genou entièrement fléchi, le genou est alors balayé de la partie proximale à distale avec la sonde toujours en position transverse (Figure 2.12). Ainsi, le faisceau d'ultrasons est gardé perpendiculaire à la surface du genou en tout temps.

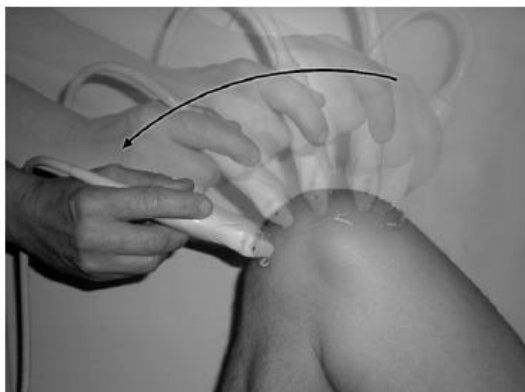


Figure 2.12: Représentation schématique d'une échographie du genou pour la détection des changements du cartilage articulaire. Source : Saarakkala et al., 2012

L'apparence normale du cartilage en échographie a été décrite par plusieurs études antérieures comme étant une bande anéchoïque homogène avec un espace nettement défini du côté antérieur (espace entre le cartilage et les tissus mous environnants ou entre le cartilage et la membrane synoviale) et du côté postérieur (interface cartilage/os sous-chondral) (Aisen et al., 1984; Grassi et al., 1999). Initialement, les études ont rapporté des mesures semi-quantitatives des changements au niveau du cartilage avec la dégénération (Figure 2.13), soit une perte de la netteté de l'interface cartilage/synoviale, la perte de la clarté de l'interface cartilagineuse, le rétrécissement du cartilage ou l'intensité accrue de l'interface osseuse/cartilage du côté postérieur (Grassi et al., 1999). Depuis une décennie, des chercheurs se sont axés sur l'extraction de mesures quantitatives provenant d'échographie du genou afin de mieux détecter les altérations causées par l'arthrose, telles que des mesures du ton de gris des images ou des mesures de la variation du ton de gris dans des régions d'intérêts du cartilage ou de l'os sous-chondral. Plus particulièrement, une étude *in vivo* a démontré la performance diagnostique de l'échographie pour détecter les altérations du cartilage comparativement aux grades arthroscopiques (Saarakkala et al., 2012). De plus, cette même étude propose un système de notation échographique pour la classification de la dégénération du cartilage articulaire (Tableau 2.1).

Tableau 2.1: Système de notation en échographie pour l'évaluation du cartilage

Grade ultrason	Définition
0	Bande anéchoïque homogène avec une interface antérieure et postérieure nettement hyperéchogène (apparence particulièrement blanche en échographie)
1	Perte de la clarté des interfaces du cartilage et/ou augmentation de l'échogénicité du cartilage
2A	En plus des changements mentionnés ci-haut, amincissement local définitif du cartilage (moins de 50% de son épaisseur totale)
2B	Amincissement local du cartilage de plus de 50%, mais moins de 100% de son épaisseur totale
3	Perte locale à 100% de l'épaisseur du cartilage

C'est une technique très prometteuse comme évaluation de première ligne du cartilage articulaire. En général, le facteur le plus limitant dans l'échographie du genou est un manque de fenêtres acoustiques appropriées, grâce auxquelles les structures articulaires plus profondes ne peuvent être évaluées (Podlipska et al., 2016). En effet, la patella, étant superposée sur le fémur, restreint la visibilité du cartilage fémoral, particulièrement du côté latéral lorsque le genou est en pleine flexion (Podlipska et al., 2013).



Figure 2.13: Échographie du genou droit d'une patiente de 67 ans qui a de la difficulté à marcher et qui est diagnostiquée avec l'arthrose. L'échographie révèle que son genou droit possède une épaisseur de cartilage normal au niveau de son condyle fémoral latéral: hypoéchogique, structure allongée (représentée par les flèches) et une perte de l'épaisseur de son cartilage dans son condyle fémoral médial (entre les flèches rouges). Source : Artul et al., 2014

2.3.2 Évaluations invasives

2.3.2.1 Histologie

L'analyse histologique est une technique de référence pour l'évaluation des tissus articulaires. Par contre, cela nécessite l'obtention d'une biopsie rendant ainsi la technique destructive au niveau de la surface articulaire. Après plusieurs processus histologiques, l'échantillon de cartilage est placé sur des coupes histologiques. Il est ensuite coloré par divers agents (entre autres, une coloration appelée Safranin-O qui colore les glycosaminoglycanes) afin d'y être évalué selon plusieurs critères tels que la régularité de la surface, la prise de coloration spécifique à l'un des composants du cartilage, le nombre de chondrocytes vivants et leurs attributs, l'épaisseur du cartilage, la présence et l'intégrité de l'interface calcifiée du cartilage et autres (Figure 2.14). Ces différents critères sont regroupés sous la forme de scores semi-quantitatifs comme le score de Mankin modifié (Mankin et al., 1971) qui est l'un des plus utilisés en recherche (Tableau 2.2). Or, le caractère destructif de l'histologie lui vaut un usage plutôt de recherche que clinique. Ainsi, l'histologie est d'autant plus utilisée afin d'évaluer la sensibilité et la spécificité des autres techniques en développement (Murray et al., 2005).

Tableau 2.2: Système de notation du score histologique Mankin

I. Structure	
a. Normale	0
b. Irrégularités à la surface	1
c. Fibrillation	2
d. Fissures jusqu'à la zone intermédiaire	3
e. Fissures jusqu'à la zone radiale	4
f. Fissures jusqu'à la zone calcifiée	5
g. Désorganisation complète	6
II. Cellules	
a. Normale	0
b. Hypercellularité diffusée	1
c. Clonage	2
d. Hypocellularité	3
III. Coloration Safranin-O	
a. Normale	0
b. Réduction légère	1
c. Réduction modérée	2
d. Réduction sévère	3
e. Aucune coloration	4
IV. Intégrité de la ligne bordante entre la zone profonde et calcifiée	
a. Intacte	0
b. Traversée par des vaisseaux sanguins	1

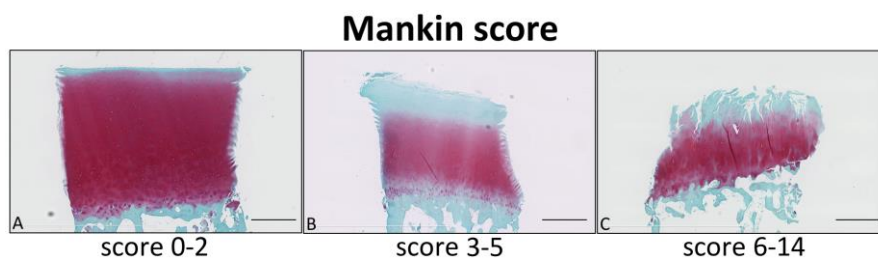


Figure 2.14: Images représentantes des coupes histologiques de cartilage humain à différents niveaux de dégradation (a) aucune dégradation : surface intacte, bonne coloration de Safranin-O; (b) dégradation modérée : perte de coloration Safranin-O représentant une perte du contenu en protéoglycanes, irrégularités à la surface; (c) dégradation sévère : présence de fissures dans le cartilage, perte de la coloration de Safranin-O à la surface du cartilage.

2.3.2.2 Arthroscopie

Une autre technique invasive est l'arthroscopie qui consiste à utiliser un tube de quelques millimètres de diamètre, muni d'un système optique et d'un système d'éclairage qu'on appelle arthroscope (Figure 2.15). Ce système est couplé à une caméra vidéo miniaturisée reliée à un écran qui permet au chirurgien de visualiser en temps réel l'état du cartilage. L'arthroscope est inséré à l'intérieur du genou par un orifice minime qui permet de visualiser l'intérieur de l'articulation du genou. Un ou d'autres petits orifices cutanés sont nécessaires pour l'introduction dans l'articulation d'une canule ou d'instruments fins. En effet, lors de l'arthroscopie du genou, un flux de liquide peut être injecté sous pression par une canule afin de distendre correctement l'articulation et d'évacuer les fragments méniscaux ou synoviaux qui ont été retirés. Une autre incision permet également d'introduire des instruments arthroscopiques nécessaires à l'acte chirurgical, tels que des pinces basket pour reséquer, des pinces préhensives pour attraper, un palpeur mécanique pour évaluer qualitativement la rigidité du cartilage, etc. Ces incisions seront refermées à l'issue de l'intervention par des points de suture. Sous contrôle vidéo, les instruments vont permettre la palpation et l'évaluation des régions d'intérêts comme le cartilage articulaire et également, la réparation ou le retrait de certains éléments intra-articulaires du genou. L'arthroscopie du genou est effectuée sous anesthésie générale ou locale.

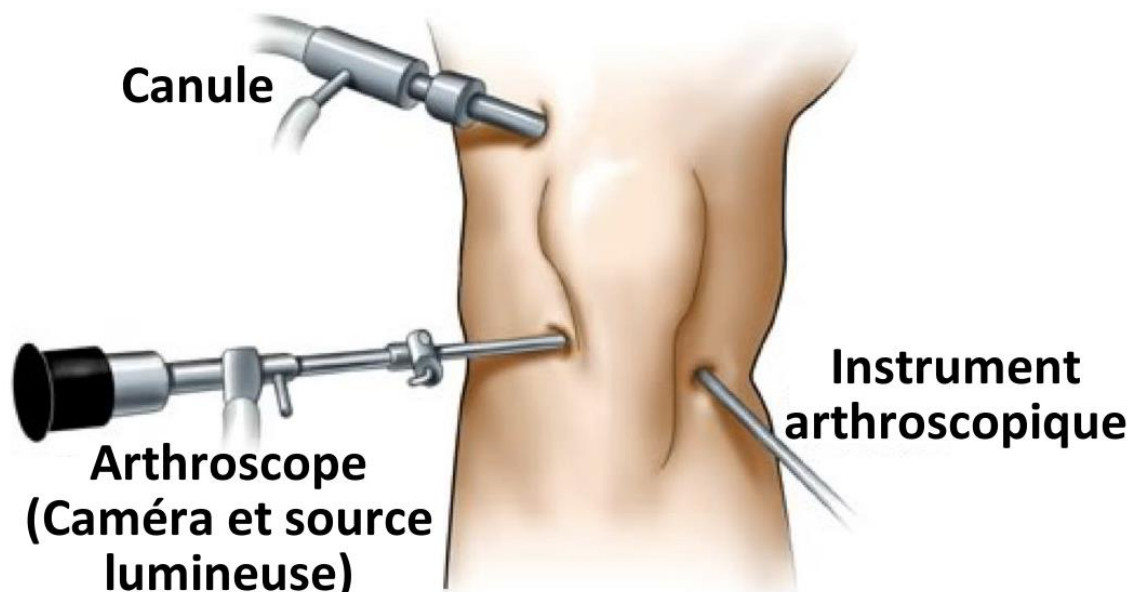


Figure 2.15: Arthroscopie du genou montrant trois différentes incisions pour l'arthroscope, la canule et l'instrument arthroscopique. Source : adapté de www.newhealthadvisor.com

2.3.2.3 Systèmes de classifications des lésions cartilagineuses à travers l'arthroscopie

De nombreuses classifications permettent une évaluation qualitative des lésions intra-articulaires à travers une arthroscopie. Le dépistage et la classification de ces lésions sont des données essentielles au pronostic de toute chirurgie du genou (Cameron et al., 2003). Ainsi, il est essentiel de connaître précisément la localisation, la taille et la profondeur des lésions pour choisir une option thérapeutique optimale et ensuite, en évaluer le résultat. Depuis plus de 20 ans, de nombreux systèmes de classification des lésions cartilagineuses ont été proposés sans qu'aucune n'emporte l'unanimité (Oakley & Lassere, 2003). À ce jour, les deux classifications les plus utilisées sont la classification Outerbridge modifiée et la classification de l'International Cartilage Repair Society (ICRS). Ces deux classifications sont très similaires, mais la classification ICRS offre une meilleure précision du grade, de la région et de la dimension des lésions (Brittberg & Winalski, 2003).

Classification d'Outerbridge originale et modifiée

En 1961, Outerbridge fut le premier à proposer une classification en évaluant des chondromalacies rotuliennes observées lors des ménissectomies (Outerbridge, 1961). Cette classification comprend quatre stades de lésions cartilagineuses, soit les grades I à IV (Tableau 2.3), et elle est facile à comprendre et à utiliser. La classification d'Outerbridge a été démontré fiable et reproductible par des orthopédistes ayant plus de cinq ans de pratique en arthroscopie du genou (Cameron et al., 2003). Les lésions condyliennes et rotuliennes sont mieux classées que celles du plateau tibial selon cette classification (Marx et al., 2005).

Tableau 2.3: Classification d'Outerbridge

Grade I	Ramollissement cartilagineux
Grade II	Fragmentation et fissures chondrales de moins de ½ pouces de diamètre
Grade III	Fragmentation et fissures chondrales de plus de ½ pouces de diamètre
Grade IV	Exposition de l'os sous-chondral

Or, les grades II et III n'incluent pas une description de la profondeur de la lésion. Ainsi, la classification a été modifiée afin de tenir compte de ce paramètre (Tableau 2.4). La classification d'Outerbridge modifiée a donc, été largement utilisée pour toutes les surfaces articulaires du genou (Figure 2.16).

Tableau 2.4: Classification d'Outerbridge modifiée

Grade 0	Cartilage intact
Grade I	Ramollissement cartilagineux mais avec une surface intacte
Grade II	Ulcération superficielle, fibrillation et fissures chondrales de moins de 50% de l'épaisseur du cartilage
Grade III	Ulcération profonde, fibrillation et fissures ou lambeaux chondraux de plus de 50% de l'épaisseur du cartilage sans exposition de l'os sous-chondral
Grade IV	Perte totale de cartilage avec exposition de l'os sous-chondral

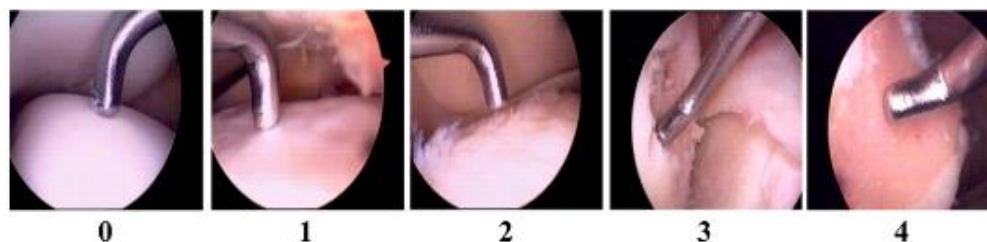


Figure 2.16: Lésions cartilagineuses d'un genou humain évaluées en arthroscopie par la classification d'Outerbridge. Source : Zhang et al., 2014

Classification ICRS

Plus récemment, l'International Cartilage Repair Society (ICRS) a proposé une classification qui permet de localiser précisément les lésions, tout en évaluant leur profondeur et leur étendue. Le score ICRS comporte cinq grades (Tableau 2.5) avec leurs sous-grades (Figure 2.17): soit le grade 0 qui définit du cartilage normal; le grade 1 qui est caractérisé par un ramollissement chondral ou la présence de lésions superficielles (grade 1A pour un ramollissement chondral ou présence de fissures et grade 1B pour présence de lacérations ou de fissures); le grade 2 qui possède des lésions plus profondes, mais ne dépassant pas les 50% de l'épaisseur du cartilage; le grade 3 qui a des lésions atteignant ou dépassant les 50% de l'épaisseur du cartilage (grade 3A pour des lésions qui n'atteignent pas la couche calcifiée, le grade 3B pour lésions traversant la couche calcifiée, le grade 3C pour des lésions jusqu'à la lame sous-chondrale et grade 3D pour des lésions profondes et soufflantes); et le grade 4 qui expose l'os sous-chondral. La localisation de la lésion est notée sur un schéma et la taille (longueur et largeur) des lésions en millimètres est notée avant et après le débridement des bords (Mainil-Varlet et al., 2003).

Tableau 2.5: Classification ICRS

Grade 0	Cartilage intact
Grade 1	Lésions superficielles (ramollissement cartilagineux et/ou fissures superficielles)
Grade 2	Lésions de moins de 50% de l'épaisseur du cartilage
Grade 3	Lésions de plus de 50% de l'épaisseur du cartilage
Grade 4	Lésions s'étendant jusqu'à l'os sous-chondral

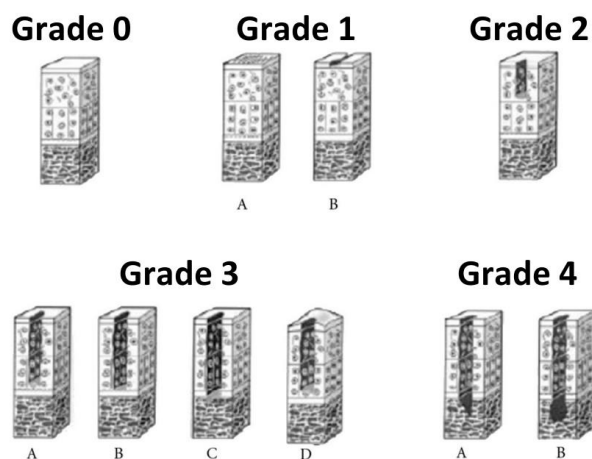


Figure 2.17: Schéma des lésions cartilagineuses par sous-grades de la classification ICRS

De plus, la classification ICRS propose non seulement une gradation en profondeur, mais également une classification de la localisation des lésions (Figure 2.18). Les condyles fémoraux médial et latéral, le plateau tibial médial et latéral ainsi que la patella sont chacun divisés en neuf régions alors que la trochlée est divisée en trois régions. Cette division régionale simplifie la rédaction du compte rendu opératoire et le suivi des patients, mais elle ne fournit pas d'estimation réelle de la surface lésionnelle.

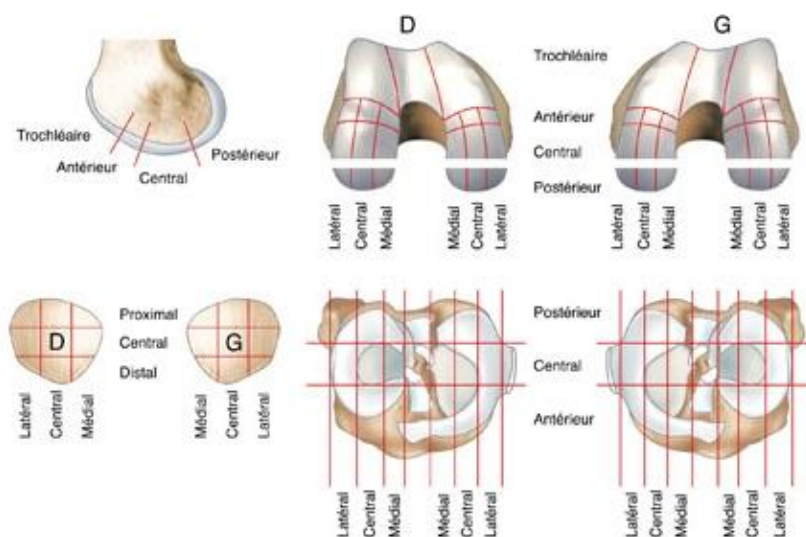


Figure 2.18: Classification ICRS pour la localisation des lésions. Source : Robert et al., 2007

2.3.2.4 Instruments arthroscopiques

La qualité du cartilage articulaire peut être évaluée durant une arthroscopie en utilisant un palpeur mécanique qui offre une évaluation plutôt qualitative du cartilage. Malgré cela, cette évaluation routinière est non destructive pour le cartilage et elle est considérée comme très importante dans le diagnostic de la dégénération du cartilage durant les procédures arthroscopiques. Plusieurs groupes de recherches se sont axés sur le développement de sonde arthroscopique basée sur des technologies offrant une mesure quantitative de la qualité du cartilage. Ces technologies aspirent à permettre la détection de la dégénération précoce du tissu, c'est-à-dire avant même que des changements au niveau de la surface soient visibles. Ces sondes permettent de mesurer les caractéristiques optiques du cartilage par tomographie par cohérence optique ou par ultrasons ainsi que la rigidité du cartilage.

Palpeur mécanique

Lors d'une arthroscopie, la qualité du cartilage peut être évaluée en utilisant un palpeur mécanique qui est une tige mince muni d'un crochet à 90° et d'un embout arrondi (Figure 2.19). Ce palpeur permet au chirurgien d'évaluer qualitativement la rigidité du cartilage et même d'en évaluer la perte d'épaisseur à travers des marques millimétriques sur l'embout du palpeur (Spahn et al., 2009). Malgré cela, les scores macroscopiques sont subjectifs et donc, le diagnostic du cartilage articulaire en arthroscopie a un besoin urgent de nouvelles technologies complémentaires qui offrent une évaluation quantitative du cartilage (Spahn et al., 2011; Spahn et al., 2009).



Figure 2.19: Palpeur mécanique. Source : Smith & Newphew Division Endoscopique

Sonde se basant sur la tomographie par cohérence optique

La tomographie par cohérence optique est une technique d'imagerie qui peut être incorporée dans un arthroscopie afin d'acquérir des images transverses du cartilage d'une dizaine de micromètres de résolution en temps réel (Chu et al., 2010; Li et al., 2005c; Xie et al., 2006). Il a été prouvé que cette technologie pouvait détecter la présence d'arthrose de manière précoce en imageant les fibrillations, l'amincissement et surtout la désorganisation structurelle du collagène (Herrmann et al., 1999). Les images générées sont notées selon un critère de biréfringence. Effectivement, un cartilage sain possède une structure dépendante de la profondeur du tissu où chaque couche aura une orientation distincte des fibres de collagène. Cette organisation structurelle du réseau de collagène modifiera la polarisation de la lumière lorsque celle-ci traversera le tissu créant ainsi un patron de bande (Herrmann et al., 1999). Ainsi, le cartilage dégradé, défini par une perte de l'organisation de cette structure, est identifié par un patron de bandes inhomogène et même inexistant (Figure 2.20). La capacité diagnostique de cette technique a été étudiée par plusieurs groupes de recherche, tant *ex vivo* que *in vivo* (Chu et al., 2010; Li et al., 2005c; Xie et al., 2006). À ce jour, la tomographie par cohérence optique fait face à des défis techniques telles que des stratégies de standardisation et de contrôle de l'angle des faisceaux lumineux (Jahr et al., 2015).

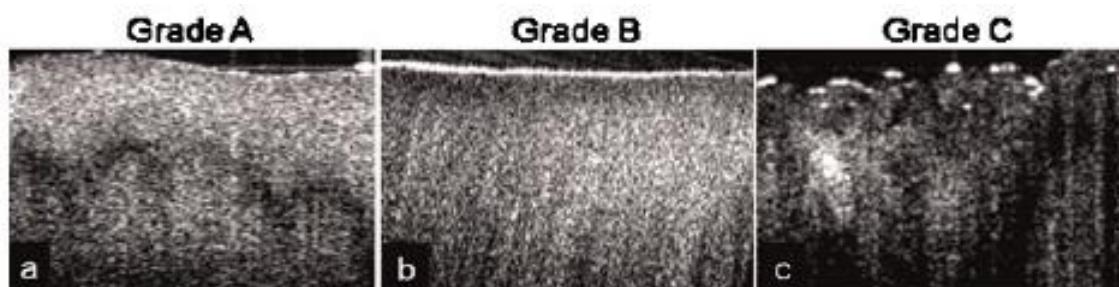


Figure 2.20: Images obtenues en tomographie par cohérence optique. Le grade A représente un cartilage intact avec des propriétés de biréfringence normale. Le grade B représente un cartilage avec une surface normale, mais avec des caractéristiques de biréfringence anormale. Le grade C représente un cartilage avec une surface irrégulière. Source : Bear et al., 2010

Sonde se basant sur les ultrasons

Les ultrasons permettent de déterminer la qualité du cartilage articulaire et de l'os sous-chondral. Plusieurs études ont démontré que le cartilage articulaire pouvait être évalué quantitativement par des transducteurs ultrasoniques à travers son épaisseur (Myers et al., 1995), la réflexion de sa surface (Saarakkala et al., 2006), la rugosité de sa surface (Saarakkala et al., 2006), l'intégrité de son réseau de collagène (Gelse et al., 2010), ainsi que la qualité de l'os sous-chondral en y évaluant son intégrité (Saarakkala et al., 2006). Plus récemment, une sonde ultrasonique miniature à haute fréquence de 40MHz a été utilisée dans l'évaluation du cartilage durant une procédure arthroscopique (Kaleva et al., 2011). Cette étude a démontré que les paramètres quantitatifs obtenus par l'ultrason permettent d'identifier la dégradation précoce du cartilage où l'arthroscopie a identifié du cartilage normal (Kaleva et al., 2011). En effet, dans cette étude, le cartilage a été évalué par la classification ICRS et plusieurs paramètres de la sonde ont été extraits tels que le coefficient de réflexion, noté R, le coefficient de réflexion intégrée, noté IRC, et la rétrodiffusion apparente intégrée, noté AIB et l'indice de rugosité ultrasonore, noté URI (Figure 2.21). Ainsi, les transducteurs d'ultrasons offrent une technique quantitative et prometteuse pour l'évaluation de la qualité du cartilage durant une arthroscopie.

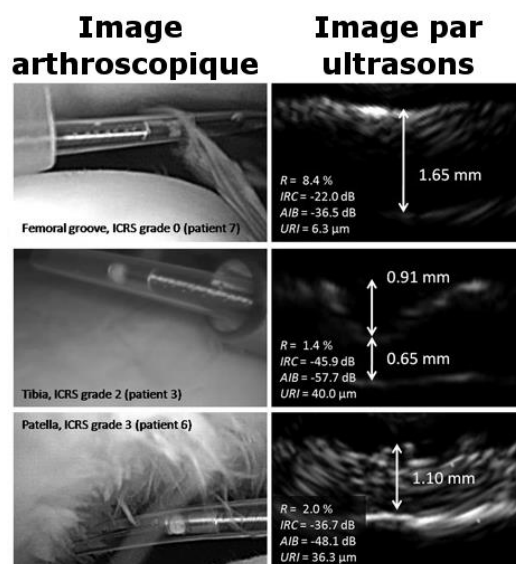


Figure 2.21: Cartilage évalué par la classification ICRS comparativement aux paramètres extraits avec la sonde ultrasonore. Source : adapté de Kaleva et al., 2011

Sonde mécanique

Deux sondes d'indentation (Figure 2.22) ont été commercialisées en tant que Artscan (Lyyra et al., 1995) et ACTAEON (Niederauer et al., 2004). L'Artscan a été commercialisé durant de nombreuses années, mais la sonde n'est plus commercialement disponible. Ces sondes permettent de mesurer la rigidité du cartilage pendant une procédure arthroscopique par mesure d'indentation. Cependant, ces sondes mécaniques présentent plusieurs désavantages qui en limitent leur utilisation en clinique. Ces limitations proviennent de la difficulté à bien orienter le capteur relativement à la surface du cartilage ainsi que le besoin d'indentations répétées à un niveau de force contrôlé (Brama et al., 2001).

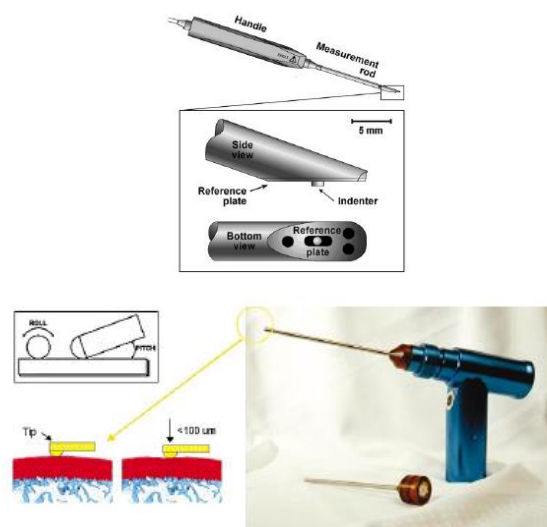


Figure 2.22: Sonde ARTSCAN et ACTAEON pour l'évaluation in situ du cartilage articulaire par indentation. Source : Lyyra et al., 2005 et Niederauer et al., 2004

Ainsi, aucune de ces technologies, conjointes à l'arthroscopie, ne se base que sur des mesures fonctionnelles directes du cartilage articulaire, à l'exception des sondes mesurant quantitativement la rigidité du cartilage. Par contre, plusieurs désavantages non négligeables ont été décelés et ont freiné leur commercialisation. Une autre technologie, sur laquelle repose cette thèse, se base sur les propriétés électromécaniques du cartilage articulaire et sera présenté dans les paragraphes suivants.

2.4 Électromécanique du cartilage articulaire

Le cartilage articulaire possède des propriétés mécaniques et tribologiques uniques conférées par la composition et la structure de sa matrice extracellulaire contenant principalement du collagène type II et des protéoglycanes (Poole et al., 2001). La compression du cartilage articulaire génère des champs électriques nommés potentiels d'écoulement (Frank & Grodzinsky, 1987; Grodzinsky & Frank, 2011). Ce phénomène électrocinétique est possible grâce aux charges négatives fixes des protéoglycanes qui sont enchâssés dans un réseau de collagène, le tout hydraté dans un fluide interstitiel. Sans chargement, aucun champ électrique n'est généré, car les charges négatives des protéoglycanes sont équilibrées par les ions positifs mobiles contenus dans le fluide interstitiel. Par contre, lors de la compression du cartilage articulaire, il y a un écoulement de fluide qui déplace les ions positifs mobiles relativement aux charges négatives fixes des protéoglycanes. Ce mouvement relatif des charges mobiles se déplaçant par rapport à des charges fixes cause ainsi un changement dans le potentiel électrique du milieu et ainsi, devient la source des potentiels d'écoulement du cartilage (Figure 2.23).

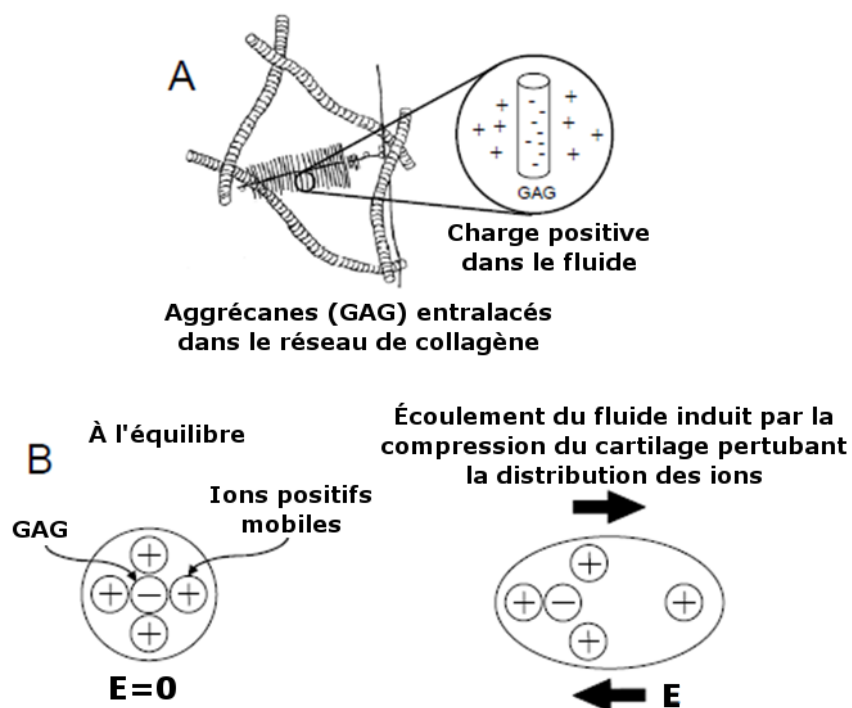


Figure 2.23: Phénomène électromécanique générant des potentiels d'écoulement dans le cartilage articulaire. Source : adapté de Garon et al., 2002

Tout d'abord, les potentiels d'écoulement induits par la compression du cartilage articulaire ont été mesurés en utilisant deux électrodes en compression confinée (Buschmann et al., 1992; Chen et al., 1997; Frank & Grodzinsky, 1987; Lee et al., 1981) et non confinée (Kim et al., 1995). Vers les années 2000, le groupe de recherche du professeur Michael Buschmann a développé une matrice de microélectrodes (Figure 2.24) permettant de mesurer la distribution du potentiel électrique généré à la surface du cartilage lors d'une compression non confinée ou en indentation (Garon et al., 2002).

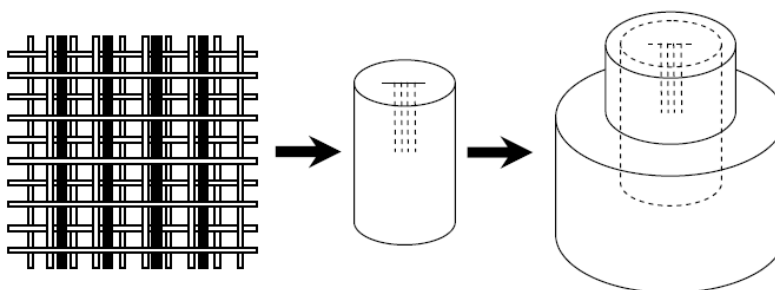


Figure 2.24: Première matrice de microélectrodes. Des fils de platine/iridium ont été tissés à travers une maille de nylon. Le maillage contenant les électrodes a ensuite été coulé dans un cylindre époxy, dont la surface a été usinée pour exposer les électrodes. Le cylindre a ensuite été incorporé dans la base d'une chambre de test. Source : Garon et al., 2002

La dégénération du cartilage est principalement caractérisée par une perte de protéoglycanes et une dégradation du réseau de collagène, ce qui entraînera des potentiels d'écoulement plus faibles. Effectivement, plusieurs études ont démontré que les potentiels d'écoulement du cartilage sont particulièrement sensibles à sa dégradation (Bonassar et al., 1995; Frank et al., 1987; Kim et al., 1995). De plus, la distribution spatiale des potentiels d'écoulement est également sensible à la dégradation (Legare et al., 2002). Cette étude a artificiellement induit une perte de protéoglycanes et une dénaturation du collagène de type II dans des explants de cartilage bovins. Il a été démontré que de plus faibles potentiels d'écoulement étaient générés dans les cartilages traités par l'interleukin-1 α qui est une cytokine qui supprime la synthèse de protéoglycanes et de collagène. Ces études suggèrent qu'un outil qui mesure la répartition des potentiels d'écoulements induits par compression pendant une procédure d'arthroscopie pourrait éventuellement devenir une technique sensible et simple pour la détection des propriétés fonctionnelles et la dégénération du cartilage articulaire.

2.5 Sonde électromécanique

La sonde électromécanique a été développée dans le cadre de deux thèses de doctorat (Garon, 2007; Quenneville, 2006). Tout d'abord, la conception d'une telle sonde représentait deux principaux défis techniques lors de la mesure des potentiels d'écoulement pendant une procédure d'arthroscopie. Le premier défi est le positionnement de l'appareil de mesure par rapport à la surface du cartilage et le deuxième est le contrôle de la déformation imposée au cartilage (Garon, 2007). La solution a été de disposer plusieurs électrodes sur la surface d'un indentateur sphérique et d'effectuer une analyse temporelle de la distribution des potentiels d'écoulements induits sous l'indentateur sphérique (Figure 2.25).

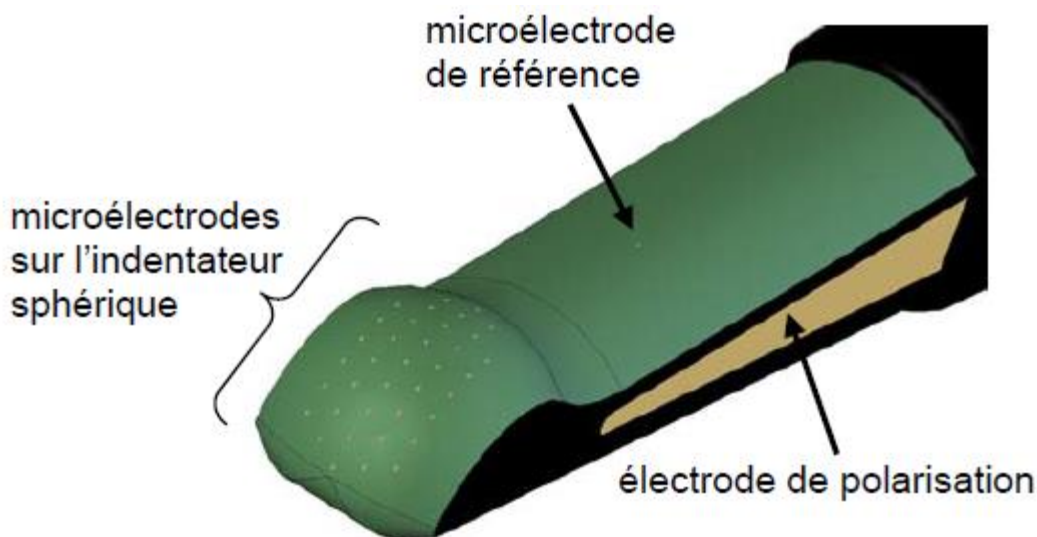


Figure 2.25: Vue schématique de l'indentateur sphérique (rayon de 3.18 mm) comptant 37 microélectrodes distribuées uniformément sur la surface de l'indentateur. Une 38^e microélectrode, située en retrait, est utilisée comme référence lors de la mesure des potentiels d'écoulement. Une plus grosse électrode de polarisation est utilisée pour appliquer une tension de polarisation. Source : Garon, 2007

Une analyse temporelle permet de déduire l'orientation du dispositif relativement à la surface du cartilage et de calculer la vitesse et l'amplitude de la compression (Figure 2.26). Toute cette information a été consolidée en un seul paramètre représentant les propriétés électromécaniques du cartilage.

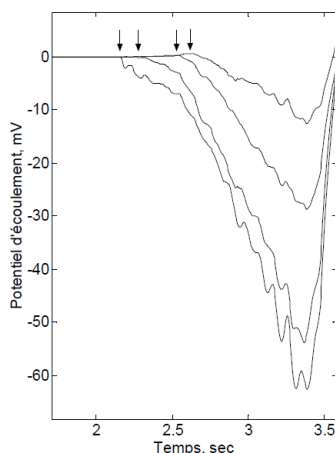


Figure 2.26: Potentiels d'écoulements typiques mesurés à l'aide de l'Arthro-BST sur un cartilage d'origine bovine. Les potentiels d'écoulement mesurés sur chacune des microélectrodes commencent à diminuer au contact du cartilage. Les flèches indiquent l'instant où le contact se produit. Source : Garon, 2007

Auparavant, ce paramètre se nommait l'intégrale des potentiels d'écoulement (SPI). Il était calculé à partir de la distribution des potentiels d'écoulement mesurés à la surface de l'indentateur en contact avec le cartilage et en intégrant la distribution sur cette aire de contact à une plage d'amplitude de compression prédéfinie. Afin de rendre ce paramètre quantitatif indépendant du profil de compression, une amplitude de compression a été définie. Pour le cartilage humain, cette amplitude de compression se situe à 0.15mm (Garon, 2007). Ainsi, le succès de ce dispositif est directement lié à son indépendance face à l'utilisateur, ce qui en fait un bon candidat pour une utilisation clinique. En effet, lors de la compression du cartilage, chaque chirurgien appliquera une quantité différente de force ou de déplacement. Or, l'analyse des temps de contact de chaque microélectrode avec le cartilage, en considérant la géométrie de l'indentateur et la matrice de microélectrodes, permet d'obtenir l'amplitude de compression en fonction du temps. En calculant ainsi le paramètre quantitatif à une amplitude de compression prédéfinie, le paramètre est indépendant du profil de compression et donc indépendant de l'utilisateur. Des études ont démontré la fiabilité des mesures de potentiels d'écoulement dans du cartilage équin (Changoor et al., 2011) et du cartilage humain (Garon, 2007) avec des coefficients de corrélation intra-classe (ICC) inter-utilisateurs de 0.861 et 0.87 respectivement (Figure 2.27).

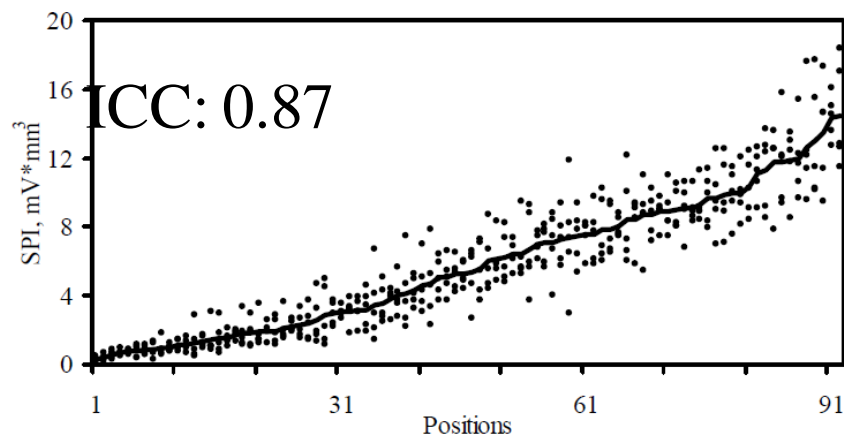


Figure 2.27: Représentation graphique de la variabilité entre les utilisateurs des mesures électromécaniques. Chaque point représente la moyenne de trois mesures obtenues par un utilisateur et la ligne, la moyenne des 5 utilisateurs. Les positions sont ordonnées selon un ordre croissant de la moyenne. Source : Garon, 2007

De plus, la vitesse de compression a également un effet direct sur la pressurisation interne du cartilage et donc sur la distribution des potentiels d'écoulement générés (Li et al., 2005a). Ainsi, l'effet de la vitesse de compression du cartilage sur les potentiels d'écoulement a été étudié. Il a été découvert qu'à des vitesses de compression élevées, la distribution des potentiels électriques à la surface de l'indentateur en contact avec le cartilage était approximativement constante (Figure 2.28). Ceci est dû à l'atteinte d'un taux de contrainte limite sur lequel la réponse du cartilage en compression est dictée par sa réponse instantanée (Quenneville, 2006). De plus, il a été démontré qu'expérimentalement, la plage de vitesse de compression qui peut être manuellement atteinte est très restreinte. De ce fait, les mesures se situant à l'extérieur de cette plage prédéfinie de vitesse de compression seront rejetées afin de minimiser l'effet de la vitesse de compression sur le paramètre quantitatif.

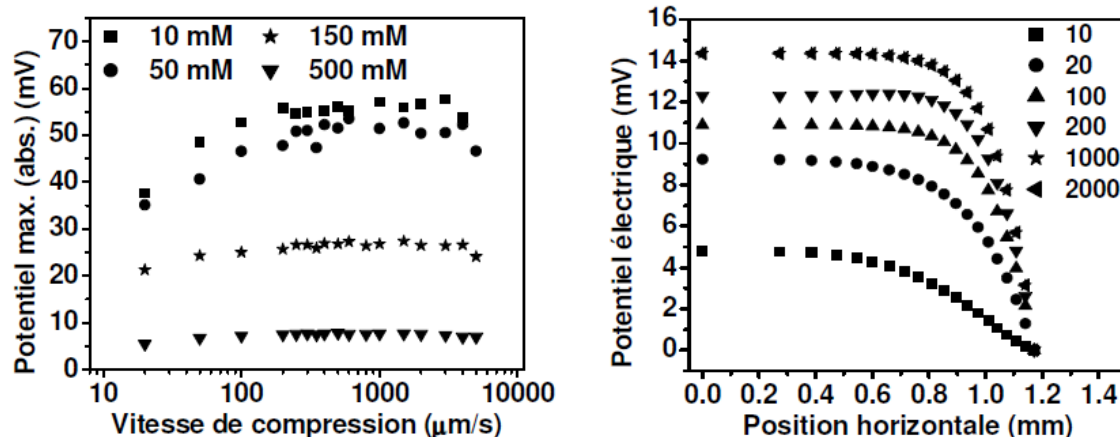


Figure 2.28: Distribution du potentiel électrique à la surface de l'indentateur en fonction de la vitesse de compression. Source : Quenneville, 2006

Plus récemment, le paramètre calculé à partir de la distribution des potentiels d'écoulement induits lors de la compression du cartilage a été modifié et se nomme « paramètre quantitatif » (QP). En effet, toutes les informations obtenues précédemment, lors d'une mesure électromécanique du cartilage, sont toujours disponibles, soit l'orientation, la vitesse et l'amplitude de la compression. Or, le paramètre est maintenant calculé comme étant le nombre de microélectrodes en contact avec le cartilage articulaire lorsque la somme des potentiels d'écoulement mesurés atteint 100mV. Ce nouvel algorithme de calcul offre un paramètre plus robuste, principalement contre le bruit (Figure 2.29).

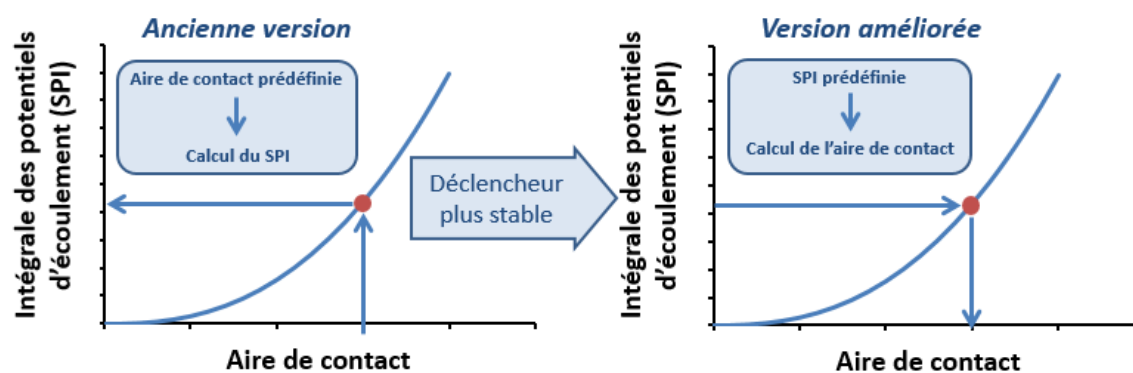


Figure 2.29: Analyse des potentiels d'écoulement pour l'extraction du paramètre électromécanique selon l'ancienne et la nouvelle version

CHAPITRE 3 OBJECTIFS DE LA THÈSE ET SES HYPOTHÈSES

L'évaluation quantitative du cartilage articulaire est un besoin grandement souligné par les orthopédistes. En effet, le diagnostic de la dégénération du cartilage pourrait bénéficier d'une évaluation quantitative offrant un diagnostic précis, reproductible et indépendant de l'utilisateur. Comme le souligne la revue de littérature du chapitre précédent, plusieurs outils ont été développés pendant plus de deux décennies sans qu'aucun n'emporte l'unanimité, que ce soit pour les techniques de première ligne (non invasive) ou de seconde ligne (invasive). À ce jour, afin d'évaluer le cartilage de manière directe et donc, invasive, les orthopédistes optent pour l'arthroscopie en combinaison avec les systèmes de classification de lésions chondrales ainsi que l'utilisation d'un palpeur mécanique. Notre groupe de recherche s'est penché sur ce besoin en développant une sonde arthroscopique mesurant les potentiels d'écoulement induits lors de la compression légère du cartilage articulaire. Depuis environ cinq ans, des améliorations ont été apportées à l'analyse et l'extraction du paramètre de la sonde électromécanique.

Ainsi, la première étape de cette thèse a été d'étudier ce nouveau paramètre quantitatif, appelé QP, chez le cartilage humain de l'articulation du genou. Pour ce faire, une investigation de la corrélation du paramètre quantitatif avec des paramètres conventionnels de caractérisation du cartilage a été réalisée. Plusieurs études ont utilisé du cartilage animal, soit équin, bovin ou ovin, mais aucune étude publiée n'a démontré des mesures électromécaniques sur du cartilage humain. Le second objectif a été d'étudier la sensibilité du nouveau paramètre dans la détection du cartilage précocement dégénéré comparativement à des techniques standards. Finalement, suite à ces objectifs, le cœur de la thèse consistait à développer une base de données électromécanique du cartilage sain chez l'humain afin de l'utiliser dans le diagnostic précis de l'arthrose. Ainsi, une modélisation de la dégénération du cartilage a été créée en tenant compte de la base de données électromécaniques du cartilage sain et des caractéristiques spécifiques du patient et topographiques afin d'offrir un diagnostic personnalisé. L'algorithme de diagnostic, développé dans cette thèse, a été implémenté dans la sonde arthroscopique transformant ainsi la sonde d'un outil de mesure en un outil diagnostic médical pour le genou humain.

Objectif & Hypothèses de l'article 1

Objectif Cartographier les propriétés électromécaniques du cartilage humain à travers la surface articulaire entière de manière non destructive en utilisant la sonde électromécanique et corrélérer ces cartographies avec les propriétés histologiques, biochimiques et mécaniques du cartilage.

Hypothèse 1 Le paramètre électromécanique devrait corrélérer directement avec les propriétés histologiques, biochimiques et mécaniques du cartilage, car l'électromécanique du cartilage reflète sa structure et sa fonction.

Hypothèse 2 Le paramètre électromécanique peut précisément évaluer la qualité du cartilage de manière non destructive et rapide.

Objectifs & Hypothèses de l'article 2

Objectif Investiguer la sensibilité de la sonde électromécanique et d'une technique d'indentation automatisée à différencier des régions du cartilage qui apparaissent normal, mais qui sont adjacentes à des régions visuellement dégénérées (où une dégénération précoce est soupçonnée) et des régions du cartilage qui sont éloignées des régions visuellement dégénérées (où aucune dégénération n'est soupçonnée).

Hypothèse 1 Les paramètres électromécaniques et mécaniques en indentation devraient être plus sensibles à différencier de la dégénération précoce que les techniques standards telles que la mesure d'épaisseur du cartilage, le score histologique Mankin, les tests de compression non confinée et l'évaluation biochimique du cartilage.

Hypothèse 2 La particularité cartographique qu'offrent la sonde électromécanique et la technique d'indentation automatisée pourrait permettre de révéler une similarité de la distribution spatiale des propriétés électromécaniques et mécaniques au sein d'un même donneur.

Objectifs & Hypothèses de l'article 3

Objectif Développer un nouveau score électromécanique quantitatif, basé sur le paramètre quantitatif électromécanique, pour aider le diagnostic arthroscopique de la dégénération du cartilage et en vérifier sa fiabilité.

Hypothèse 1 Plusieurs études ont démontré que la réponse électromécanique s'affaiblit avec les premiers stades de la dégénération du cartilage (du grade ICRS 0 à 2). On assume donc que la réponse électromécanique sera faible dans le stade très avancé de dégénération (grade ICRS 3) et plus la dégradation avance, plus la réponse électromécanique augmentera du fait qu'il y ait amincissement du cartilage jusqu'à atteindre aucune réponse électromécanique avec une perte totale du cartilage exposant l'os sous-chondral.

Hypothèse 2 Les caractéristiques propres aux patients et à la localisation de mesure devraient impacter les propriétés électromécaniques et doivent donc être considérés dans le développement du système de classification électromécanique.

Hypothèse 3 Le nouveau score électromécanique devrait être plus sensible à la dégénération du cartilage que le score standard ICRS, car contrairement à ce dernier, le score électromécanique est quantitatif qui reflète l'intégrité du cartilage.

**CHAPITRE 4 ARTICLE 1: NON-DESTRUCTIVE
ELECTROMECHANICAL ASSESSMENT (ARTHRO-BST) OF HUMAN
ARTICULAR CARTILAGE CORRELATES WITH HISTOLOGICAL
SCORES AND BIOMECHANICAL PROPERTIES**

Sotcheadt Sim^{1,2}, Anik Chevrier¹, Martin Garon², Eric Quenneville², Alex Yaroshinsky³,
Caroline D Hoemann^{1,4} and Michael D Buschmann^{1,4*}

¹Département de Génie Chimique et l'Institut de Génie Biomédical, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

²Biomomentum Inc., 970 rue Michelin, Suite 200, Laval, Quebec H7L 5C1, Canada

³Vital Systems, Inc., 3701 Chemin Algonquin, Suite 310 Rolling Meadows, Illinois 60008, USA

⁴Groupe de Recherche en Sciences et Technologies Biomédicales, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

Ce chapitre expose intégralement un article publié qui consiste à la première étude expérimentale qui répond à l'objectif :

Cartographier les propriétés électromécaniques du cartilage humain à travers la surface articulaire entière de manière non destructive en utilisant la sonde électromécanique et de corréler ces cartographies avec les propriétés histologiques, biochimiques et mécaniques du cartilage.

Informations supplémentaires

Journal	<i>Osteoarthritis and Cartilage</i>
Date de soumission	<i>Mars 2014</i>
Date d'acceptation	<i>Août 2014</i>

Contribution des auteurs

Sotcheadt Sim	<i>Design de l'étude, collecte des données mécaniques et électromécaniques, analyse et interprétation des données, revue de littérature, écriture et révision de l'article</i>
Anik Chevrier	<i>Design de l'étude, collecte des données histologiques et des analyses biochimiques et révision de l'article</i>
Martin Garon	<i>Design de l'étude, analyse statistique préliminaire des données histologiques et révision de l'article</i>
Eric Quenneville	<i>Design de l'étude, collecte des données mécaniques et électromécaniques, analyse et interprétation des données et révision de l'article</i>
Alex Yaroshinsky	<i>Expertise statistique et révision de l'article</i>
Caroline D. Hoemann	<i>Design de l'étude (partie histologique et biochimique) et révision de l'article</i>
Michael D. Buschmann	<i>Design de l'étude, analyse et interprétation des données, expertise statistique et révision de l'article</i>

4.1 Abstract

The hand-held Arthro-BST™ device is used to map electromechanical properties of articular cartilage. The purpose of the study was to evaluate correlation of electromechanical properties with histological, biochemical and biomechanical properties of cartilage.

Electromechanical properties (quantitative parameter QP) of 8 human distal femurs were mapped manually *ex vivo* using the Arthro-BST (1 measure/site, 5 s/measure, 3209 sites). Osteochondral cores were then harvested from different areas on the femurs and assessed with the Mankin histological score. Prior to histoprocessing, cores were tested in unconfined compression. A subset of the cores was analyzed with polarized light microscopy (PLM) to assess collagen structure. Biochemical assays were done on additional cores to obtain water content and glycosaminoglycan content. The QP corresponding to each core was calculated by averaging all QPs collected within 6 mm of the core center.

The electromechanical QP correlated strongly with both the Mankin score and the PLM score ($r=0.73$, $p<0.0001$ and $r=-0.70$, $p<0.0001$ respectively) thus accurately reflecting tissue quality and collagen architecture. Electromechanical QP also correlated strongly with biomechanical properties including fibril modulus ($r=-0.76$, $p<0.0001$), matrix modulus ($r=-0.69$, $p<0.0001$), and log of permeability ($r=0.72$, $p<0.0001$). The QP correlated weakly with GAG per wet weight and with water content ($r=-0.50$, $p<0.0003$ and $r=0.39$, $p<0.006$ respectively).

Non-destructive electromechanical QP measurements correlate strongly with histological scores and biomechanical parameters providing a rapid and reliable assessment of articular cartilage quality.

4.2 Keywords

Articular Cartilage, Streaming Potentials, Osteoarthritis, Biomechanics, Mankin Score, Polarized Light Microscopy

4.3 Introduction

The deterioration of articular cartilage is a hallmark of degenerative joint diseases such as osteoarthritis which affects 8.9% of the adult population with 40% prevalence above the age of 70 (Michael et al., 2010). Currently, joint health and function are diagnosed at a late stage by methods including physical examination, X-ray and magnetic resonance imaging of joint space or visual arthroscopy with a blunt probe. None of these techniques are able to provide diagnostic information early in the disease process.

Multiple research groups have invented devices to assess cartilage function during arthroscopic surgery (Athanasίου & Constantinides, 1995; Frank et al., 1993; Jurvelin et al., 2005; Kiviranta & Jurvelin, 1996; Niederauer et al., 1999). Methods involving ultrasound biomicroscopy (Gelse et al., 2010), arthroscopic ultrasound imaging (Viren et al., 2010), optical reflection spectroscopy (Johansson et al., 2011), pulsed laser irradiation (Sato et al., 2011) or near-infrared spectroscopy (Spahn et al., 2013) have been proposed. Two devices obtained FDA regulatory clearance (ArtscanTM 200 Arthroscopic Cartilage Stiffness Tester and ActaeonTM Probe), while the Artscan was only briefly commercialized. The reasons for limited clinical acceptance may be related to challenges in ease of use and difficult sensor orientation relative to cartilage surface as well as the need for repeated indentations at a controlled level of force (Brama et al., 2001). There is an enduring demand in Orthopaedics for an objective and reliable technique to evaluate articular cartilage tissue health (Spahn et al., 2011).

Streaming potentials are compression-induced electric potentials that have been shown to reflect the structural and functional integrity of cartilage (Abedian et al., 2013; Changoor et al., 2011a; Changoor et al., 2010; Changoor et al., 2007; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). Streaming potential are generated by fluid-solid phase interactions in the loaded extracellular matrix (Grodzinsky, 2011), given that proteoglycans are negatively charged and entrapped within the collagen network, while an excess of mobile positive ions exists in the interstitial fluid. Thus, under equilibrium conditions, with no load applied, there is no net macroscopic electric field present since mobile cations are symmetrically arranged around negatively charged proteoglycan (Buschmann

& Grodzinsky, 1995). However, when the cartilage is compressed, the flow of the interstitial fluid entrains motion of the positive mobile ions relatively to the fixed negatively charges of the solid phase, generating measurable streaming potentials (Frank & Grodzinsky, 1987; Maroudas et al., 1969).

The Arthro-BSTTM measures streaming potentials in articular cartilage on 37 microelectrodes located on its spherical indenter (Buschmann et al., 1998) during a gentle and instantaneous compression (< 1 second). The contact between the indenter and the cartilage is tracked during measurement through the use of a non-planar microelectrode array to measure streaming potentials (Buschmann et al., 2004) without the need to control the force used by the surgeon to compress the cartilage. The calculation of the quantitative parameter (QP) is independent of the velocity of indentation or device orientation (Garon, 2007) since the software discards measurements when the loading time is outside the predefined limits, corresponding to high and low velocity, in order to minimize the effect of loading velocity on measurements. This device was previously used to assess degenerative changes on equine cartilage subjected *ex vivo* to high levels of mechanical impact and showed high reliability and excellent agreement between and within users' electromechanical measurements (Changoor et al., 2011a).

Histological scoring, biochemical analyses and biomechanical testing offer precise and specific measurements of cartilage structure and function (more so than MRI and X-ray) but involve destructive processing of tissue, and do not represent the entire joint surface. The objective of this study was to map electromechanical properties of cartilage across entire articular surfaces non-destructively with the hand-held Arthro-BSTTM and to relate these maps with histological, biochemical and biomechanical properties of cartilage. Since the structure and composition of articular cartilage are reflected by its electromechanical properties (Buschmann & Grodzinsky, 1995; Frank & Grodzinsky, 1987; Grodzinsky, 2011; Maroudas et al., 1969), we hypothesized that the Arthro-BST QP correlates directly with histological, biochemical and biomechanical properties of cartilage. A secondary hypothesis was that the Arthro-BST can precisely assess cartilage quality non-destructively and rapidly. To test these hypotheses, the electromechanical properties of articular surfaces of 8 human distal femurs were measured *ex vivo* with the Arthro-BST and

osteochondral cores were then harvested to obtain histological, biochemical and biomechanical properties of cartilage.

4.4 Methods

4.4.1 Sample source and preparation

Frozen cadaveric human distal femurs from research donors (n=8; -80°C; age range 35 to 43 years old; 3 females and 5 males; 4 left joints and 4 right joints) were provided by a tissue bank (RTI Surgical, Florida, USA). The articular surfaces were thawed in a plastic bag overnight at 4°C. The distal femur was cut through a horizontal plane with a band saw at the appropriate orientation to permit mounting in a chamber for electromechanical mapping (Figure 4.1-A). Distal femurs were fixed onto a cylindrical platform (D=85 mm) (Figure 4.1-B) and the platform with the attached femur was then fixed to a testing chamber (D=190 mm, H=100 mm) equipped with a camera (1280x960 pixels) and a positioning software (Mapping Toolbox software, Biomomentum Inc.) (Figure 4.2-A). The testing chamber was filled with phosphate buffered saline (pH 7.4) and a minimum of 15 minutes was allowed for equilibration prior to electromechanical mapping of the trochlea and anterior/central condyles (details below). Following core extraction, the central/posterior condyles were removed with a second band saw cut (Figure 4.1-C). The central/posterior condyles block was then fixed onto the cylindrical platform (Figure 4.1-D) and the platform to the testing chamber for mapping of the central/posterior condyles followed by core extraction (details below). None of the donors had documented joint pathologies, however shallow focal cartilage lesions were observed on the articular surfaces of 4 out of 8 femurs (see trochlear lesion in Figure 4.1-E).

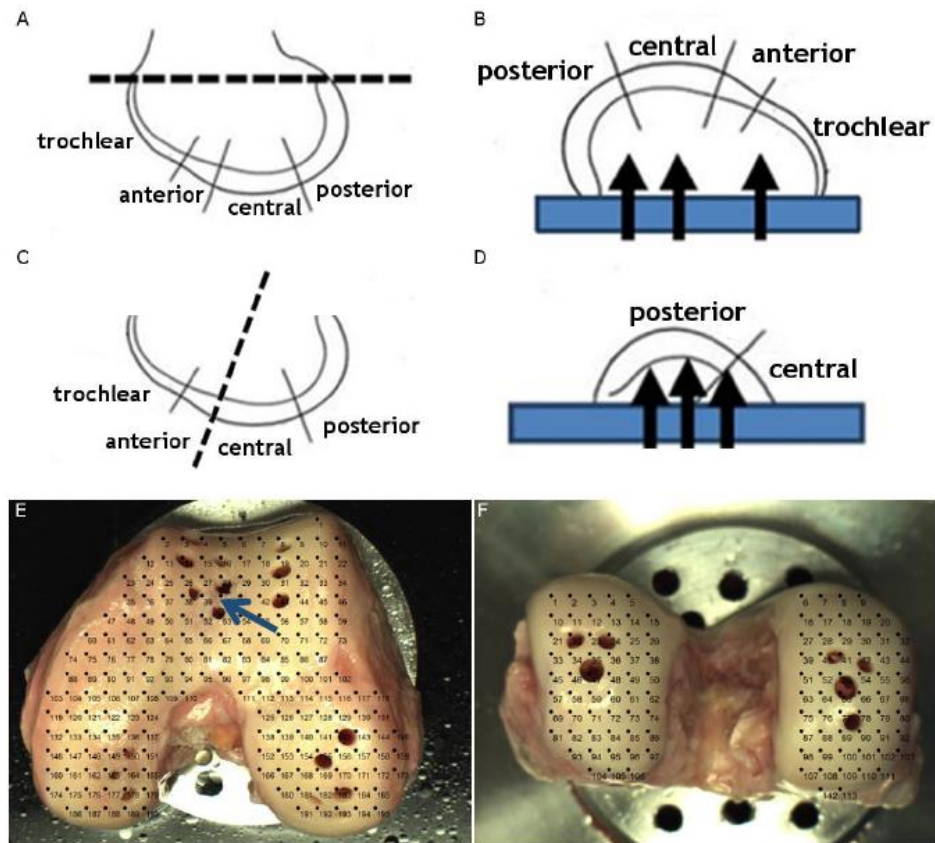


Figure 4.1: Trimming and fixation of the distal femur and central/posterior condyles onto the sample holder and cored sample with the position grid superimposed. (A) Distal femur cut horizontally with the band saw; (B) Fixation of the femur onto the cylindrical platform by screws positioned to remain at least 1 cm from the articular surface; (C) Central/posterior condyles cut with the band saw at the correct orientation; (D) Fixation of the central/posterior condyles onto the cylindrical platform by screws positioned to remain at least 1 cm from the articular surface; (E) Top view of the trochlea, anterior and central condyles cored; (F) Top view of the central/posterior condyles cored.

4.4.2 Arthro-BST mapping

The Arthro-BST™ (Biomomentum Inc.) measures streaming potentials generated during a rapid compression of the articular cartilage with an array of microelectrodes lying on a semi-spherical indenter (effective radius of the tip = 3.18 mm, 5 microelectrodes/mm²). The device calculates a quantitative parameter (QP, arbitrary units) of cartilage electromechanical activity corresponding to the number of microelectrodes in contact with the cartilage when the sum of their streaming potential reaches 100 mV. A high QP therefore indicates weak electromechanical properties and poor load-bearing capacity and low QP indicates strong electromechanical properties and high load-bearing capacity. Using the bench top version of the Arthro-BST, a positioning software overlays a 25 columns x 19 rows position grid (corresponding to ~9 sites per cm² on the articular surface) on the live video feed to help measurement registration and create a uniform mapping. The spherical indenter of the Arthro-BST was manually compressed onto the cartilage surface (Figure 4.2-B) for about one second at each position of the grid and the device displayed and recorded the corresponding QP.

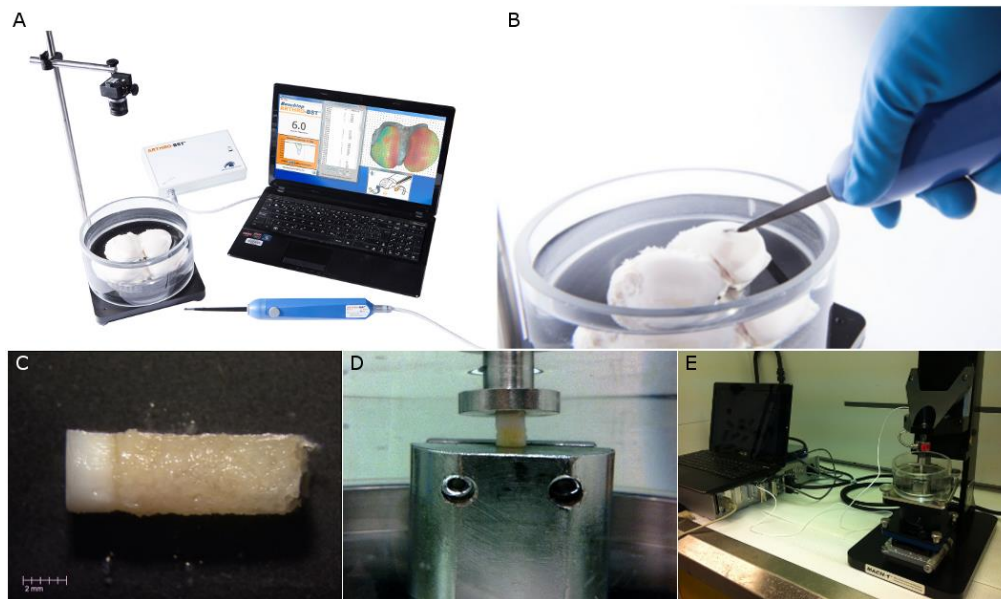


Figure 4.2: (A) Arthro-BST device with the testing chamber and the camera-positioning software; (B) Arthro-BST manually compressing the cartilage surface; (C) Photograph of an osteochondral core used for cartilage thickness measurement; (D) Photograph of the osteochondral core maintained in the sample holder during mechanical characterization; (E) Mechanical tester equipped with manual angular and horizontal positioner.

4.4.3 Core extraction

Following a macroscopic visual assessment of the articular surfaces, a total of 163 osteochondral cores were harvested from non-lesional and also from lesional regions in triplicate (histology, biomechanics and biochemistry). Lesional areas appeared only sporadically in the age range examined here (35-43 years) so most of the cores were from non-lesional regions. Osteochondral cores (length > 10 mm) were harvested using Smith and Nephew tubular chisels of 4.5 mm diameter (for histology) and 3.5 mm diameter (for biomechanical and biochemical analyses). Cores for histology were fixed in 10% neutral buffered formalin. After coring, the condyles and trochlea were placed back onto the testing chamber, visually repositioned and oriented as per the initial position and a second image was acquired to precisely (~1 mm) document the location of each core relative to the position grid used for Arthro-BST measurements (Figure 4.1-E and F). The Arthro-BST's electromechanical QP corresponding to the cored site was calculated as the average of all QPs measured within 6 mm from the core center location and was between 1 to a maximum of 4 QP measures. In total, 59 cores were isolated for histological assessment only, 53 cores for biochemical analysis and 51 cores for biomechanical testing followed by histology.

4.4.4 Histoprocessing and Staining

Each sample for histology was decalcified in 0.5N HCl/0.1% glutaraldehyde. Samples were dehydrated and cleared in ethanol and xylene, infiltrated with paraffin and embedded in paraffin. Then, 5 µm paraffin sections were obtained with a RM2155 (Leica) motorized microtome and collected on Superfrost plus slides. The sections were stained with Safranin O-Fast Green (Hoemann et al., 2011) and scored with the Mankin histological-histochemical grading system (Mankin et al., 1971) by one blinded observer. Furthermore, mounted unstained sections from 68 of the cores were scored by two blinded observers using a validated polarized light microscopy (PLM) qualitative score for collagen structure (Changoor et al., 2011b), where a score of 5 indicates that collagen is stratified into 3 distinct zones (superficial, transitional and radial) of the correct proportions and birefringence properties while a score of 0 indicates that the collagen is completely disorganized.

4.4.5 Biochemical testing

Water content, glycosaminoglycan (GAG), collagen and DNA content per wet weight and dry weight were determined as previously published (Hoemann, 2004; Hoemann et al., 2002). Briefly, full thickness cartilage biopsies ($n = 53$) were thawed on ice, weighed, lyophilized for 24 hours and re-weighed to obtain water content. Samples were incubated in 125 $\mu\text{g/mL}$ papain digestion cocktail in sterile L-cysteine/phosphate buffer EDTA (PBE) (50 μL digestion cocktail per mg of biopsy wet weight) for 16h at 60°C. PicoGreen assay (Singer et al., 1997) was performed on duplicate samples of the papain digest and DNA content obtained with a standard curve of calf thymus DNA with chondrocyte DNA content set at 7.7 picogram per cell (Kim et al., 1988). The DMMB assay (Farndale et al., 1986) was performed on duplicate samples of the papain digest and GAG content was obtained with a standard curve of shark Chondroitin Sulfate C sodium salt. Papain digested samples were also hydrolyzed with HCl at 110°C for 18 hours and the hydroxyproline (HPR) (Stegemann & Stalder, 1967) assay was then performed on duplicate samples to obtain collagen content using a standard curve of trans-4-hydroxy-L-proline and a conversion factor of 13.15%.

4.4.6 Biomechanical testing

The thickness of the cartilage layer of each osteochondral core ($D=3.5$ mm) was measured under a calibrated dissection microscope (Figure 4.2-C) as the average of 6 measurements at two different angles using the Northern Eclipse software version 8 (EMPIX Imaging Inc., Mississauga, Canada). Each core was thawed and equilibrated in PBS for at least 20 minutes prior to thickness measurement and was then gripped by the bone portion into a threaded core sample holder leaving the cartilage layer completely outside of the grip (Figure 4.2-D). This sample holder assembly was fixed to the bottom of a testing chamber ($D=100$ mm, $H=50$ mm), filled with PBS and mounted onto a Mach-1 mechanical tester (Biomomentum Inc.) (Langelier & Buschmann, 2003) (Figure 4.2-E). Cores were tested in unconfined compression using stress relaxation (precompression of 10% of thickness followed by 5 compressions each of 2% of thickness). The 2% stress relaxation ramps were individually fit to the linear fibril-network-reinforced biphasic model (Soulhat et al., 1999) using the Mach-1 Analysis software with Add-on for unconfined compression

(Biomomentum Inc.) with the following parameters: disk radius = 1.75 mm, deformation = 0.02, effective Poisson's ratio = 0. The following parameters were determined from each fit to the model: the fibril modulus E_f (in MPa), the matrix modulus E_m (in MPa) and the hydraulic permeability k (in $10^{-12} \text{ m}^4/\text{N}\cdot\text{s}$).

4.4.7 Statistical analysis

The relationships between the QP and histological, biochemical or biomechanical parameters were assessed by parametric correlation analyses using Pearson's correlation coefficient (r); 95% two-sided confidence intervals for correlation coefficients were calculated. A multiple regression analysis was performed using a mixed effects model, with QP as the response variable, to examine the relationships between the electromechanical QP and each family of independent variables – histological, biochemical and biomechanical. Note that these best fit equations have not been cross-validated using another data set. For biochemical parameters, independent Student's t -tests were performed to examine the difference between the means of lesional and non-lesional regions. For all statistical tests, a p -value of 0.05 (two sided) or smaller was considered statistically significant. Statistical analyses were performed with SAS version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

4.5 Results

4.5.1 Electromechanical QP correlates with histological scores

The total Mankin score (scale 0 for normal cartilage to 14 for totally degraded cartilage) was on average 1 for non-lesional cores (82% of cores) and 5 for lesional cores, indicating that only mild to moderate cartilage degeneration was present occasionally on the femurs. For analyses, the cores were stratified into three Mankin score groups (0-2, 3-5 and 6-9). For the first group (Mankin 0-2), the histological slides were normal or had a slight roughening of the cartilage surface (Figure 4.3-A). For the intermediate group (Mankin 3-5), decreased Safranin O staining and structural alterations were apparent in the superficial zone (Figure 4.3-B). Clefs and GAG depletion as assessed by reduced Safranin O staining were observed for the most degenerated group (Mankin

6-9) (Figure 4.3-C). Similarly, cores assessed by the PLM collagen score (scale 0 (entirely disorganized) to 5 (normal)) were divided into two groups: PLM score 3-5 (Figure 4.3-D) which all have 3 distinct zones of collagen structure (as in superficial, transitional, radial) and a PLM score of 0-2 (Figure 4.3-E) where less than 3 zones were apparent. Table 4.1 shows that a positive correlation was found between electromechanical QP and Mankin score ($r=0.73$, $p<0.0001$, Table 4.1), while a negative correlation was observed between QP and PLM score ($r=-0.70$, $p<0.0001$, Table 4.1). A multiple regression analysis revealed that the electromechanical QP is more closely related to the Mankin histological score ($p<0.0001$, Table 4.2) than to the PLM score ($p=0.6232$, Table 4.2).

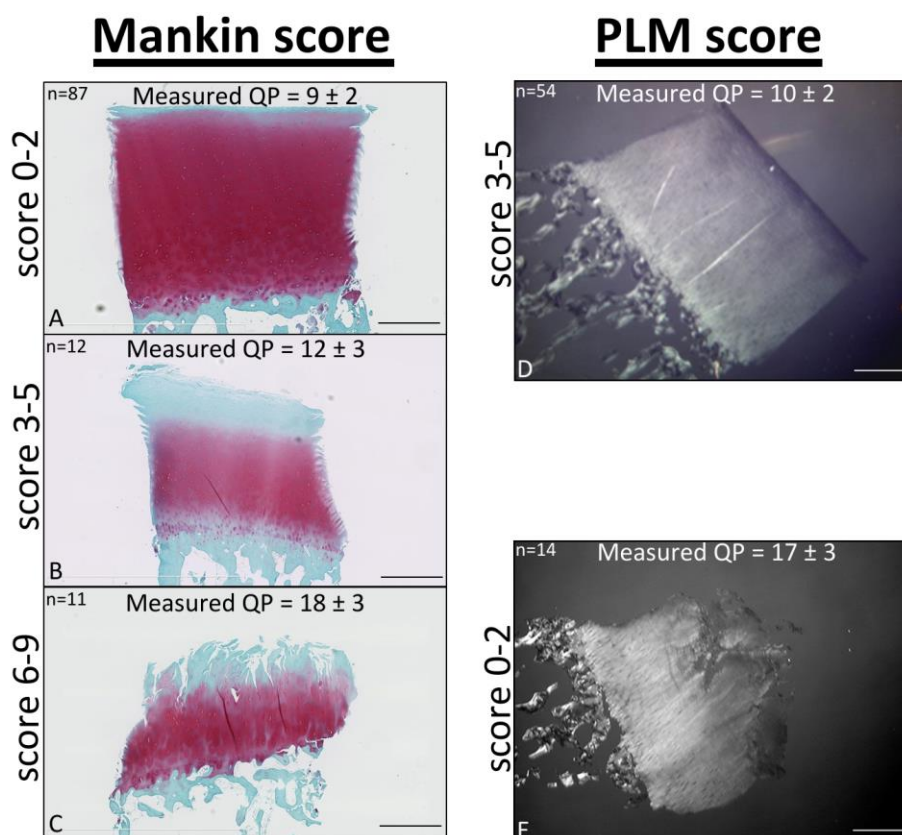


Figure 4.3: (A, B, C) Representative Safranin O/Fast Green stained sections for three groups of the Mankin score and the corresponding electromechanical QP (mean \pm SD, N = 110 cores); (D, E) Representative Polarized Light Microscopy (PLM) slides for two groupings of the PLM score and the corresponding QP (mean \pm SD, N = 68 cores). Bars = 1 mm.

4.5.2 Electromechanical QP weakly correlates with glycosaminoglycan and water content

As expected, there was a significant increase in water content in cores extracted from lesional regions compared to non-lesional regions (average water content was 82 ± 4 % (N=6) versus 74 ± 4 % (N=42) respectively; $p=0.0002$ with an independent Student's *t*-test). The cores collected from lesional regions also had decreased GAG per wet weight content (average was 24 ± 13 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (N=6) in lesional versus 44 ± 13 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (N=42) in normal areas; $p=0.0009$ with an independent Student's *t*-test) and GAG per dry weight content (average was 116 ± 37 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (N=6) in lesional versus 163 ± 52 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (N=41) in normal areas; $p=0.04$ with an independent Student's *t*-test). Collagen content and cell density were similar in lesional and non-lesional regions (average collagen content was 0.11 ± 0.03 mg/mg (N=43) wet weight or 0.45 ± 0.12 mg/mg (N=43) dry weight with $16,400 \pm 3,400$ cells/ mg (N=48) wet weight or $68,300 \pm 22,000$ cells/ mg (N=48) dry weight). There was a weak correlation of the electromechanical QP with increasing water content ($r=0.39$, $p=0.006$; Figure 4.4-A, Table 4.1). Also, there was a weak correlation of the electromechanical QP with decreasing GAG content (chondroitin sulfate) per wet weight ($r=-0.50$, $p=0.0003$; Figure 4.4-B, Table 4.1) and between the electromechanical QP and GAG content per dry weight ($r=-0.31$, $p=0.0316$, Table 4.1). There was no correlation between electromechanical QP and the other biochemical parameters: collagen content per wet and dry weight and number of cells per wet and dry weight (Figure 4.4-C and D, Table 4.1). The multiple regression analysis showed that the water content ($p=0.0070$, Table 4.2) was more significant in modelling QP than the GAG content per dry weight ($p=0.1305$, Table 4.2).

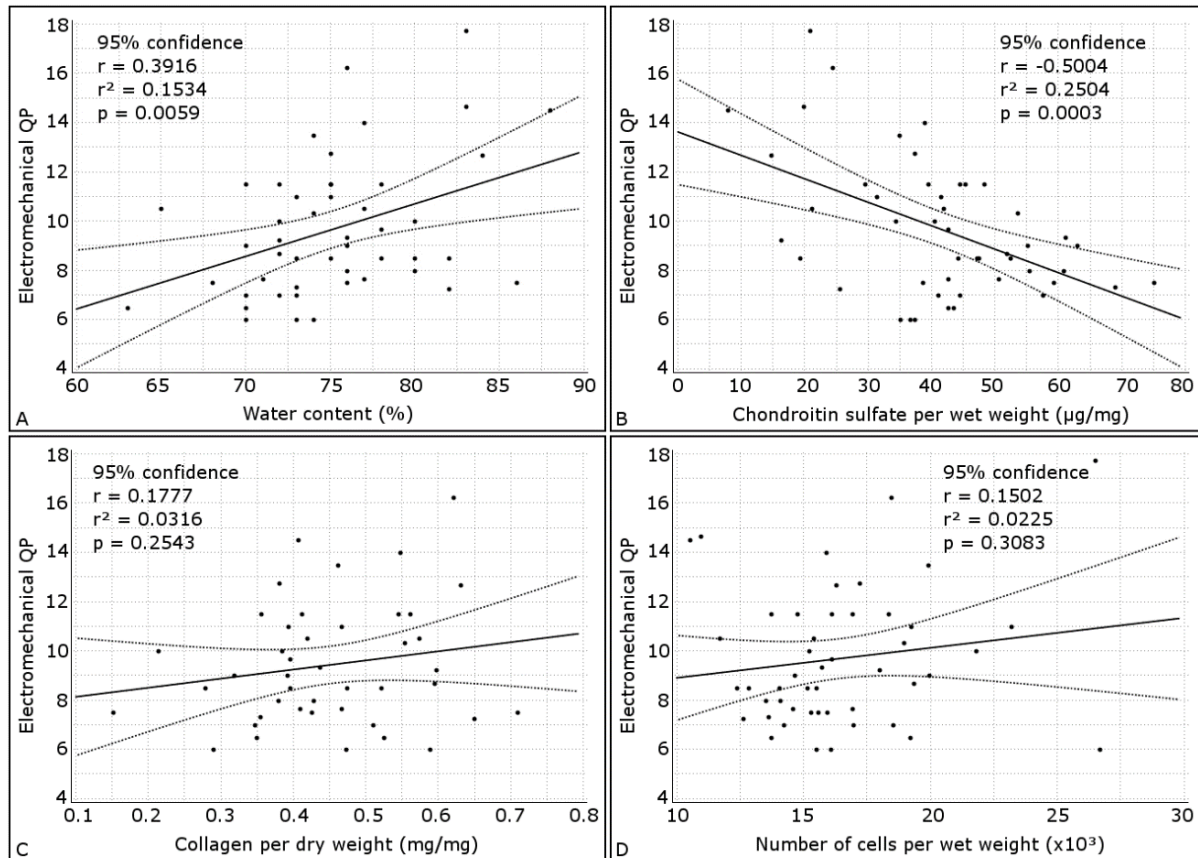


Figure 4.4: (A) Positive correlation between electromechanical QP and water content; (B) Negative correlation between electromechanical QP and GAG content (chondroitin sulfate per wet weight); (C) No correlation between electromechanical QP and collagen per dry weight; (D) No correlation between electromechanical QP and number of cells per wet weight.

4.5.3 Electromechanical QP correlates with biomechanical properties

A high QP indicates cartilage degeneration with weaker electromechanical properties which relate to biomechanical weakening revealed by lower modulus and higher hydraulic permeability. Following the normality test, the natural logarithm of permeability had a more normal distribution than permeability itself. Also, its regression with QP was more linear than permeability. Thus, the natural logarithm of permeability was used for subsequent statistical analysis (Table 4.1). Higher QP values were correlated strongly with decreasing E_f ($r=-0.76$, $p<0.0001$; Figure 4.5-A, Table 4.1) and E_m ($r=-0.69$, $p<0.0001$; Figure 4.5-B, Table 4.1), and increasing permeability ($\log(k)$) ($r=0.72$, $p<0.0001$; Figure 4.5-C, Table 4.1). The cartilage samples had an average thickness of

2.67 ± 0.47 mm (obtained with a calibrated dissection microscope) and no correlation was found between the electromechanical QP and the thickness ($r=0.08$, $p=0.5852$; Figure 4.5-D). The multiple regression analysis showed that the electromechanical QP was most closely related to E_f ($p=0.0012$, Table 4.2) and the natural logarithm of permeability ($p=0.0394$, Table 4.2) than E_m ($p=0.4510$, Table 4.2).

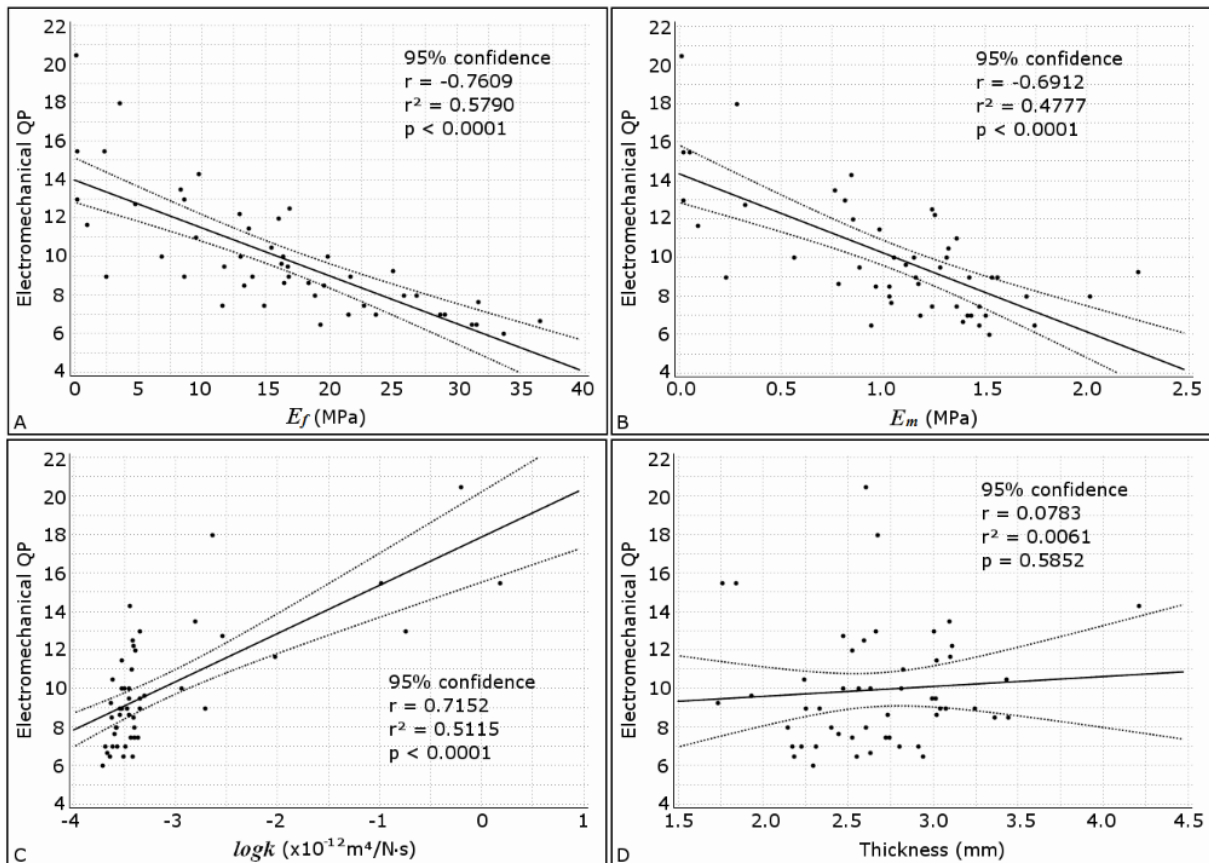


Figure 4.5: (A) Negative correlation between electromechanical QP and fibril modulus E_f ; (B) Negative correlation between electromechanical QP and matrix modulus E_m ; (C) Positive correlation between electromechanical QP and permeability $\log k$; (D) No correlation between the electromechanical QP and cartilage thickness obtained with a calibrated dissection microscope.

Table 4.1: Parametric Univariate Statistical Analysis (values in bold are statistically significant)

<i>Parameters</i>	QP	Pearson's correlation r	95% C. I. lower	95% C.I. upper	p-value <0.05
<i>Biomechanical</i>	Fibril Modulus E_f	-0.76	-0.8563	-0.6053	$p < 0.0001$
	Matrix Modulus E_m	-0.69	-0.8117	-0.5035	$p < 0.0001$
	Permeability k	0.46	0.2025	0.6546	$p = 0.0008$
	Natural logarithm of Permeability $\log k$	0.72	0.5380	0.8272	$p < 0.0001$
	Thickness	0.08	-0.2024	0.3457	$p = 0.5852$
<i>Histological</i>	Mankin score	0.73	0.6333	0.8090	$p < 0.0001$
	PLM score	-0.70	-0.8015	-0.5487	$p < 0.0001$
<i>Biochemical</i>	Water content	0.39	0.1169	0.6055	$p = 0.006$
	GAG per wet weight	-0.50	-0.2471	-0.6841	$p = 0.0003$
	GAG per dry weight	-0.31	-0.5490	-0.0260	$p = 0.0316$
	Collagen per dry weight				
	Number of cells per wet weight	0.18	-0.1316	0.4521	$p = 0.2543$

Table 4.2: Multiple Regression Statistical Analysis (values in bold are statistically significant)

<u>Parameters</u>	model QP	Coefficient estimates of fixed effects	95% C.I. lower	95% C.I. upper	p-value
<i>Biomechanical</i>	QP = a* Ef + b* Em + c*logk				
	a	-0.1527	-0.241	-0.064	0.0012
	b	-0.6888	-2.520	1.142	0.4510
	c	1.0720	0.055	2.089	0.0394
<i>Histological</i>	QP = d*Mankin score + e*PLM score				
	d	1.0699	0.6600	1.4799	<0.0001
	e	-0.2415	-1.2200	0.7371	0.6232
<i>Biochemical</i>	QP = f*water content + g*GAG per dry weight				
	f	0.2075	0.0604	0.3546	0.0070
	g	-0.0115	-0.0266	0.0036	0.1305

4.6 Discussion

The purpose of this study was to relate measurements obtained with a hand-held electromechanical device (Arthro-BSTTM) that maps electromechanical properties of cartilage across an entire surface non-destructively, to histological, biochemical and biomechanical properties of osteochondral cores harvested at different locations from 8 human distal femurs. The electromechanical QP correlated strongly with the Mankin score (Figure 4.3), the PLM score of collagen organization (Figure 4.3) and with unconfined compression mechanical parameters (Figure 4.5); while weaker correlations were observed with the biochemical composition (GAG per dry or wet weight) and water content (Figure 4.4). The secondary hypothesis that the Arthro-BST provides precise and rapid non-destructive assessments of cartilage quality was also borne out by these correlations and the fact that the electromechanical mapping of an entire articular surface takes around 30 minutes to complete while histological, biochemical or biomechanical characterizations require several days or weeks and only provide information on specific locations that are consumed by the analyses.

This study confirmed the hypothesis that electromechanical QP is strongly related to the structure and organization of the collagen network and to GAG content revealed by polarized light microscopy and Safranin-O-Fast Green staining, respectively. This relationship is consistent with prior work where a disorganised structure in degenerated cartilage (Abedian et al., 2013; Kleemann et al., 2005) was related to streaming potentials (Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). It is important to note that previous work (Abedian et al., 2013; Changoor et al., 2011a; Changoor et al., 2010; Changoor et al., 2007; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002) reported the streaming potentials measurements as streaming potential integral (SPI) while in the present study; it is reported as a quantitative parameter (QP) which reflects the number of microelectrodes in contact with the articular cartilage when the sum reaches 100mV. The new parameter QP is consequently inversely proportional to SPI. The new parameter QP has significant advantages versus SPI including the simplicity of calculation and robustness to noise. As reported by others, the proteoglycan content decreases rapidly relative to the collagen content during the progression of OA, but while the collagen content is maintained, its organization and integrity is severely perturbed (Pearle et al., 2005). Those changes of collagen organization in articular cartilage are revealed by polarized light microscopy (Changoor et al., 2011b) where a strong correlation between

the PLM score and the electromechanical assessment was found here. In the multiple regression analysis, the Mankin score was more closely related to QP than PLM, possibly since the Mankin score accounts for more than just collagen related features when assessing matrix integrity. Nonetheless both histological assessments were strongly related to electromechanics where a lower electromechanical QP indicates better quality articular cartilage; corresponding to a lower Mankin score (Figure 4.6) and a higher PLM score.

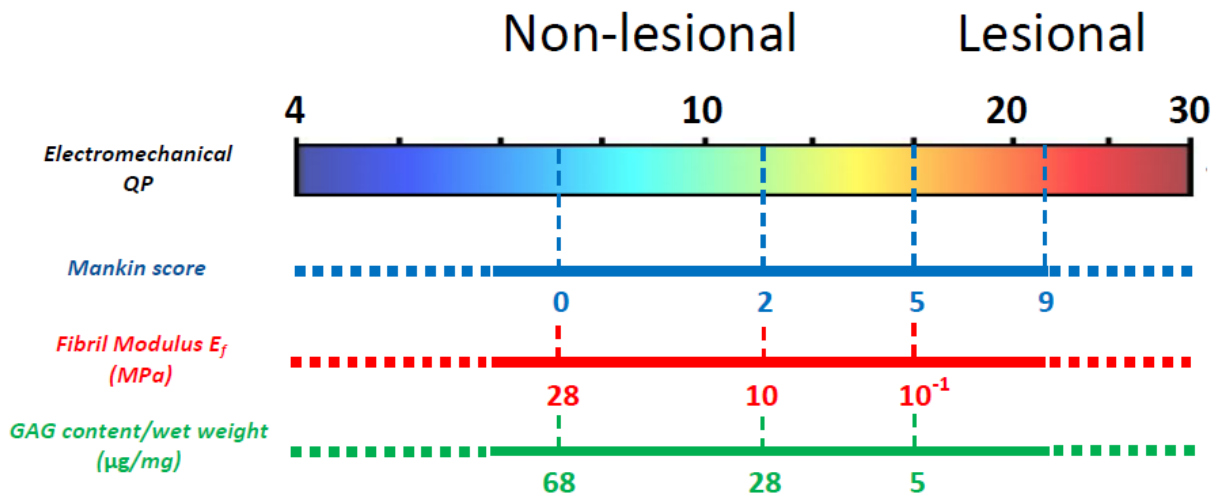


Figure 4.6: The electromechanical QP (logarithmic scale) correspondence with the 3 parameters showing the highest statistical correlations, i.e. Mankin score, Fibril Modulus E_f and GAG content per wet weight based on multiple regression analysis. The solid portions of the blue, red, and green lines correspond to the measured QP in this study, i.e. from 6 to 22. The electromechanical QP increases from 7 to ~11 indicating slight cartilage degeneration corresponding to: i) Mankin scores increasing from 0 to 2, ii) Fibril modulus E_f decreasing from > 20 to ~10 MPa and, iii) GAG content decreasing from 68 to ~28 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Further increase of QP from 11 to 15 corresponds to: i) Mankin scores increasing from 2 to 5, ii) Fibril modulus E_f decreasing from 10 to ~ 10^{-1} MPa and, iii) GAG content decreasing from 28 to ~5 $\mu\text{g}/\text{mg}$. QP values above 15 correspond to yet more advanced cartilage degeneration on histological, biomechanical and biochemical scales.

Biochemical composition is also expected to be reflected in the electromechanical QP. In our study QP correlated positively with water content since the disruption of the collagen network leads to GAG loss and tissue swelling (Bonassar et al., 1995; Franz et al., 2001; Grodzinsky, 2011) and increased water content from degeneration. Moreover, proteoglycan loss is one of the early sign of cartilage degradation (Buckwalter & Mankin, 1997) and QP also correlated with GAG content that are the source of negative fixed charge (Legare et al., 2002). Simple collagen content was not related to the electromechanical QP as it is more the integrity of the collagen network rather than its content (Franz et al., 2001) that changes with degeneration. Effectively, in the early degeneration phase of articular cartilage, the collagen content is initially maintained but there is severe disruption in the collagen architecture (Pearle et al., 2005). Moreover, our measured biochemical composition for non-lesional articular cartilage fall in close agreement with previously published values (Hoemann, 2004). Our findings show that electromechanical measurements are sensitive to abnormally high tissue water content and corresponding lower fixed charge density, which are important characteristics of early cartilage degradation.

In addition to histological features and biochemical composition, electromechanical QP correlated with unconfined compression mechanical properties, as expected, since streaming potentials are known to reflect the structure and composition of articular cartilage (Bonassar et al., 1995; Frank & Grodzinsky, 1987; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). Osteochondral cores with a high fibril modulus ($E_f > 20$ MPa) have excellent integrity of the extracellular matrix (confirmed by histology) and strong electromechanical properties (with QP between 6 and 7). In the multiple regression analysis, the effect of E_f on the electromechanical QP was predominant compared to the effect of E_m or $\log k$. Since the electromechanical QP measurement consists of a near instantaneous indentation, this result is consistent with previously published studies where the response to instantaneous compression was mainly controlled by the integrity of the collagen network (Franz et al., 2001; Mow et al., 1990).

The correspondence of the electromechanical QP to histological, biomechanical and biochemical parameters can be summarised visually on a logarithmic scale (Fig. 6). It should be mentioned that the scale of the electromechanical QP could reach 30 suggesting a wider dynamic range than the other parameters. This would allow highlighting even higher levels of degradation that are not seen

in this study that uses mostly healthy non-lesional cartilage. This direct relationship between the electromechanical QP and histological scores, fibril modulus E_f and GAG content support the use of this non-destructive electromechanical assessment as a surrogate for destructive and time-consuming assessments of articular cartilage properties.

In the interpretation of our data, it is also important to keep in mind that about 90% of the area of the articular surfaces (82% of the cores) was non-lesional. It is expected that the inclusion of more degenerated articular surfaces in the study would have strengthened the observed correlations. Also, the inclusion of physiological parameters such as age, gender, BMI or smoking habits could further specify a more general model relating electromechanical QP to cartilage and patient-specific parameters. One limitation of the Arthro-BST is that for low QP (< 4), it is difficult to distinguish exceptionally high electromechanical properties of the cartilage from an extreme thinness due to the geometry of the indenter and its limitations for thin cartilage. One solution to address this issue is that a very low QP will be compared to a reference QP map, and be categorized as degenerated if it is much lower than normal, thus indicating thinness rather than high electromechanical properties. This particular limitation of the device caused no problem in the current study since the lowest average QP obtained was 6. Nonetheless, it will be important to account for in studies of cartilage repair where the repaired cartilage may be thinner than normal cartilage. We also found that the electromechanical QP did not correlate with thickness, which is reasonable since the indenter force was previously found to be independent of thickness for thickness ranging from 2 to 4 mm (Lyyra et al., 1995), in contrast to measurements on thinner cartilage where a correlation between the streaming potentials and the thickness was seen (Garon, 2007).

These results suggest that the non-destructive evaluation of cartilage electromechanical properties by the Arthro-BST is more sensitive to the integrity and the structure of the extracellular matrix. Considering the fact that the non-destructive mapping of an entire distal femur with a high resolution (about 300 measures per distal femur) takes about 30 minutes, the Arthro-BST can provide a rapid and reliable tool for cartilage assessment where spatially resolved measurements over the entire surface are desired. For example, the Arthro-BST could be useful in the quantitative evaluation and mapping of the electromechanical properties of entire articular surfaces in cartilage

repair studies or studies of wear-patterns in osteoarthritis. Moreover, the device could be useful in cartilage research in general to further understanding of cartilage diseases, and to develop new therapeutic products, cartilage repair techniques and reliable animal models of osteoarthritis. Additionally, since that the Arthro-BST has been designed for compatibility with arthroscopy, it could reveal itself useful in assessing the cartilage quality during surgery and could aid in the establishment of treatment algorithms.

4.7 Acknowledgements

We acknowledge the technical contributions of Geneviève Picard, Gabrielle Picard, Hubert Camirand, Marie-Hélène Boulanger and Sylvain Gaufrès. Funding provided by the National Sciences and Engineering Research Council (NSERC), the Fonds de recherche du Québec - Nature et technologies (FRQNT) and Biomomentum Inc.

4.8 Role of funding source

Operating grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and from Biomomentum Inc. paid for all experimental procedures, graduate student stipends, salary support for research staff, and towards presentation of findings at the International Cartilage Repair Society World Congress (September 2013, Izmir, Turkey) and the Orthropeadic Research Society 2014 Annual Meeting (March 2014, New Orleans, LA, USA). The National Sciences and Engineering Research Council (NSERC), the Fonds de recherche du Québec - Nature et technologies (FRQNT) and Biomomentum Inc. funded Sim Sotcheadt scholarship. The FRQ-Santé Groupe de Recherche en Sciences et Technologies Biomédicales (GRSTB) funds provided histology service.

4.9 Conflict of interest

E. Quenneville and M. Garon are the owners of Biomomentum Inc.

4.10 References

- Abedian, R., Willbold, E., Becher, C., & Hurschler, C. (2013). In vitro electro-mechanical characterization of human knee articular cartilage of different degeneration levels: a comparison with ICRS and Mankin scores. *J Biomech*, *46*(7), 1328-1334. doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.02.004
- Athanasiou, K., & Constantinides, G. (1995). United States Patent No. 5433215.
- Bonassar, L. J., Jeffries, K. A., Paguio, C. G., & Grodzinsky, A. J. (1995). Cartilage degradation and associated changes in biochemical and electromechanical properties. *Acta Orthop Scand Suppl*, *266*, 38-44.
- Brama, P. A., Barneveld, A., Karssenbergh, D., Van Kampen, G. P., & van Weeren, P. R. (2001). The application of an indenter system to measure structural properties of articular cartilage in the horse. Suitability of the instrument and correlation with biochemical data. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, *48*(4), 213-221.
- Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1997). Articular cartilage, Part II: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation. *J Bone Joint Surg Am*, *79*, 612-632.
- Buschmann, M. D., & Grodzinsky, A. J. (1995). A molecular model of proteoglycan-associated electrostatic forces in cartilage mechanics. *J Biomech Eng*, *117*(2), 179-192.
- Buschmann, M. D., Guardo, R., Garon, M., Le Guyader, P., & Savard, P. (1998). United States Patent No. 5779651.
- Buschmann, M. D., Legare, A., Garon, M., & Savard, P. (2004). EP1199983.
- Changoor, A., Coutu, J. P., Garon, M., Quenneville, E., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2011a). Streaming potential-based arthroscopic device is sensitive to cartilage changes immediately post-impact in an equine cartilage injury model. *J Biomech Eng*, *133*(6), 061005. doi: 10.1115/1.4004230
- Changoor, A., Fereydoonzad, L., Yaroshinsky, A., & Buschmann, M. D. (2010). Effects of refrigeration and freezing on the electromechanical and biomechanical properties of articular cartilage. *J Biomech Eng*, *132*(6), 064502. doi: 10.1115/1.4000991
- Changoor, A., Quenneville, E., Garon, M., Cloutier, L., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2007). *Streaming potential based arthroscopic device discerns topographical differences in cartilage covered and uncovered by meniscus in ovine stifle joints*. Paper presented at the Orthopaedic Research Society.

- Changoor, A., Tran-Khanh, N., Methot, S., Garon, M., Hurtig, M. B., Shive, M. S., & Buschmann, M. D. (2011b). A polarized light microscopy method for accurate and reliable grading of collagen organization in cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage*, *19*(1), 126-135. doi: 10.1016/j.joca.2010.10.010
- Farndale, R. W., Buttle, D. J., & Barrett, A. J. (1986). Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue. *Biochim Biophys Acta*, *883*(2), 173-177.
- Frank, E. H., & Grodzinsky, A. J. (1987). Cartilage electromechanics--I. Electrokinetic transduction and the effects of electrolyte pH and ionic strength. *J Biomech*, *20*(6), 615-627.
- Frank, E. H., Salant, E. P., & Grodzinsky, A. J. (1993). United States Patent No. 5246013.
- Franz, T., Hasler, E. M., Hagg, R., Weiler, C., Jakob, R. P., & Mainil-Varlet, P. (2001). In situ compressive stiffness, biochemical composition, and structural integrity of articular cartilage of the human knee joint. *Osteoarthritis Cartilage*, *9*(6), 582-592. doi: 10.1053/joca.2001.0418
- Garon, M. (2007). *Conception et validation d'une sonde arthroscopique pour l'évaluation des propriétés électromécaniques fonctionnelles du cartilage articulaire*.
- Garon, M., Legare, A., Guardo, R., Savard, P., & Buschmann, M. D. (2002). Streaming potentials maps are spatially resolved indicators of amplitude, frequency and ionic strength dependant responses of articular cartilage to load. *J Biomech*, *35*(2), 207-216.
- Gelse, K., Olk, A., Eichhorn, S., Swoboda, B., Schoene, M., & Raum, K. (2010). Quantitative ultrasound biomicroscopy for the analysis of healthy and repair cartilage tissue. *Eur Cell Mater*, *19*, 58-71.
- Grodzinsky, A. J. (2011). *Fields, Forces and Flows in Biological Systems* (First Edition ed.). New York: Garland Science.
- Hoemann, C. D. (2004). Molecular and biochemical assays of cartilage components. *Methods Mol Med*, *101*, 127-156. doi: 10.1385/1-59259-821-8:127
- Hoemann, C. D., Kandel, R., Roberts, S., Saris, D. B., Creemers, L., Mainil-Varlet, P., . . . Buschmann, M. D. (2011). International Cartilage Repair Society (ICRS) Recommended Guidelines for Histological Endpoints for Cartilage Repair Studies in Animal Models and Clinical Trials. *Cartilage*, *2*(2), 153-172. doi: 10.1177/1947603510397535

- Hoemann, C. D., Sun, J., Chrzanowski, V., & Buschmann, M. D. (2002). A multivalent assay to detect glycosaminoglycan, protein, collagen, RNA, and DNA content in milligram samples of cartilage or hydrogel-based repair cartilage. *Anal Biochem*, *300*(1), 1-10. doi: 10.1006/abio.2001.5436
- Johansson, A., Sundqvist, T., Kuiper, J. H., & Oberg, P. A. (2011). A spectroscopic approach to imaging and quantification of cartilage lesions in human knee joints. *Phys Med Biol*, *56*(6), 1865-1878. doi: 10.1088/0031-9155/56/6/021
- Jurvelin, J., Kiviranta, I., & Toyras, J. (2005). United States Patent No. 20050043623.
- Kim, Y. J., Sah, R. L., Doong, J. Y., & Grodzinsky, A. J. (1988). Fluorometric assay of DNA in cartilage explants using Hoechst 33258. *Anal Biochem*, *174*(1), 168-176.
- Kiviranta, I., & Jurvelin, J. (1996). United States Patent No. 5494045.
- Kleemann, R. U., Krockner, D., Cedraro, A., Tuischer, J., & Duda, G. N. (2005). Altered cartilage mechanics and histology in knee osteoarthritis: relation to clinical assessment (ICRS Grade). *Osteoarthritis Cartilage*, *13*(11), 958-963. doi: 10.1016/j.joca.2005.06.008
- Langelier, E., & Buschmann, M. D. (2003). Increasing strain and strain rate strengthen transient stiffness but weaken the response to subsequent compression for articular cartilage in unconfined compression. *J Biomech*, *36*(6), 853-859.
- Legare, A., Garon, M., Guardo, R., Savard, P., Poole, A. R., & Buschmann, M. D. (2002). Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J Orthop Res*, *20*(4), 819-826. doi: 10.1016/S0736-0266(02)00002-5
- Lyyra, T., Jurvelin, J., Pitkanen, P., Vaatainen, U., & Kiviranta, I. (1995). Indentation instrument for the measurement of cartilage stiffness under arthroscopic control. *Med Eng Phys*, *17*(5), 395-399.
- Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., & Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, *53*(3), 523-537.
- Maroudas, A., Muir, H., & Wingham, J. (1969). The correlation of fixed negative charge with glycosaminoglycan content of human articular cartilage. *Biochim Biophys Acta*, *177*(3), 492-500.

- Michael, J. W., Schluter-Brust, K. U., & Eysel, P. (2010). The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee. *Dtsch Arztebl Int*, *107*(9), 152-162. doi: 10.3238/arztebl.2010.0152
- Mow, V. C., Fithian, D. C., & Kelly, M. A. (1990). Articular cartilage and knee joint function: basic science and arthroscopy. In J. W. Ewing (Ed.), *Fundamentals of articular cartilage and meniscus biomechanics* (pp. 1-18). New York: Raven Press.
- Niederauer, M. Q., Wilkes, R. P., Niederauer, G. M., Cristante, S., Cline, S. F., & Tynmann, R. A. (1999). United States Patent No. 5904658.
- Pearle, A. D., Warren, R. F., & Rodeo, S. A. (2005). Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Clin Sports Med*, *24*(1), 1-12. doi: 10.1016/j.csm.2004.08.007
- Sato, M., Ishihara, M., Kikuchi, M., & Mochida, J. (2011). A diagnostic system for articular cartilage using non-destructive pulsed laser irradiation. *Lasers Surg Med*, *43*(5), 421-432. doi: 10.1002/lsm.21065
- Singer, V. L., Jones, L. J., Yue, S. T., & Haugland, R. P. (1997). Characterization of PicoGreen reagent and development of a fluorescence-based solution assay for double-stranded DNA quantitation. *Anal Biochem*, *249*(2), 228-238. doi: 10.1006/abio.1997.2177
- Soulhat, J., Buschmann, M. D., & Shirazi-Adl, A. (1999). A fibril-network-reinforced biphasic model of cartilage in unconfined compression. *J Biomech Eng*, *121*(3), 340-347.
- Spahn, G., Felmet, G., & Hofmann, G. O. (2013). Traumatic and degenerative cartilage lesions: arthroscopic differentiation using near-infrared spectroscopy (NIRS). *Arch Orthop Trauma Surg*, *133*(7), 997-1002. doi: 10.1007/s00402-013-1747-0
- Spahn, G., Klinger, H. M., Baums, M., Pinkepank, U., & Hofmann, G. O. (2011). Reliability in arthroscopic grading of cartilage lesions: results of a prospective blinded study for evaluation of inter-observer reliability. *Arch Orthop Trauma Surg*, *131*(3), 377-381. doi: 10.1007/s00402-011-1259-8
- Stegemann, H., & Stalder, K. (1967). Determination of hydroxyproline. *Clin Chim Acta*, *18*(2), 267-273.
- Viren, T., Saarakkala, S., Jurvelin, J. S., Pulkkinen, H. J., Tiitu, V., Valonen, P., . . . Toyras, J. (2010). Quantitative evaluation of spontaneously and surgically repaired rabbit articular cartilage using intra-articular ultrasound method in situ. *Ultrasound Med Biol*, *36*(5), 833-839. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.02.015

**CHAPITRE 5 ARTICLE 2: ELECTROMECHANICAL PROBE AND
AUTOMATED INDENTATION MAPS ARE SENSITIVE TECHNIQUES
IN ASSESSING EARLY DEGENERATED HUMAN ARTICULAR
CARTILAGE**

Sotcheadt Sim^{1,2}, Anik Chevrier¹, Martin Garon², Eric Quenneville², Patrick Lavigne³, Alex Yaroshinsky⁴, Caroline D Hoemann^{1,5} and Michael D Buschmann^{1,5*}

¹Department of Chemical Engineering and Institute of Biomedical Engineering, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

²Biomomentum Inc., 970 Michelin St., Suite 200, Laval, Quebec H7L 5C1, Canada ³Department of Surgery, University of Montreal, P.O. Box 6128, Station Centre-Ville, Quebec H3C 3J7

⁴Vital Systems, Inc., 3701 Algonquin Rd, Suite 360 Rolling Meadows, Illinois 60008, USA

⁵Groupe de Recherche en Sciences et Technologies Biomédicales, Polytechnique Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

Ce chapitre expose intégralement un article publié qui consiste à la deuxième étude expérimentale qui répond à l'objectif :

Investiguer la sensibilité de la sonde électromécanique et d'une technique d'indentation automatisée à différencier des régions du cartilage qui apparaissent normal, mais qui sont adjacentes à des régions visuellement dégénérées (où une dégénération précoce est soupçonnée) et des régions du cartilage qui sont éloignées des régions visuellement dégénérées (où aucune dégénération n'est soupçonnée).

Informations supplémentaires

Journal	<i>Journal of Orthopedic Research</i>
Date de soumission	<i>Février 2016</i>
Date d'acceptation	<i>Juin 2016</i>

Contribution des auteurs

Sotthead Sim	<i>Design de l'étude, collecte des données mécaniques et électromécaniques, analyse et interprétation des données, revue de littérature, écriture et révision de l'article</i>
Anik Chevrier	<i>Design de l'étude, collecte des données histologiques et des analyses biochimiques et révision de l'article</i>
Martin Garon	<i>Design de l'étude, interprétation des données et révision de l'article</i>
Eric Quenneville	<i>Design de l'étude, interprétation des données et révision de l'article</i>
Patrick Lavigne	<i>Expertise clinique et révision de l'article</i>
Alex Yaroshinsky	<i>Expertise statistique et révision de l'article</i>
Caroline D. Hoemann	<i>Design de l'étude (partie histologique et biochimique) et révision de l'article</i>
Michael D. Buschmann	<i>Design de l'étude, analyse et interprétation des données, expertise statistique et révision de l'article</i>

5.1 Abstract

Recent advances in the development of new drugs to halt or even reverse the progression of Osteoarthritis at an early-stage requires new tools to detect early degeneration of articular cartilage. We investigated the ability of an electromechanical probe and an automated indentation technique to characterize entire human articular surfaces for rapid non-destructive discrimination between early degenerated and healthy articular cartilage. Human cadaveric asymptomatic articular surfaces (4 pairs of distal femurs and 4 pairs of tibial plateaus) were used. They were assessed *ex vivo*: macroscopically, electromechanically (maps of the electromechanical quantitative parameter, QP, reflecting streaming potentials), mechanically (maps of the instantaneous modulus, IM) and through cartilage thickness. Osteochondral cores were also harvested from healthy and degenerated regions for histological assessment, biochemical analyses and unconfined compression tests. The macroscopic visual assessment delimited three distinct regions on each articular surface: region I was macroscopically degenerated, region II was macroscopically normal but adjacent to region I and region III was the remaining normal articular surface. Thus, each extracted core was assigned to one of the three regions. A mixed effect model revealed that only the QP ($p < 0.0001$) and IM ($p < 0.0001$) were able to statistically discriminate the three regions. Effect size was higher for QP and IM than other assessments, indicating greater sensitivity to distinguish early degeneration of cartilage. When considering the mapping feature of the QP and IM techniques, it also revealed bilateral symmetry in a moderately similar distribution pattern between bilateral joints.

5.2 Keywords

Articular Cartilage, Mechanics, Streaming Potentials, Osteoarthritis, Cartilage Diagnostic

5.3 Introduction

Early detection of cartilage degeneration is an imperative since Osteoarthritis evolves slowly over decades permitting a wide timeframe to halt or reverse the disease (Chu et al., 2012). The primary changes in the degenerative process of articular cartilage consist of alterations in the structure and biochemical content of cartilage extracellular matrix (Buckwalter & Mankin, 1997). There is an urgent need for a quantitative, sensitive, user-independent and non-destructive tool to detect early cartilage changes to understand the disease process, identify adequate disease-modifying treatments and evaluate their efficacy (Chu et al., 2012).

Benchtop techniques currently used for *ex vivo* cartilage assessment include visual macroscopic evaluation (Brittberg & Winalski, 2003), histological scores (Mankin et al., 1971; Pritzker et al., 2006), biochemical assays (Hoemann et al., 2002) and simple mechanical tests (Mansour, 2003). Unfortunately, most of these techniques require isolation of cartilage cores which leads to partial destruction of the articular surface and possible creation of mechanical and histological artefacts (Hunziker et al., 2014), in addition to being time-consuming. Moreover, information obtained at a single location may not reflect the properties of the entire articular surface, given the spatial variation of cartilage properties (Armstrong et al., 1995). Visual macroscopic evaluation has been subjected to many critiques involving poor inter-observer agreement and incomplete validation to diagnose cartilage lesions (Casula et al., 2014; Friemert et al., 2004). Mechanical and electromechanical properties have been recognized as accurate indicators of the functional properties of cartilage (Armstrong & Mow, 1982), provided by structure and composition (Changoor et al., 2011; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002; Sim et al., 2014). However, reliable instruments for practical evaluation of these properties over entire surfaces are currently lacking.

Our research group has developed two unique approaches in the quantitative assessment of cartilage that overcome some limitations of other techniques. The first technique uses an arthroscopic probe to measure electromechanical properties of cartilage via compression-induced streaming potentials (Buschmann et al., 1998; Garon et al., 2007; Quenneville, 2006; Sim et al., 2014). The second uses a multi-axial mechanical tester to perform automated spherical indentation

and thickness measurements to map mechanical properties (Sim et al., 2015; Sim et al., 2013). Both approaches offer several advantages compared to other techniques such as being non-destructive, allowing repeated measurements and performing multiple characterizations at the same location in a short time (Sim et al., 2014). Furthermore, the electromechanical probe reliability to evaluate allograft quality has been published recently (Mickevicius et al., 2015).

The aim of the current study was to investigate the sensitivity of these two techniques to distinguish between cartilage regions that appears macroscopically normal but are adjacent to visually degenerated regions (where early or mild degeneration is suspected) and cartilage far away from visually degenerated regions (where no degeneration is suspected). These performance results were then compared to those of current gold standard techniques namely macroscopic assessments (adapted from the ICRS grading), cartilage thickness, histological Mankin Scores, unconfined mechanical compression, and biochemical assessments. Based on the assumption that patterns in the distribution of mechanical, electromechanical properties and thickness should be more similar within-donor, this study also aimed to quantitatively evaluate the performance of these non-destructive characterization mapping techniques.

5.4 Methods

5.4.1 Tissue Source

Four pairs of distal femurs (2 females and 2 males, aged 46 to 64 years) and four pairs of tibial plateaus (1 female and 3 males, aged 52 to 64 years) from cadaveric human research donors were provided by a tissue bank (RTI Surgical, Florida, USA) and stored at -80°C . All samples were handled according to approved institutional ethics committee-certificates.

5.4.2 Study Design

Figure 5.1 summarizes the study design. Frozen articular surfaces were thawed in a plastic bag at 4°C overnight. A camera-registration system (Biomomentum Inc., Canada) was first used to

superimpose a position grid (~9 positions/cm²; ~120 positions for each distal femur and ~140 positions for each tibial plateau) on the real-time video stream of the entire articular surface. Then, a mapping using the Arthro-BST™ (Biomomentum Inc., Canada) was performed to obtain electromechanical properties (30 seconds/position) followed by a macroscopic assessment (adapted from the ICRS grading) on each sample. Afterwards, the automated indentation mapping was performed in order to extract mechanical properties of the articular cartilage at each position of the grid (1 minute/position). Osteochondral cores were then extracted randomly from visually abnormal and normal regions for biochemical assays and unconfined compression (UC) tests followed by histological assessment. Cores for biochemistry were flash-frozen; those destined for unconfined compression were stored at -80°C and those for histology were fixed in 10% neutral buffered formalin. Finally, automated thickness mapping was performed at each position of the grid (15 seconds/position). The thickness mapping was performed after coring to avoid puncture holes in the osteochondral cores used for subsequent tests.

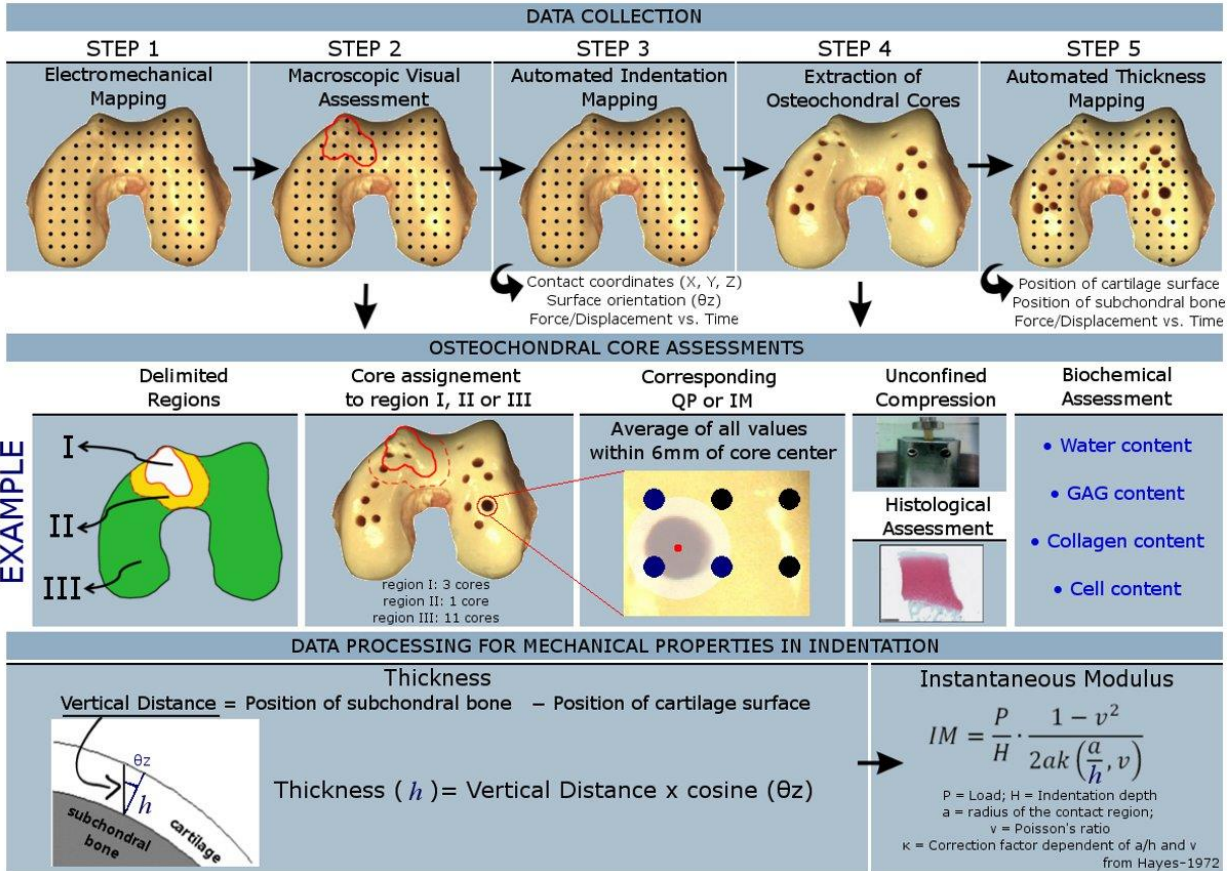


Figure 5.1: Methods Summary. Articular surfaces were electromechanically mapped, macroscopically visually assessed and prepared for the automated indentation/thickness mapping as well as subsequent processing for mechanical, histological and biochemical analyses on osteochondral cores. The macroscopic visual assessment allowed defining three distinct regions on the articular surface. First, the encircled region of the abnormal cartilage (ICRS grade >0) was considered as region I. Then, region II was defined by delimiting the area (ICRS grade 0) surrounding region I. Finally, region III was defined as the remaining normal articular surface (ICRS grade 0). A representative example of one distal femur where osteochondral cores has been extracted and assigned to either region I, II or III. The indentation modulus (IM) was obtained using the thickness and an elastic model in spherical indentation.

5.4.3 Electromechanical Probe Mapping

Electromechanical properties were mapped *ex vivo* using the benchtop version of the hand-held medical device Arthro-BST (Biomomentum Inc., Canada) as described previously (Sim et al., 2014). The device calculates a quantitative parameter (QP) which corresponds to the number of microelectrodes in contact with the cartilage when the sum of their streaming potential reaches 100mV (inversely proportional to electromechanical activity). The semi-spherical indenter of the device was manually compressed onto the cartilage surface for approximately one second, once, at each position of the grid and the device recorded the corresponding QP.

5.4.4 Visual Assessment

Entire articular surfaces were visually assessed with a methodology adapted from the ICRS lesion classification system (Mainil-Varlet et al., 2003), where visually normal cartilage corresponds to an ICRS grade of 0. All other grades were considered visually abnormal. The extent of each visually normal and abnormal regions were encircled on pictures of the articular surface with positioning grid superimposed. This visual assessment allowed defining three distinct regions on the articular surface (Figure 5.1). First, the encircled region(s) of all abnormal cartilage was/were considered as region I. Then, region II was defined by delimiting the area surrounding region I. Finally, region III was defined as the remaining normal articular surface. All regions occurred at different locations and in different size areas on each distal femur while for tibial plateaus, those regions were mostly at the same location but varied in size.

5.4.5 Automated Indentation Mapping

Mechanical properties were mapped *ex vivo*, using a technique allowing for automated normal alignment and indentation mapping of materials using a multiaxial mechanical tester (Mach-1v500css, Biomomentum Inc., Canada). The technique precisely detects the surface orientation at each position and records the normal load with a multiple-axis load cell (70N range and 3.5mN resolution on the vertical axis, 50N range and 2.5mN resolution on the horizontal axes). Perpendicular indentation was obtained by simultaneously moving the three stages of the tester at

different speeds in order to move the spherical indenter (6.35mm diameter) perpendicularly to the surface. The cartilage was indented by 200 μ m at 500 μ m/s for distal femurs and at 200 μ m/s for tibial plateaus.

5.4.6 Osteochondral Core Harvesting

Osteochondral cores were harvested using tubular chisels with a 3.5mm diameter (Smith and Nephew, United States). After the extraction of cores, the articular surface was repositioned into the testing chamber to photodocument the location of each core site relative to the position grid used for mapping.

5.4.7 Automated Thickness Mapping

Thickness was mapped with the needle technique (Jurvelin et al., 1995) by replacing the spherical indenter with a 26G 3/8" PrecisionGlide intradermal bevel needle (BD, United States). The mechanical tester vertically moves the needle towards the sample at a constant speed until it penetrates the cartilage surface and stops inside the bone.

5.4.8 Osteochondral Cores Analyses

First, a calibrated dissection microscope with Northern Eclipse software version 8 (EMPIX Imaging Inc., Canada) was used to measure the thickness of the cartilage layer of each osteochondral core. UC consisted of a series of stress relaxations (1 precompression of 10% strain and 5 compressions of 2% strain each with ramp velocity of 0.4% strain/second; relaxation stops when relaxation rate of 0.05N/min is reached). The 2% stress relaxation ramps were fit (with disk radius=1.75mm, deformation=0.02, effective Poisson's ratio=0) to the linear fibril-network-reinforced biphasic model(Soulhat et al., 1999) using the Mach-1 Analysis software (Biomomentum Inc., Canada). Intrinsic parameters from each fit of the model were the fibril modulus E_f (MPa), the matrix modulus E_m (MPa) and the hydraulic permeability k (10^{-12} m⁴/N·s). All osteochondral cores that were tested in UC were then assessed histologically. For this, each

osteocondral core was fixed in 10% NBF and decalcified in 0.5N HCl/0.1% glutaraldehyde prior to dehydration, clearing and paraffin embedding. 5 μ m paraffin sections were obtained and collected on Superfrost plus slides. The sections were stained with Safranin-O/Fast Green (Hoemann et al., 2011) and scored with the Mankin histological-histochemical grading system (Mankin et al., 1971) twice by one blinded observer. The average of both measurements was used for analysis. In total, 66 cores were used for histological assessment only and 67 cores for mechanical testing followed by histology. 100 cores were tested through biochemical assays to obtain water content, glycosaminoglycan (GAG), collagen and DNA content per wet weight and dry weight using previously published methods (Hoemann, 2004; Hoemann et al., 2002).

5.4.9 Data Processing

From the automated thickness mapping results, cartilage thickness was calculated at each position by the difference between the vertical position of the surface (where the load starts to increase) and that of the cartilage/bone interface (corresponding to the first inflection point in the displacement/force curve) (Figure 5.1, thickness panel). The instantaneous modulus (IM) at each position was obtained by fitting the load-displacement curve (with corresponding thickness and effective Poisson ratio of 0.5) to an elastic model in indentation (Hayes et al., 1972) (Figure 5.1, instantaneous modulus panel). Due to the compliance of the testing system, the normal indentation amplitude is less than actually, thus data must be processed to account for this. The compliance of the measurement system was characterized using an experimental setup which consists of a stainless steel cylinder (radius of 25.4mm). Perpendicular indentations were done on the cylinder in order to obtain an experimental curve for the compliance of the system. In order to compare QP and IM maps with biochemical, histological and UC parameters on cores, the QP and IM corresponding to each core was calculated as the average of all values (using 1 to 4 measurements) measured within 6 mm from the core center (Figure 5.1).

5.4.10 Statistical Analyses

All statistical analyses were performed with SAS version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA). The intraclass correlation coefficient was obtained for the histological Mankin

score as ICC(2,1). Relationships between QP, IM, biochemical, histological and UC results were assessed by parametric correlation analyses using Pearson's correlation coefficient (r). In order to assess the performance of each characterization type using uniform statistical sampling, only core assessments were used (Fig. 1). Multiple regression was performed using a mixed effects model to examine which characterization could reveal a difference between regions I, II and III. The core characterization of interest (QP, IM, thickness, Mankin score, UC or biochemical parameters) was the response variable, the three regions were considered as the explanatory variables (fixed effects) and the donor as the random effect. Effect size (difference between each region means divided by the pooled standard deviation) was calculated for each characterization to reveal their sensitivity to differentiate the 3 regions and does not take the within donor correlations into account. For all statistical tests, a p -value of 0.05 (two sided) or smaller was considered statistically significant.

To quantitatively assess similarity in spatial distribution patterns of the electromechanical, indentation and thickness mappings between the joints of the same donor (within-donor) versus different donors (between-donor), parametric correlation analysis (Pearson's r and Spearman's ρ) was performed. Mappings of all right and left (mirrored) articular surfaces were considered. Correlation coefficients measure the similarity in shape (spatial distribution patterns) only, regardless of differences in scale (Clifford et al., 1989; Dutilleul et al., 1993; Rowland et al., 2015). Under the assumption that patterns in the distribution of cartilage's properties should be more similar within-donor than between-donor, it was assumed that finding higher within-donor correlation coefficients would be an indication of mapping characterizations performance.

5.5 Results

5.5.1 QP and IM Correlate with Osteochondral Core Assessments

A Pearson's correlation analysis revealed meaningful correlations between the QP and IM with mechanical properties in UC. Normal cartilage is predicted to show low QP and high IM values. Effectively, a lower QP and a higher IM correlated strongly with a higher E_f ($r=-0.69$, $p<0.0001$; $r=0.70$, $p<0.0001$, respectively), moderately with a higher E_m ($r=-0.30$, $p=0.005$; $r=0.49$,

$p < 0.0001$, respectively), and lower permeability $\log(k)$ ($r = 0.56$, $p < 0.0001$; $r = -0.47$, $p = 0.0001$, respectively). For tibial plateaus, QP and IM correlated moderately with cartilage thickness ($r = 0.40$, $p = 0.001$; $r = -0.55$, $p = 0.0002$, respectively) and tibial plateau cartilage varied from 1.46mm to 3.85mm thick. For distal femurs, a moderate correlation was obtained between QP and thickness ($r = 0.43$, $p = 0.02$), but no correlation was obtained between IM and thickness ($r = -0.13$, $p = 0.54$). Distal femur cartilage varied from 1.59mm to 3.39mm thick. Safranin-O/Fast Green stained sections showed evidence of GAG depletion in areas with higher QP and decreased IM and consistent with this finding (Figure 5.2), the QP and IM correlated moderately but significantly with the Mankin score which reflects cartilage degeneration as the score value increases ($r = 0.42$, $p < 0.0001$; $r = -0.38$, $p < 0.0001$, respectively). Weak to no correlations were found between QP or IM and biochemical parameters. Firstly, altogether these data showed that QP and IM values correlate or not as expected with the other current techniques to assess cartilage degeneration used in this study. Thus, further analysis on the sensitivity of both techniques could be conducted.

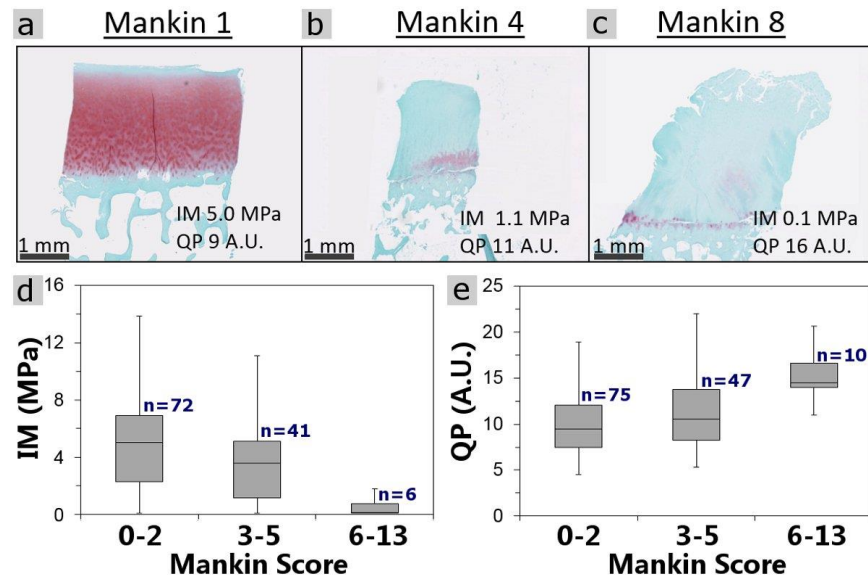


Figure 5.2: Panel a, b and c are representative Safranin-O/Fast Green stained sections for 3 Mankin scores and their corresponding IM (MPa) and corresponding QP (AU); Bars = 1 mm. Panel d and e display boxplots showing median values (central horizontal line), first and third quartiles (box) and 1.5 x interquartile range (bars). The number of cores in each Mankin score group for each characterization is shown in the corresponding graph next to the boxplot.

5.5.2 Mixed Effects Model Analysis

A multiple regression model (mixed effect) was used in order to examine whether individual osteochondral core assessments could distinguish between regions I, II (i.e., the area surrounding region I) and III (Figure 5.3). A difference between region I and III could be revealed by the histological Mankin Score ($p=0.0003$), the QP ($p<0.0001$), the IM ($p<0.0001$), the E_f ($p<0.0001$), the logarithm of permeability ($p=0.0134$) and the collagen per wet and dry weight ($p<0.02$ and $p<0.004$ respectively). In region II analyses, it was defined as a 5mm or a 10mm area circumferentially adjacent to region I (Figure 5.1). The analysis revealed similar results for both region II areas. Between regions I and II (surrounding 5mm), only the QP (13.7 vs 10.7 AU, $p<0.0001$), IM (2.5 vs 4.4 MPa, $p=0.0003$) and collagen per dry weight (0.33 vs 0.29 mg/mg, $p=0.0424$) had a significantly different adjusted mean. However, when taking the surrounding 10mm, the Mankin score, E_f and logarithm of permeability could also reveal significant differences between region I and II (3.4 vs 2.5, $p=0.0406$, 9.1 vs 17.1 MPa, $p=0.004$ and -2.3 vs -2.9 , $p=0.0448$ respectively). Between region II (surrounding 5mm) and III, only the QP (10.7 vs 8.4 AU, $p<0.0001$), IM (4.4 vs 6.2 MPa, $p<0.0001$) and E_f (13.7 vs 19.6 MPa, $p<0.04$) differentiated both macroscopically visually normal regions. However, when taking the surrounding 10mm, the E_f could not reveal a significant difference between region II and III (17.1 vs 17.2 MPa, $p=0.62$). All other characterizations, such as permeability, water content, GAG content and cells content per wet and dry weight, did not show any significant differences between those three regions. The differentiation between region II and III is critical since both regions are macroscopically normal while region II surrounds lesional cartilage (i.e. early degeneration) where only QP and IM could differentiate significantly region II from region III.

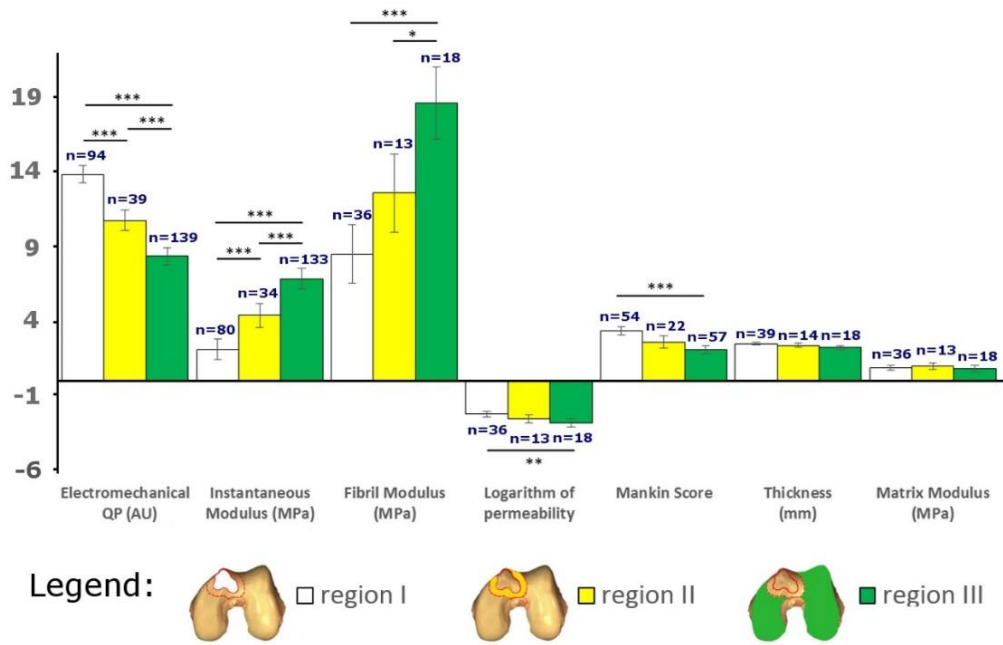


Figure 5.3: All cores (statistical unit) extracted from 4 pairs of distal femurs and 4 pairs of tibial plateaus were used in the multiple regression model (mixed effects). This multiple regression analysis was conducted to compare the performance of the histological Mankin score, thickness, electromechanical QP, instantaneous modulus and unconfined compression parameters (fibril modulus, matrix modulus and permeability) in distinguishing between regions I, II and III. The number of cores in each region for each characterization is shown above each bar. Region II is the surrounding 5 mm around region I. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$. Bar graph displays adjusted Least Squares Means and Standard Error outputs from the mixed effects model. The legend only shows a representative example of the three regions of one distal femur.

5.5.3 Sensitivity Analysis

An effect size analysis was performed to investigate the sensitivity of different assessments for distinguishing between regions I, II and III (Figure 5.4). The QP, the Mankin score, the IM, thickness, E_f and collagen per wet and dry weight produced an effect size equal or higher than 0.5 to differentiate region I and III. In order to distinguish region I from II or region II from III, only the QP, IM, E_f and collagen per wet weight obtained an effect size score equal or higher than 0.5. The following parameters had an effect size score lower than 0.5 for the detection of all pairwise regions: E_m , permeability, water content, GAG content and cells content per wet and dry weight.

These results are consistent with the mixed effects model comparing regions I and III, where only the Mankin Score, the QP, the IM, the E_f and collagen per wet and dry weight's means were significantly different. Between regions I and II and regions II and III, results from the mixed model and effect size were consistent where the QP, IM, and E_f were significantly different between regions.

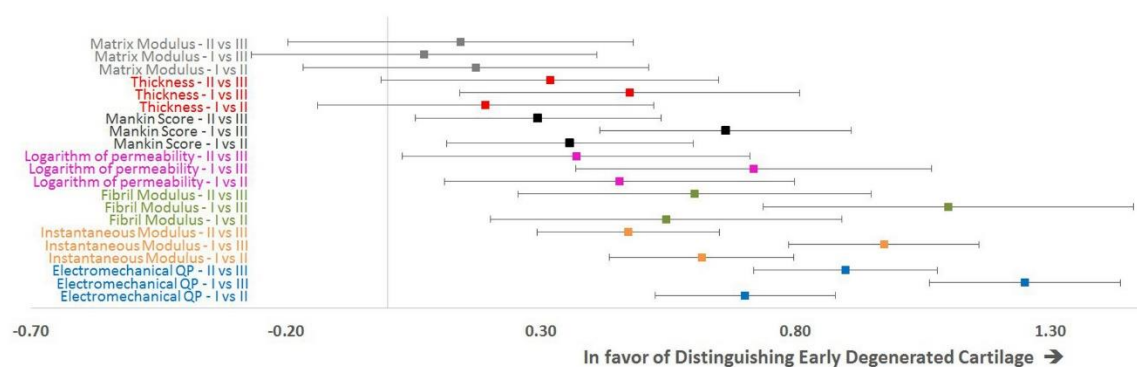


Figure 5.4: Effect sizes for the electromechanical QP, instantaneous modulus, thickness, histological Mankin score and unconfined compression assessment (fibril modulus, matrix modulus and permeability). Forest plot displays the effect size (difference between each region means divided by the pooled standard deviation) and their 95% confidence interval. The effect size analysis has been conducted without taking the within donor correlations into account. Forest plot highlights that QP and IM are the best performing technique with the three confidence interval furthest from the zero vertical line and the highest effect size, indicating greater sensitivity to distinguish early degeneration of cartilage.

5.5.4 QP, IM and Thickness Mappings

Mappings of the QP (Figure 5.5-a), IM (Figure 5.5-b) and thickness (Figure 5.5-c) were obtained for all pairs of articular surfaces. Abnormal cartilage may be thicker due to increased water content or thinner due to tissue loss. The thickness patterns were similar in neighboring tissues and abnormal cartilage was delimited by a red solid line (Figure 5.5-c) in the distal femurs. Most importantly, these same degenerated regions had high QP (greater than 10AU, yellow-red regions in Figure 5.5-a) and low IM (between 0.2 and 3MPa, yellow-red regions in Figure 5.5-b) compared to normal regions (between 4 and 10AU, blue-green regions in Figure 5.5-a; between 3 and 20MPa,

blue-green regions in Figure 5.5-b). QP and IM mappings were therefore consistent with the macroscopic assessment of abnormal cartilage and in addition revealed that degradation patterns often extended beyond the macroscopically visible lesion boundaries (Figure 5.5-a and b).

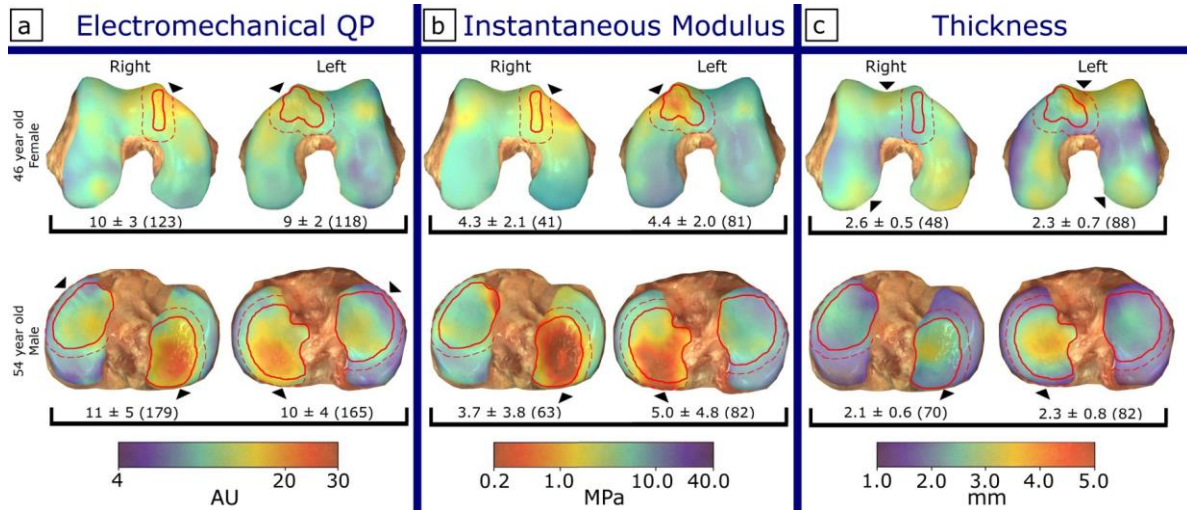


Figure 5.5: Representative mappings from two distal femurs from one female donor (46 year old female) and two tibial plateau from a male donor (54 year old male). a) QP mapping of one representative distal femur and tibial plateau with logarithmic scale from 4 to 30 AU; b) IM mapping of one representative distal femur and tibial plateau with logarithmic scale from 0.2 to 40 MPa; c) Thickness mapping of one representative distal femur and tibial plateau with linear scale from 1 to 5 mm. The three distinct delimited regions are drawn into the mappings where a red solid line delimits region I from region II and red dashed line delimits region II from region III. A distance of 5 mm surrounding region I is being represented in the figure for region II. Symmetric pattern (black arrowheads) are shown for both right and left joints of the same donor. A 60% transparency has been applied to the mapping layer so that some articular surface landmarks remain visible through it. Note that the associated scale has also been blended with 60% transparency with the average cartilage surface color (this allows for better matching of the scale colors to match those of the mapping).

5.5.5 Bilaterally Similar Distribution Patterns Revealed by Mappings

Similar distribution patterns were seen when comparing the right and left characterization maps of each donor (Figure 5.5, black arrowheads). A quantitative assessment of this within-donor similarity was performed and results are shown in Figure 5.6. To assess the similarity of the spatial distribution pattern of bilateral knee joints, Pearson's r and Spearman's ρ were both calculated. Both parametric analyses revealed similar conclusions. However, Pearson's r correlation was higher in all cases, suggesting variable responses were reasonably linear (Figure 5.6). Moderate correlations were found within-donor for the QP and the IM in distal femurs and tibial plateaus. These moderate correlations within-donor constitutes initial evidence of the hypothesis that the spatial distributions within-donor are similar in terms of shape (Figure 5.6), and potentially, in terms of scale (Figure 5.5).

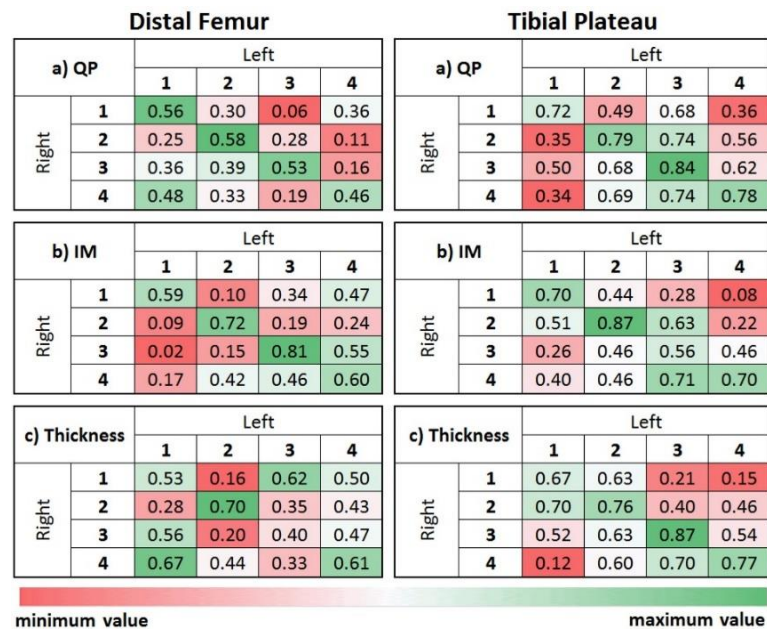


Figure 5.6: Parametric Pearson's r of entire mappings of distal femurs and tibial plateaus for electromechanical QP (a), instantaneous modulus IM (b) and thickness (c) mappings. Within-donor values are in the diagonal and consist of the comparison between the right and left knee of the same pair of joints. Between-donor values are shown off-diagonally and consist of the comparison between the right and left knee of any pair of joints. A red-white-green color scale is used to show minimum to maximum correlation coefficient r values within each table. The correlation between the right knees of any between-donor joints have also been tested and resulted in similar conclusions.

5.6 Discussion

The purpose of this study was to investigate the performance of two recent techniques, one electromechanical and one mechanical, to distinguish between cartilage regions where degeneration is visible, where early or mild degeneration is suspected (adjacent to visibly degenerated regions) and where no degeneration is suspected (far away from visibly degenerated regions). Meaningful correlations were observed between QP and IM and well-established histological, mechanical and biochemical assessments (Figure 5.2). A mixed effects model and effect size analysis showed that these two parameters were more robust in distinguishing early degenerated cartilage compared to the other well-established methods (Figure 5.3 and Figure 5.4). The QP and IM mappings were consistent with the macroscopic visual assessment of abnormal cartilage, and they revealed an extended degradation region compared to what was seen visually (Figure 5.5). Lastly, these recently developed techniques revealed moderate bilateral similarity of the within-donor spatial distribution (Figure 5.6).

All results in this study clearly demonstrated the ability of the arthroscopic probe and the automated indentation technique to distinguish between visually degenerated cartilage, early degeneration (not visible) and normal cartilage. Our results indicated that only the QP and IM were sensitive enough to distinguish early cartilage degeneration that appears visually normal but are adjacent to a defect (Figure 5.3 and Figure 5.4). Indeed, these observations are consistent with previously published studies where the sensitivity of electromechanics (Changoor et al., 2011) and mechanics (Knecht et al., 2006) to detect early alterations in cartilage has been demonstrated. In particular, the current study is the first to show the superior sensitivity of both quantitative techniques on human cadaveric articular surfaces of naturally degraded cartilage surrounding focal defects compared to semi-quantitative histological Mankin scores which is considered to reflect well the overall condition of the cartilage (Rutgers et al., 2010). Indeed, studies have shown that early-stage OA processes occur without macroscopic changes in the cartilage morphology (Burstein et al., 2009; Crema et al., 2011). Our study also shows that visual and thickness assessments are much less sensitive to distinguish early degenerated cartilage, similarly to many previous studies, than electromechanical and mechanical assessments where the functional and structural properties of cartilage play important roles.

The current study also reveals similar correlations of the QP with histological scores and mechanical parameters in human tibial plateaus and distal femurs as reported in a prior study (Sim et al., 2014). In addition, there was a positive correlation between QP and cartilage thickness in tibial plateaus, which could be related to more important topographical variations present on this articular surface compared to distal femurs (Quinn et al., 2005; Shepherd & Seedhom, 1999). It shall be noted that a different indentation speed was used for both articular surfaces. However, based on a previous work (Quenneville, 2006), the cartilage seems to attain an elastic regime near 500 μ m/s. Albeit, this difference may not have had an important impact on the outcome measurement. The IM, obtained from the automated indentation technique, also correlated with the histological Mankin score and UC parameters as expected. Indeed, both mechanical measurements (IM and UC parameters) are from different test configurations where the cartilage response should reflect the structure and integrity of the collagen network (Knecht et al., 2006; Sim et al., 2014). Weak to no correlations were observed between both electromechanics or mechanics, and biochemical parameters since we believe that subtle changes occurring in early stages mostly affect the structure/integrity of the macromolecular framework rather than biochemical content (Buckwalter et al., 2005; Eyre & Wu, 1995; Mankin & Thrasher, 1975).

The strength of these two techniques relies on their quantitative assessment of cartilage degeneration obtained non-destructively and relatively rapidly. These techniques offer many advantages compared to well-established methods of cartilage assessments by characterizing the entire surface non-destructively which could be appreciable in a cartilage repair or in a drug-treatment study. Indeed, both techniques could help assess the surrounding cartilage while other assessments only provide information at specific locations since evaluations are only performed on harvested locations. In addition, in contrast to what is usually required for simple mechanical tests (i.e. individual sample harvesting, visual orientation of the sample surface perpendicularly to compression axis, sample preservation causing possible mechanical alteration), both QP and IM techniques do not require such sample handlings which are costly and time-consuming. Moreover, the role of the camera-registration system accompanying both systems is crucial since it registers the location of test measurements which in the case of the electromechanical probe allows for real-

time positioning and, in the case of the automated indentation technique, allows for mechanically-controlled positioning over the surface. For clinical evaluation of cartilage, the electromechanical probe offers a major advantage over the automated indentation technique since it can be used as an arthroscopic tool and has already shown reliability in assessing the quality of cartilage and user-independence (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2016; Changoor et al., 2011; Changoor et al., 2007; Sim et al., 2014). Nonetheless, the automated indentation technique has the advantage of being used on animals as small as rabbit or mice for *in vitro* studies (Lavoie et al., 2015).

A limitation imposed by our study design is that our sensitivity analysis was based on macroscopic visual assessment (assumed comparable to the arthroscopic assessment) for delimiting all regions. Many studies have shown that even if arthroscopic assessment (visual and probing) remains useful for OA diagnosis, its outcome remains subjective and limited to the surface of the articular cartilage (Casula et al., 2014). Using such a qualitative assessment to define regions of cartilage degradation has probably created errors in the region assignment, which could have reduced the performance of more reliable characterization techniques. Region II was defined as either the surrounding 5mm or 10mm. The larger the surrounding distance, the more cores far from the lesions (not suspected of degeneration) are included in region II. This could be observed for the fibril modulus since by taking the surrounding 10mm, there was no significant difference between region II and III contrary to the surrounding 5mm. However, the inclusion of more samples within each region could increase power and lead to more significant differences between region II and III for the fibril modulus. In particular, this study has compared absolute measurements (e.g. QP, IM, thickness) to relative diagnostic values (e.g. histological Mankin Score). Hypothetically, if the cartilage samples in this study were perfectly normal, the Mankin score would be zero everywhere whereas the QP and the IM would still reveal a spatial distribution and this should be considered while interpreting results such as those presented in Figure 5.4. Using average normal characterization distributions as reference values, our group is currently in the process of interpreting and transforming these measurements into diagnostic criteria. This transition is essential to open the way for the electromechanical arthroscopic probe to clinical applications. Another limitation is the relatively small number of articular surfaces used covering only the very early-stage of OA progression. Even if all pairs of articular surfaces showed a left-right moderate similarity in the distribution pattern of both electromechanical and mechanical parameters, where this symmetry was previously only

observed at late-stage OA (Metcalf et al., 2012), there is a high variability of the data both within- and between-donor. These primary observations are initial evidence that the hypothesis on within-donor similarity may be correct. However, the inclusion of more donors would support investigation on the timescale involvement of this symmetrical process for clinical purposes of bilateral knee osteoarthritis. Nonetheless, there are so many variables and measurements that multiplicity issue should be considered. Another limitation is related to the automated indentation technique where the Hayes' model (Hayes et al., 1972) was used to calculate the elastic modulus (IM) in spherical indentation using the transient section of the load/displacement curve. Data could have been fit to more appropriate models of articular cartilage mechanics, e.g. the fibril-reinforced poroelastic model (Soulhat et al., 1999), where the permeability, the matrix and fibril modulus can be fitted from the stress relaxation portion of the curve.

This study is the first to report the ability of an electromechanical probe and automated indentation technique to identify early signs of alterations of articular cartilage. These new techniques have not only been found to be more sensitive than well-established techniques that require harvesting a cartilage explants but are less time-consuming, and reveal interesting patterns of bilateral similarity for normal articular surfaces and early OA sites. These mapping techniques provide new avenues for innovative study designs (e.g. cartilage repair (Schagemann et al., 2016; Sim et al., 2015), where entire articular surfaces could be rapidly and non-destructively assessed, either *ex vivo* (benchtop electromechanical probe or multiaxial mechanical tester) or *in vivo*, using the arthroscopic electromechanical probe.

5.7 Acknowledgements

We acknowledge the technical contributions of Geneviève Picard, Insaf Hadjab, Alexandre Torres, François Marcoux, Camille Larose, Philippe Martel, Marie-Hélène Beauséjour and Sylvain Gaufrès. Funding provided by the National Sciences and Engineering Research Council (NSERC), the Fonds de recherche du Québec - Nature et technologies (FRQNT) and Biomomentum Inc. Operating grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and from Biomomentum Inc. paid for all experimental procedures, graduate student

stipends, salary support for research staff, and towards presentation of findings at the Orthopaedic Research Society 2014 Annual Meeting (March 2014, New Orleans, LA, USA), the 2nd International Conference on BioTribology (May 2014, Toronto, Canada) and the 7th World Congress of Biomechanics (July 2014, Boston, MA, USA). The FRQ-Santé Groupe de Recherche en Sciences et Technologies Biomédicales (GRSTB) provided histology service.

5.8 Conflict of interest

Two of the co-authors, E. Quenneville and M. Garon, are the owners of the company Biomomentum Inc.

5.9 References

- Abedian, R., Willbold, E., Becher, C., & Hurschler, C. (2013). In vitro electro-mechanical characterization of human knee articular cartilage of different degeneration levels: a comparison with ICRS and Mankin scores. *J Biomech*, *46*(7), 1328-1334. doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.02.004
- Armstrong, C. G., & Mow, V. C. (1982). Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. *J Bone Joint Surg Am*, *64*(1), 88-94.
- Armstrong, S. J., Read, R. A., & Price, R. (1995). Topographical variation within the articular cartilage and subchondral bone of the normal ovine knee joint: a histological approach. *Osteoarthritis Cartilage*, *3*(1), 25-33.
- Becher, C., Ricklefs, M., Willbold, E., Hurschler, C., & Abedian, R. (2016). Electromechanical Assessment of Human Knee Articular Cartilage with Compression-Induced Streaming Potentials. *Cartilage*, *7*(1), 62-69. doi: 10.1177/1947603515599191
- Brittberg, M., & Winalski, C. S. (2003). Evaluation of cartilage injuries and repair. *J Bone Joint Surg Am*, *85-A Suppl 2*, 58-69.

- Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1997). Articular cartilage: Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 79A(4), 612-632.
- Buckwalter, J. A., Mankin, H. J., & Grodzinsky, A. J. (2005). Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr Course Lect*, 54, 465-480.
- Burstein, D., Gray, M., Mosher, T., & Dardzinski, B. (2009). Measures of molecular composition and structure in osteoarthritis. *Radiol Clin North Am*, 47(4), 675-686. doi: 10.1016/j.rcl.2009.04.003
- Buschmann, M. D., Guardo, R., Garon, M., Le Guyader, P., & Savard, P. (1998). United States Patent No. 5779651.
- Casula, V., Hirvasniemi, J., Lehenkari, P., Ojala, R., Haapea, M., Saarakkala, S., . . . Nieminen, M. T. (2014). Association between quantitative MRI and ICRS arthroscopic grading of articular cartilage. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, doi 10.1007/s00167-014-3286-9. doi: 10.1007/s00167-014-3286-9
- Changoor, A., Coutu, J. P., Garon, M., Quenneville, E., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2011). Streaming potential-based arthroscopic device is sensitive to cartilage changes immediately post-impact in an equine cartilage injury model. *J Biomech Eng*, 133(6), 061005. doi: 10.1115/1.4004230
- Changoor, A., Quenneville, E., Garon, M., Cloutier, L., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2007). *Streaming potential-based arthroscopic device discerns topographical differences in cartilage covered and uncovered by meniscus in ovine stifle joints*. Paper presented at the 53rd Annu Meet Orthop Res Soc P631.
- Chu, C. R., Williams, A. A., Coyle, C. H., & Bowers, M. E. (2012). Early diagnosis to enable early treatment of pre-osteoarthritis. *Arthritis Research and Therapy*, 14(3), 212. doi: 10.1186/ar3845
- Clifford, P., Richardson, S., & Hemon, D. (1989). Assessing the Significance of the Correlation between Two Spatial Processes. *Biometrics*, 45(1), 123-134. doi: 10.2307/2532039
- Crema, M. D., Roemer, F. W., Marra, M. D., Burstein, D., Gold, G. E., Eckstein, F., . . . Guermazi, A. (2011). Articular cartilage in the knee: current MR imaging techniques and applications in clinical practice and research. *Radiographics*, 31(1), 37-61. doi: 10.1148/rg.311105084

- Dutilleul, P., Clifford, P., Richardson, S., & Hemon, D. (1993). Modifying the t Test for Assessing the Correlation Between Two Spatial Processes. *Biometrics*, 49(1), 305-314. doi: 10.2307/2532625
- Eyre, D. R., & Wu, J. J. (1995). Collagen structure and cartilage matrix integrity. *J Rheumatol Suppl*, 43, 82-85.
- Friemert, B., Oberlander, Y., Schwarz, W., Haberle, H. J., Bahren, W., Gerngross, H., & Danz, B. (2004). Diagnosis of chondral lesions of the knee joint: can MRI replace arthroscopy? A prospective study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 12(1), 58-64. doi: 10.1007/s00167-003-0393-4
- Garon, M., Cloutier, L., Legare, A., Quenneville, E., Shive, M. S., & Buschmann, M. D. (2007). Reliability and Correlation to Human Articular Cartilage Mechanical Properties of a Streaming Potential Based Arthroscopic Instrument. *Trans Annu Meet - Orthop Res Soc*, 32, 629.
- Garon, M., Legare, A., Guardo, R., Savard, P., & Buschmann, M. D. (2002). Streaming potentials maps are spatially resolved indicators of amplitude, frequency and ionic strength dependant responses of articular cartilage to load. *J Biomech*, 35(2), 207-216.
- Hayes, W. C., Keer, L. M., Herrmann, G., & Mockros, L. F. (1972). A mathematical analysis for indentation tests of articular cartilage. *J Biomech*, 5(5), 541-551.
- Hoemann, C. D. (2004). Molecular and biochemical assays of cartilage components. *Methods Mol Med*, 101, 127-156. doi: 10.1385/1-59259-821-8:127
- Hoemann, C. D., Kandel, R., Roberts, S., Saris, D. B., Creemers, L., Mainil-Varlet, P., . . . Buschmann, M. D. (2011). International Cartilage Repair Society (ICRS) Recommended Guidelines for Histological Endpoints for Cartilage Repair Studies in Animal Models and Clinical Trials. *Cartilage*, 2(2), 153-172. doi: 10.1177/1947603510397535
- Hoemann, C. D., Sun, J., Chrzanowski, V., & Buschmann, M. D. (2002). A multivalent assay to detect glycosaminoglycan, protein, collagen, RNA, and DNA content in milligram samples of cartilage or hydrogel-based repair cartilage. *Anal Biochem*, 300(1), 1-10. doi: 10.1006/abio.2001.5436
- Hunziker, E. B., Lippuner, K., & Shintani, N. (2014). How best to preserve and reveal the structural intricacies of cartilaginous tissue. *Matrix Biology*, 39, 33-43.

- Jurvelin, J. S., Rasanen, T., Kolmonen, P., & Lyyra, T. (1995). Comparison of optical, needle probe and ultrasonic techniques for the measurement of articular cartilage thickness. *J Biomech*, 28(2), 231-235.
- Knecht, S., Vanwanseele, B., & Stussi, E. (2006). A review on the mechanical quality of articular cartilage - implications for the diagnosis of osteoarthritis. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, 21(10), 999-1012. doi: 10.1016/j.clinbiomech.2006.07.001
- Lavoie, J. F., Sim, S., Quenneville, E., Garon, M., Moreau, A., Bushmann, M. D., & Aubin, C. É. (2015). Mapping articular cartilage biomechanical properties of normal and osteoarthritis mice using indentation. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23, A254. doi: 10.1016/j.joca.2015.02.463
- Legare, A., Garon, M., Guardo, R., Savard, P., Poole, A. R., & Buschmann, M. D. (2002). Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J Orthop Res*, 20(4), 819-826. doi: 10.1016/S0736-0266(02)00002-5
- Mainil-Varlet, P., Aigner, T., Brittberg, M., Bullough, P., Hollander, A., Hunziker, E., . . . International Cartilage Repair, S. (2003). Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am*, 85-A Suppl 2, 45-57.
- Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., & Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, 53(3), 523-537.
- Mankin, H. J., & Thrasher, A. Z. (1975). Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. *J Bone Joint Surg Am*, 57(1), 76-80.
- Mansour, J. M. (2003). Biomechanics of Cartilage *Kinesiology: The mechanics and pathomechanics of human movements* (pp. 66-79). Philadelphia, United States: Lippincott Williams & Wilkins.
- Metcalfe, A. J., Andersson, M. L., Goodfellow, R., & Thorstensson, C. A. (2012). Is knee osteoarthritis a symmetrical disease? Analysis of a 12 year prospective cohort study. *BMC Musculoskelet Disord*, 13, 153. doi: 10.1186/1471-2474-13-153
- Mickevicius, T., Pockevicius, A., Kucinskas, A., Gudas, R., Maciulaitis, J., Noreikaite, A., & Usas, A. (2015). Impact of storage conditions on electromechanical, histological and

- histochemical properties of osteochondral allografts. *BMC Musculoskelet Disord*, 16, 314. doi: 10.1186/s12891-015-0776-y
- Pritzker, K. P., Gay, S., Jimenez, S. A., Ostergaard, K., Pelletier, J. P., Revell, P. A., . . . van den Berg, W. B. (2006). Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*, 14(1), 13-29. doi: 10.1016/j.joca.2005.07.014
- Quenneville, E. (2006). *Les distributions de potentiel électrique dans le cartilage articulaire*.
- Quinn, T. M., Hunziker, E. B., & Hauselmann, H. J. (2005). Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis and Cartilage*, 13(8), 672-678. doi: 10.1016/j.joca.2005.04.011
- Rowland, E. M., Mohamied, Y., Yean Chooi, K., Bailey, E. L., & Weinberg, P. D. (2015). Comparison of Statistical Methods for Assessing Spatial Correlations Between Maps of Different Arterial Properties. *Journal of Biomechanical Engineering*, 137(10), 101003. doi: 10.1115/1.4031119
- Rutgers, M., van Pelt, M. J., Dhert, W. J., Creemers, L. B., & Saris, D. B. (2010). Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 18(1), 12-23. doi: 10.1016/j.joca.2009.08.009
- Schagemann, J. C., Rudert, N., Taylor, M. E., Sim, S., Quenneville, E., Garon, M., . . . Mittelstaedt, H. (2016). Bilayer Implants: Electromechanical Assessment of Regenerated Articular Cartilage in a Sheep Model. *Cartilage*, 7(4), 346-360. doi: 10.1177/1947603515623992
- Shepherd, D. E., & Seedhom, B. B. (1999). Thickness of human articular cartilage in joints of the lower limb. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58(1), 27-34.
- Sim, S., Chevrier, A., Garon, M., Quenneville, E., Yaroshinsky, A., Hoemann, C. D., & Buschmann, M. D. (2014). Non-destructive electromechanical assessment (Arthro-BST) of human articular cartilage correlates with histological scores and biomechanical properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22(11), 1926-1935.
- Sim, S., Haddad, I., Garon, M., Quenneville, E., Hurtig, M. B., Buschmann, M. D., & Hoemann, C. D. (2015). Evaluation of Entire Ovine Cartilage Repair Articular Surfaces: Mechanical and Electromechanical Assessment. *Trans International Cartilage Repair Society*, P87.
- Sim, S., Quenneville, E., Garon, M., Hoemann, C. D., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2013). Evaluation of a Novel Technique to Map the Biomechanical Properties of Entire Articular Surfaces Using Indentation. *Trans International Cartilage Repair Society*, 11.12.19.

Soulhat, J., Buschmann, M. D., & Shirazi-Adl, A. (1999). A fibril-network-reinforced biphasic model of cartilage in unconfined compression. *J Biomech Eng*, *121*(3), 340-347.

**CHAPITRE 6 ARTICLE 3: DEVELOPMENT OF AN
ELECTROMECHANICAL SCORE TO ASSESS HUMAN KNEE
ARTICULAR CARTILAGE DEGENERATION**

Sotcheadt Sim^{1,2}, Insaf Hadjab^{1,2}, Martin Garon², Eric Quenneville², Patrick Lavigne³, and
Michael D Buschmann^{1,4*}

¹Department of Chemical Engineering and Institute of Biomedical Engineering, Polytechnique
Montreal, P.O. Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

²Biomomentum Inc., 970 Michelin St., Suite 200, Laval, Quebec H7L 5C1, Canada ³Department
of Surgery, University of Montreal, P.O. Box 6128, Station Centre-Ville, Quebec H3C 3J7

⁴Groupe de Recherche en Sciences et Technologies Biomédicales, Polytechnique Montreal, P.O.
Box 6079, Station Centre-Ville, Montreal, Quebec H3C 3A7, Canada

Ce chapitre rapporte intégralement un article publié qui consiste à la troisième étude expérimentale qui répond à l'objectif :

Développer un nouveau score électromécanique quantitatif, basé sur le paramètre quantitatif électromécanique, pour aider le diagnostic arthroscopique de la dégénération du cartilage et en vérifier sa fiabilité.

Informations supplémentaires

Journal	<i>Annals of Biomedical Engineering</i>
Date de soumission	<i>Avril 2017</i>
Date d'acceptation	-

Contribution des auteurs

Sotcheadt Sim	<i>Design de l'étude, collecte des données, analyse et interprétation des données, revue de littérature, écriture et révision de l'article</i>
Insaf Hadjab	<i>Design de l'étude, collecte des données, interprétation des données et révision de l'article</i>
Martin Garon	<i>Design de l'étude, interprétation des données et révision de l'article</i>
Eric Quenneville	<i>Design de l'étude, interprétation des données et révision de l'article</i>
Patrick Lavigne	<i>Expertise clinique et révision de l'article</i>
Michael D. Buschmann	<i>Design de l'étude, analyse et interprétation des données, expertise statistique et révision de l'article</i>

6.1 Abstract

Quantitative assessments of articular cartilage function are needed to aid clinical decision making. Our objectives were to develop a new electromechanical score to diagnose quantitatively cartilage degeneration and test its reliability. Electromechanical properties were measured using a hand-held electromechanical probe on 200 human articular surfaces from cadaveric donors and osteoarthritic patients. These data were used to create a reference electromechanical property database and to compare with visual arthroscopic International Cartilage Repair Society (ICRS) grading of cartilage degradation. The effect of patient-specific and location-specific characteristics on electromechanical properties was investigated to construct a continuous and quantitative electromechanical score analogous to ICRS grade. The reliability of this novel score was assessed by comparing it with ICRS grades on 37 human articular surfaces. Electromechanical properties were not affected by patient-specific characteristics within each ICRS grade, but were significantly different across the articular surface. Electromechanical properties varied linearly with ICRS grade, leading to a simple linear transformation from one scale to the other. The electromechanical score correlated strongly with ICRS grade ($r=0.92$, $p<0.0001$). Additionally, the electromechanical score detected lesions that were not found visually. This novel score can assist the surgeon in assessing human knee cartilage by providing a quantitative and reliable grading system.

6.2 Key terms

Streaming Potentials, Electromechanical Reference Database, Cartilage Diagnostic, Osteoarthritis, ICRS grade

6.3 Introduction

Objective assessment of articular cartilage is critically important in the diagnosis of diseases such as osteoarthritis (OA) and other joint impairments. Currently, knee arthroscopy is regarded as the most valid method for cartilage evaluation (Spahn et al., 2011), and is the only technique providing direct visualization and evaluation of cartilage. Cartilage lesions are frequently found during arthroscopy and the grading of these lesions guides the surgeon in determining appropriate therapeutic approaches. Many grading systems of cartilage lesions were developed over the past decades (Oakley & Lassere, 2003). In general, surgeons use a blunt probe to help in the estimation of lesion depth and qualitative stiffness of cartilage (Spahn et al., 2011). However, the drawbacks of these classification systems result in subjective estimations by surgeons to differentiate between low-grade and high-grade cartilage lesions (Spahn et al., 2011). Also, the macroscopic visual assessment of cartilage is now widely recognized as insufficient since visually normal cartilage can be functionally or structurally degraded (Bert & Leverone, 2007; Sim et al., 2016). Therefore, the addition of quantitative assessment of cartilage to current macroscopic grading systems is needed to aid clinical decision making (Spahn et al., 2011).

An arthroscopic probe (Arthro-BST, Biomomentum, Canada) was developed to assess electromechanical properties of cartilage by streaming potential measurements (Changoor et al., 2011). These electric potentials are generated during mechanical loading of cartilage which entrains mobile positive ions in the interstitial fluid relative to the fixed negative ions of the proteoglycans imbedded within the collagen network (Buschmann & Grodzinsky, 1995; Garon et al., 2002). It has been long recognized that compression-induced streaming potentials are representative of the structural and functional properties of the cartilage (Abedian et al., 2013; Changoor et al., 2011; Changoor et al., 2010; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). More recently, several studies have reported correlations of the electromechanical properties with common characterizations in human articular surfaces such as mechanical modulus (Abedian et al., 2013; Sim et al., 2016; Sim et al., 2014), histological Mankin Score (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2015; Sim et al., 2016; Sim et al., 2014), polarized light microscopy score (Sim et al., 2014), water and GAG content (Becher et al., 2015; Brinkhof et al., 2017; Sim et al., 2014), ICRS grading (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2015) and MRI-gagCEST (Brinkhof et al., 2017). A recent study demonstrated the sensitivity of the electromechanical probe in diagnosing

early cartilage degeneration where other characterizations failed such as histological Mankin scores, cartilage thickness or biochemical assessments of cartilage (Sim et al., 2016). Additional studies have reported changes in electromechanical properties with degeneration of cartilage (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2015; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002) and with different cartilage repair outcomes (high-quality hyaline-like repair, thinner hyaline-like repair and un-repaired subchondral bone/calcified cartilage) in ovine models (Schagemann et al., 2016). Taken together, these studies revealed the diagnostic potential of this arthroscopic probe and motivated its further development into a diagnostic tool for articular cartilage.

To be clinically useful, the current probe output, the electromechanical quantitative parameter (QP), needs to be translated into a diagnostic score that can be easily implemented by surgeons, like the widely used arthroscopic International Cartilage Repair Society (ICRS) grading system. Therefore, the objective of this study was to develop a novel quantitative electromechanical score, based on the electromechanical QP, to aid the arthroscopic diagnosis of cartilage lesions and to test its reliability by assessing *ex vivo* human articular surfaces of various degeneration states. Studies have reported a decrease of the electromechanical response of cartilage in the initial degeneration stages (from ICRS grade 0 to 2). We hypothesized that the electromechanical response will still be weak in more severe degeneration stages (ICRS grade 3) but at some extent, it will rise due to cartilage thinning until reaching no electromechanical response with complete cartilage loss exposing bone. A second hypothesis proposes that patient-specific and location-specific characteristics will impact the electromechanical properties and thus need to be considered in the development of the grading system. The last hypothesis states that the proposed electromechanical grading system is more sensitive to degeneration than the ICRS grading system since it is a quantitative and objective score that reflects the integrity of the cartilage.

6.4 Materials and Methods

6.4.1 Tissue source

200 knee articular surfaces, consisting of the distal femur (trochlea, anterior and posterior condyles), patella and tibial plateaus, were used to create and test the electromechanical diagnostic score (Table 6.1). These tissues were collected from 40 cadaveric donors that were asymptomatic for OA related diseases, and provided by a tissue bank (RTI Surgical, Alachua, FL, USA) and from 40 patients undergoing total knee replacements (TKR) through procedures approved by the Ethics Committee at Maisonneuve-Rosemont Hospital (Quebec, Canada). All procedures involving these human tissues were carried out according to institutionally-approved protocols. Each sample was stored at -80°C upon reception for a maximum of 3 years for the cadaveric samples and a maximum of 1 year for the TKR samples.

Table 6.1: Characteristics of all cadaveric donors and total knee replacement (TKR) patients

Characteristic	Asymptomatic Samples from Cadaveric Donors (n=40 donors; 100 articular surfaces)	OA samples from TKR Patients (n=40 patients; 100 articular surfaces)
Age, years (range)	40.8 \pm 16.8 (17-69)	62.6 \pm 10.4 (32-84)
Gender, <i>n</i> (%)		
Male	28 (70%)	16 (39%)
Female	12 (30%)	25 (61%)
Body Mass Index (BMI), kg/m^2	30.0 \pm 8.9	33.2 \pm 8.0
Smoking Status, <i>n</i> (%)		
Non-smoker	18 (45%)	40 (98%)
Smoker	22 (55%)	1 (2%)

6.4.2 Tissue Processing

Prior to measurements, each sample was thawed overnight at 4°C and equilibrated at room temperature in physiological phosphate buffered saline solution for at least 15 minutes. First, manual mapping with the electromechanical probe (Arthro-BST, Biomomentum, Quebec, Canada) was performed *ex vivo* using a position grid (corresponding to ~ 9 sites per cm^2) superimposed on the top-view image of the articular surface through a live camera-registration software (Mapping

Toolbox, Biomomentum, Quebec, Canada).(Sim et al., 2016; Sim et al., 2014) Streaming potential distributions were measured through the 37 gold microelectrodes on the semi-spherical indenter of the probe (effective radius=3.18mm, 5 microelectrodes/mm²). A single measurement (5 seconds) was taken at each position on account of the high reproducibility of the probe (Changoor et al., 2011). The output of the device, the electromechanical QP, corresponds to the number of microelectrodes in contact with the cartilage when the sum of all electrode potentials reaches 100mV. A high QP is thus representative of weak electromechanical properties (degeneration), while low QP is obtained when cartilage has a strong electromechanical response. The samples were then placed back at -80°C prior to macroscopic visual assessment. The macroscopic visual assessment was performed *ex vivo* by an experienced orthopaedist (blinded to electromechanical outcomes). The ICRS grading system (Mainil-Varlet et al., 2003) was chosen since it is widely accepted to assess cartilage lesion severity (Tetteh et al., 2012). To mimic a routine arthroscopic evaluation, the orthopaedist also used a blunt probe to grade the entire articular surfaces. The extent of each cartilage lesion and its ICRS grade were drawn on a printout of the top-view of the sample with the position grid superimposed. Consequently, every position had an electromechanical QP and an ICRS grade to generate maps of these characterizations.

6.4.3 Creation of a reference electromechanical database

The diagnosis of cartilage degeneration using an electromechanical probe requires a reference database of electromechanical properties of normal human cartilage. For that purpose, we used articular surfaces from cadaveric donors. Even if donors were reported as asymptomatic for OA, visual signs of degeneration (based on ICRS score) were observed in several regions of the articular surfaces. Thus, exclusion criteria were defined to avoid regions of degenerated cartilage to create a normal reference database (Figure 6.1). The first exclusion criterion discarded all donors with OA related diseases or knee trauma. Also, an articular surface was discarded when more than 70% of the surface was visually degenerated (ICRS grade>0), considering that a previous study has shown early degeneration of cartilage in the surrounding 10 mm of visual lesions (Sim et al., 2016). All locations with an ICRS grade>0 (the normal value) were also removed (Figure 6.1). The remaining positions went through an analysis of electromechanical QPs to detect those which were 30% greater than the mean of surrounding values. Some of those positions came from articular

surfaces that were processed histologically subsequently to electromechanical assessment, in our previous studies (Sim et al., 2016; Sim et al., 2014), to obtain the Mankin Score and thus, histological information on the cartilage quality could be considered (Figure 6.1). Those positions were eliminated if they were within the surrounding 10 mm of visual lesion (Sim et al., 2016) or if the Mankin Score was greater or equal to 2 suggesting early OA (Nishitani et al., 2014). This reference electromechanical database will be used to determine the average QP (QP_{REF}) at any given region on normal knee articular surfaces.

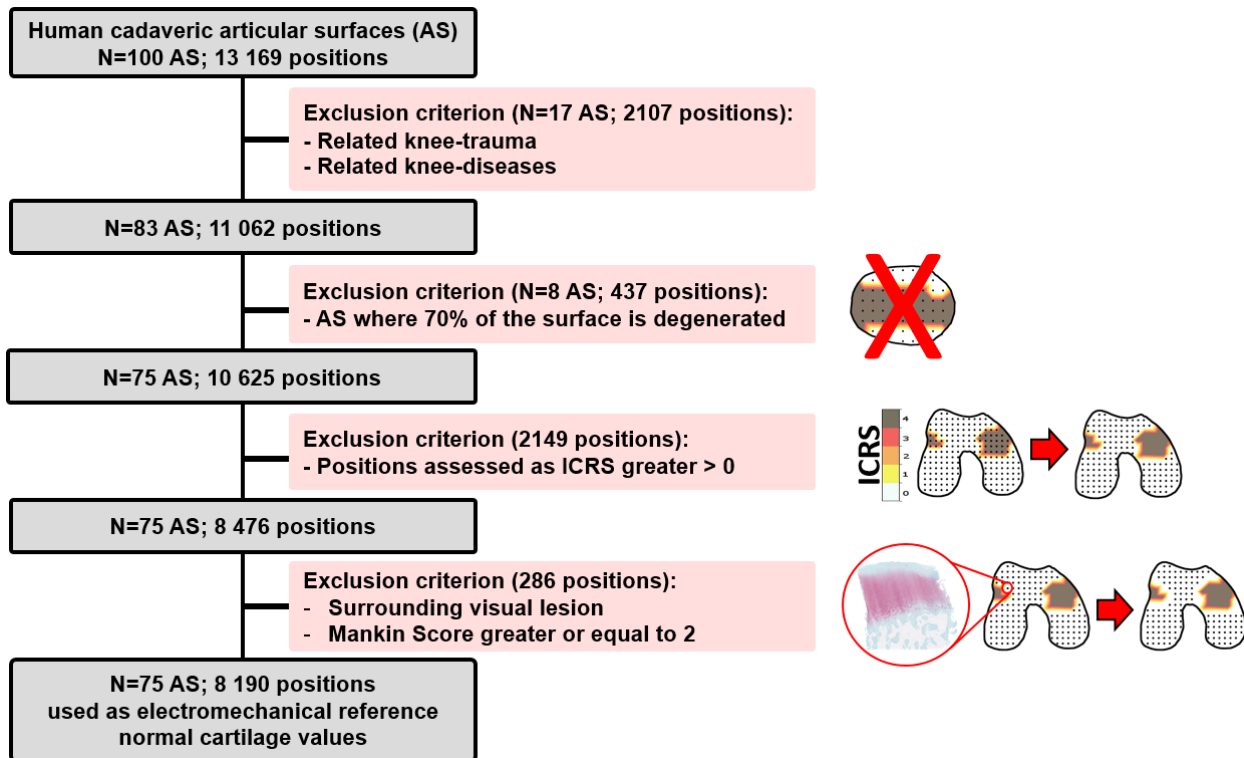


Figure 6.1: Flowchart of the creation of the electromechanical reference database

6.4.4 Comparison of electromechanical properties to visual ICRS grading of cartilage degradation

Unlike the electromechanical reference database, where normal cartilage regions were available at all anatomical positions over entire articular surfaces of asymptomatic donors, the locations of degenerated cartilage regions are more limited. Indeed, studies have reported distinct cartilage degeneration patterns suggesting that specific regions on the articular surfaces are more likely subjected to degeneration (Bae et al., 2010; Sim et al., 2016). Moreover, the articular surfaces from TKR surgeries such as the patellas and distal femurs were extracted in a way that the anatomical landmarks were lost. Therefore, the electromechanical properties of degenerated cartilage were only studied by grouping wide regions on the articular surface rather than the exact location. Based on the visual assessment image drawn by the orthopaedist, measurement positions located clearly within an ICRS grade were retained and positions located within the boundaries of two or more ICRS grades were eliminated. Subsequently, the average electromechanical QP could be calculated for ICRS grade 1 (QP_1), ICRS grade 2 (QP_2), ICRS grade 3 (QP_3) and ICRS grade 4 (QP_4) within each specific region of the knee.

6.4.5 Patient-specific and topographic characteristics of electromechanical properties

An investigation was performed to explore patient-specific and location-specific information to provide an accurate and personalized diagnostic. Patient information included age, body mass index (BMI), gender and smoking status. To evaluate these effects on the electromechanical QP, a multiple regression was performed using a mixed effects model for each ICRS grade. The electromechanical QP was the dependent variable while age, BMI, gender, smoking status, and articular surface were the explanatory variables (fixed effects) and the donor was the random effect. The purpose of this analysis was to determine whether patient-specific and location-specific characteristics need to be accounted for in the diagnostic.

6.4.6 Development of an electromechanical score

To assess cartilage degeneration, the electromechanical QP was translated into a diagnostic score analogous to the ICRS grade, which is easily implemented by surgeons. Hence, the electromechanical QP, defined on a 0-37 scale, was translated into an electromechanical score, defined on a 0-4 scale. Indeed, the relationship between each ICRS grade of a region and its corresponding average electromechanical QP values, QP_{REF} , QP_1 , QP_2 , QP_3 and QP_4 , was defined to dictate the translation from one scale to the other. It is useful to mention that QP_{REF} can be obtained for any region based on the electromechanical reference database. However, average electromechanical QP for each degeneration ICRS grade, QP_1 , QP_2 , QP_3 and QP_4 , can only be obtained for limited regions due to distinct degeneration patterns. To overcome this limitation, a modelling of electromechanical QP in terms of ICRS grades was performed. Assuming that cartilage degeneration is homogenous across an entire articular surface (Quenneville et al., 2007), we developed a model of cartilage degeneration for the electromechanical grading system. Moreover, a cartilage repair assessment was incorporated into the electromechanical grading system. We hypothesized that the electromechanical QP of incomplete repaired cartilage will be lower than the electromechanical QP of normal cartilage. Indeed, repaired cartilage would start by being abnormally thin and will thicken until reaching a hyaline-like appearance and composition. This hypothesis was verified and supported by a previous study of cartilage repair in a sheep model (Schagemann et al., 2016), where the diagnostic parameter (interpreted as the electromechanical score) was calculated as the difference between the measured QP and the reference QP (QP_{REF}) at matched locations.

6.4.7 Analysis on the effect of location on the electromechanical score

For clinical use, where accurate positioning is hard to discern, an analysis on how rigorous the measurement location must be, to provide an accurate assessment of cartilage quality, was required. Thus, four different regional segmentations were considered: 1 region being the entire knee, 4 regions being each of the articular surfaces, 5 regions where the tibial plateau was divided into region covered and not covered by the meniscus and lastly, high-resolution regions where each articular surface was subdivided in at least 50 regions. A receiver operating characteristic (ROC)

analysis presented which type of regional segmentation gave the best sensitivity and specificity in diagnosing cartilage degeneration and was incorporated into the algorithm for clinical use.

6.4.8 Evaluation of the electromechanical score reliability

The electromechanical score reliability was examined using a subset ($n=37$) of the available human knee articular surfaces. These 37 articular surfaces were chosen since they presented various ICRS grades to test the performance of the electromechanical score to diagnose all possible outcomes: normal healthy cartilage, early and mild degeneration to severely degraded cartilage to underlying bone. The electromechanical score was computed using the newly developed diagnostic algorithm. Due to the mapping capacity of our techniques (measurements following a position grid), mappings of the electromechanical score and ICRS grade were generated for each sample. Moreover, a Pearson correlation analysis was performed to investigate the correlation between the electromechanical score and the ICRS grade. Lastly, the percentage of lesional areas for each sample was calculated as the percentage of positions with a score greater or equal to 1 for both the electromechanical score and the ICRS grade. Thus, each sample obtained two percentages of lesional areas based on each score to examine how both scores were related in means of detecting cartilage degeneration cartilage.

6.4.9 Statistical Analysis

All statistical analyses were performed with SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., North Carolina, USA). For all statistical tests, a p -value of 0.05 (two sided) or smaller was consider statistically significant.

6.5 Results

6.5.1 Electromechanical reference database

100 human cadaveric articular surfaces were subjected to exclusion criteria to eliminate regions of degenerated cartilage and permit the creation of a normal reference database (Figure 6.1). At first, there were 13,169 measurement positions of electromechanical assessment. 17 articular surfaces (corresponding to 2,107 positions) were extracted from donors with OA-related diseases or knee trauma, these samples were excluded from the reference database. 8 articular surfaces were excluded since they had more than 70% of their surface graded as degenerated by the surgeon. 2,149 positions were removed because they were assessed with an ICRS greater than 0 by the surgeon. Finally, the last exclusion criterion consisted of an analysis of outlying electromechanical QPs where 286 positions were eliminated because they were in the surrounding 10 mm from a visual lesion or if available, their Mankin score was greater or equal to 2. At the end, our reference electromechanical database consisted of 75 articular surfaces corresponding to a total of 8,190 measurement positions.

6.5.2 Electromechanical QP variation with cartilage degeneration

An increase of the electromechanical QP from normal to early degenerated cartilage, essentially from ICRS grade 0 to ICRS grade 2 was observed (Figure 6.2). Two different electromechanical distributions characterized severe cartilage degeneration (ICRS grade 3): low and high electromechanical QPs. The high QPs obtained within the ICRS grade 3 were interpreted by a low electromechanical response of the cartilage due to clefts and severe loss of matrix integrity while the low QPs were explained by cartilage thinning. Thus, ICRS grade 3 was divided in two categories — ICRS grade 3 (high QPs) and ICRS grade 3.5 (low QPs) (Figure 6.2). Furthermore, ICRS grade 4 was represented by QPs of zero since the compression of underlying bone does not generate streaming potentials. A positive linear relation was assumed for the electromechanical QP within ICRS grade 0 to 3 (approximately a 4 QP unit increase for each ICRS grade); and a negative linear relation was assumed for the electromechanical QPs within ICRS grade 3 to 4 (Figure 6.2). The linear assumption was made since the ICRS grades are not on a continuous scale. Interestingly, the average QPs of ICRS grade 3.5 was similar to the average QPs of ICRS grade 0 (Figure 6.2).

Consequently, a severe degenerated cartilage could be confused with normal cartilage. Since cartilage within ICRS grade 3.5 can be easily distinguished visually by the surgeon, user input is required to make the correct classification.

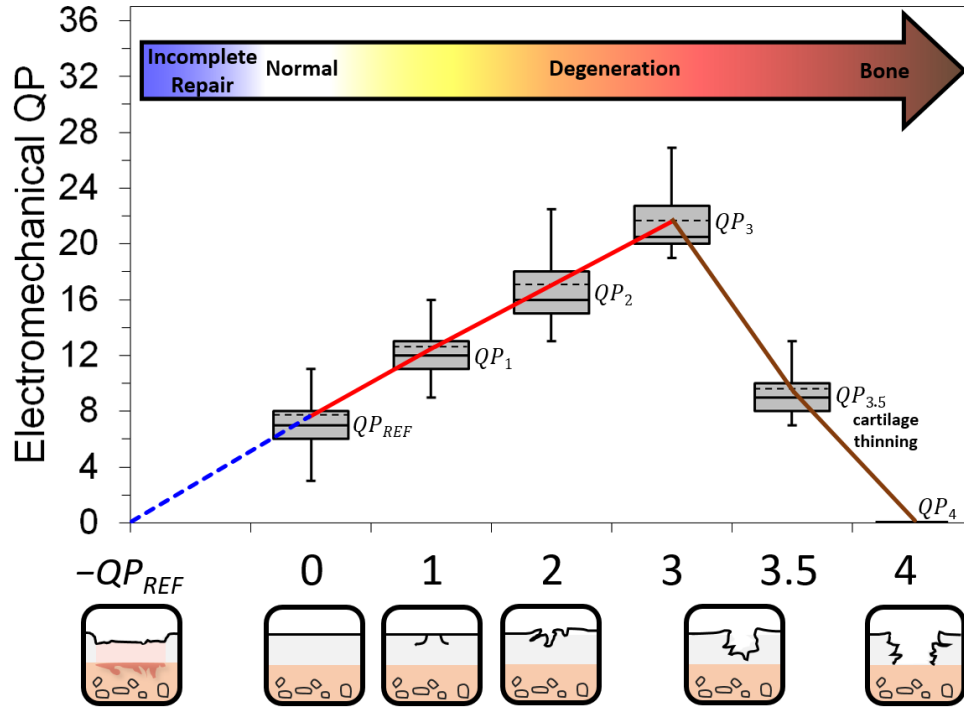


Figure 6.2: Box Plot of the electromechanical QP in function of ICRS grade and cartilage repair outcome (incomplete repair) for the posterior femoral condyles. ICRS grade 3 was separated in 2 sub-grades following the increase of lesion depth towards bone such as ICRS grade 3 and ICRS grade 3.5. An increase of the electromechanical QP can be observed from grade 0 to grade 3 while the electromechanical QP decreases from ICRS grade 3 and becomes 0 for ICRS grade 4.

The same trend can be observed for all other knee articular surfaces. Incomplete repair of cartilage exhibits a lower electromechanical QP than normal cartilage (QP_{REF}) and is represented by the blue dotted line. Box plot shows median value (central horizontal solid line) and mean value (central horizontal dotted line), first and third quartiles (box) and 1.5 x interquartile range (bars).

6.5.3 Electromechanical QP variation with patient-specific and topographic characteristics

A multiple regression model (mixed effect) was carried out to examine whether the diagnostic algorithm shall consider patient-specific and location-specific characteristics as inputs. This examination could only be done on certain patient-specific attributes such as age, BMI, gender and smoking status. The regression model revealed no evidence that patient-specific characteristics affected the electromechanical QPs within each ICRS grade (Table 6.2), whereas the location of measurement had a great influence on electromechanical QP ($p < 0.0001$ for all ICRS grades; Table 6.2).

Table 6.2: Fixed effects for model predicting electromechanical QP within each ICRS grade

Parameter	ICRS grade 0	ICRS grade 1	ICRS grade 2	ICRS grade 3	ICRS grade 3.5
Patient-specific					
Age	$p=0.1176$	$p=0.2904$	$p=0.8174$	$p=0.5784$	$p=0.1714$
Body Mass Index	$p=0.1370$	$p=0.6067$	$p=0.1460$	$p=0.6935$	$p=0.6920$
Gender	$p=0.0792$	$p=0.9011$	$p=0.6202$	$p=0.1769$	$p=0.2066$
Smoking Status	$p=0.8364$	$p=0.2402$	$p=0.3412$	$p=0.9159$	$p=0.1613$
Location-specific					
Articular Surface	$p < 0.0001^*$	$p < 0.0001^*$	$p < 0.0001^*$	$p < 0.0001^*$	$p < 0.0001^*$

Note. ICRS grade 4 is not presented since all electromechanical QPs within that grade are equal to 0

* $p < 0.05$

6.5.4 Development of an electromechanical score

The electromechanical QP presented a positive linear relationship within the first ICRS grades 0 to 3 (Figure 6.2). This finding allowed modelling of the average QP within each degeneration grades knowing the average reference value QP_{REF} obtained precisely at any position through the electromechanical reference database. Thus, the linear positive relation permitted computation of the average QP for ICRS grades 1 to 3 (QP_1 , QP_2 and QP_3) at any given location of measurement; QP_4 being 0 always. Knowing these average QPs lead to the linear transformation of electromechanical QP (values between 0 and 37) to obtain the electromechanical score (values between 0 and 4). When the electromechanical QP value is within the distribution of both ICRS

grade 0 and ICRS grade 3.5, the user input on the appearance of cartilage will allow making the correct score choice to compute an electromechanical score between 0 and 1 or between 3.5 and 4. Moreover, the natural variability of the electromechanical reference database was calculated to provide a 95% confidence interval for the average QP of normal cartilage (ICRS grade 0). Thus, during the conversion from the electromechanical QP to the electromechanical score, all values within that confidence interval were scored 0. Also, a cartilage repair assessment was incorporated into the electromechanical grading system based on previous results in a sheep model, (Schagemann et al., 2016) where abnormally thin cartilage (incomplete repair) could be assessed by subtracting the reference electromechanical QP from the measured QP and resulted in a negative value. Thereby, the electromechanical grading system could be used as a complete cartilage assessment technique (Figure 6.2) where an electromechanical score close to zero corresponds to *normal cartilage*, a positive score - between 1 and 4 - to *degenerated cartilage* and a negative score to *abnormally thin cartilage (incomplete repair)*.

6.5.5 Effect of location on the electromechanical score

Receiver operating curve analyses were performed considering 4 distinct regional segmentations for the location of measurement (Figure 6.3). The area under the curve (AUC) was reported as an indicator of the sensitivity and specificity of the electromechanical score obtained considering each regional segmentation towards the differentiation between ICRS grades. The high-resolution regions offered the best sensitivity and specificity in the differentiation between ICRS grades. However, since high-spatial-resolution measurements are expected to be difficult to achieve in a clinical context, the other cases were examined to determine the best regional consideration. In the differentiation between ICRS grades 0 vs 1, all the cases obtained a high and similar AUC ranging from 0.960 to 0.964. The same can be observed for the differentiation between ICRS grades 1 vs 2 where the AUC ranges from 0.865 to 0.888. However, considering the differentiation between ICRS grade 1 vs 3, the 5 regions segmentation allowed a remarkable distinction (AUC=0.980) compared to the 1 and 4 regions cases (AUC=0.942 and AUC=0.955, respectively). Once more, the 5 regions case obtained a higher sensitivity and specificity (AUC=0.821) than the other two (AUC=0.791 and AUC=0.804, respectively) in the differentiation between ICRS grades 2 vs 3. This analysis endorsed the number of regional segmentations required to provide an accurate

diagnostic of cartilage in clinical context which is at least 5 regions: such as the distal femur (trochlea and anterior femoral condyles), the posterior femoral condyles, the patella, the tibial plateau covered and not covered by the meniscus. Therefore, to get a reliable diagnostic, it is not essential to know the exact position of each measurement point, but only to know on which of these 5 regions the measurement was done. This information can be provided in a diagnostic algorithm with user input.

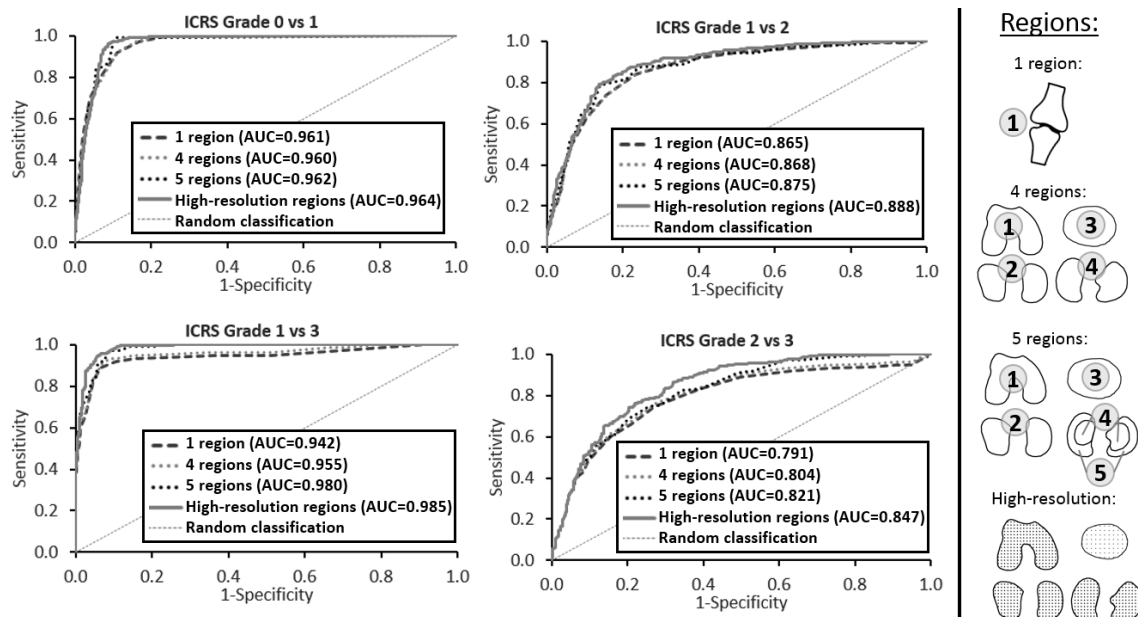


Figure 6.3: Receiver Operating Characteristics (ROC) curves assessing the sensitivity and specificity of the electromechanical score in the differentiation between ICRS grades for different regional segmentation. The area under the curve (AUC) is reported for each regional segmentation. Four comparisons were investigated: 1 region being the knee, 4 regions being each articular surface, 5 regions being each articular surface but dividing the tibial plateau in 2 distinct regions such as covered and not covered by the meniscus and high-resolution regions (at least 50 regions per articular surface).

6.5.6 Diagnostic algorithm

An algorithm was developed to compute the electromechanical score and therefore, diagnose cartilage in real-time. Based on all those results, which showed the electromechanical QP variation with degeneration, the need of user input to distinguish between normal and very severe cartilage degeneration (cartilage thinning) and the effect of location on the electromechanical QPs, the diagnostic algorithm was conceived (Figure 6.4). The first step in the algorithm is to input to the software the location of measurement (one of the 5 regions previously mentioned in clinical context or the exact location in research context, if a mapping is desired). Once the location of measurement is provided, the algorithm searches into the reference electromechanical database to obtain QP_{REF} . Knowing QP_{REF} , the modelling of QP_1 , QP_2 and QP_3 can be performed and the linear transformation of the electromechanical QP into the electromechanical score is done. The user indicates in the software when the articular surface contains regions with severe cartilage degeneration (cartilage thinning) or when it has been subjected to a cartilage repair procedure. This will allow the software to minimize the number of request of user input about cartilage appearance. The electromechanical score is calculated following each measurement and is displayed. To summarize all electromechanical scores obtained within the selected region, the software also displays a relative frequency count for each electromechanical score segment (facilitate decision making) and a mapping of the electromechanical score over the articular surface (facilitate visualization of distribution of lesions) (Figure 6.4).

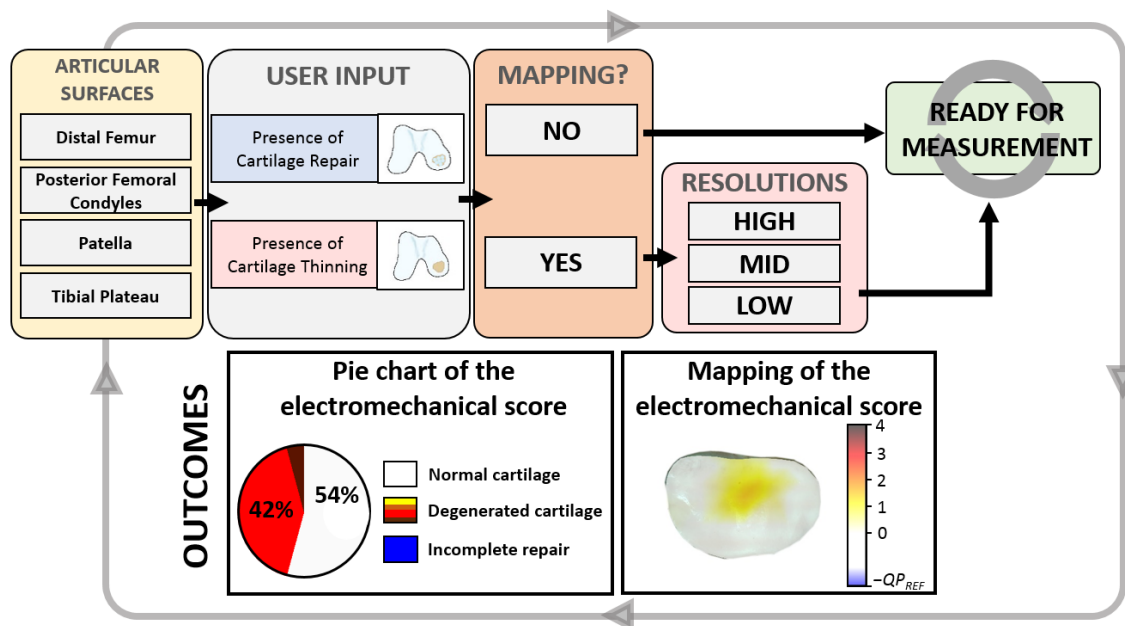


Figure 6.4: Software interface overview. After entering pertinent patient info and indicating which knee is under investigation, the user indicates to the software which of the 5 regional segment — distal femur (trochlea and anterior femoral condyles), posterior femoral condyles, patella, tibial plateau covered and not covered by the meniscus — will be characterized. The user provides input on the presence of cartilage repair or severe degeneration for that surface and indicates if he wishes to perform a detailed mapping. The device is then ready for measurement. Following each measurement, an electromechanical score is displayed. After completing all measurements over the articular surface, the software displays an average electromechanical score and a relative frequency count for each electromechanical score segment. A mapping of the electromechanical score over the articular surface is also displayed. If needed, the user can repeat this process for another articular surface.

6.5.7 Implementing the electromechanical score to detect cartilage degeneration

A Pearson analysis revealed a strong positive correlation between the electromechanical score and ICRS grade ($r=0.92$, $p<0.0001$; Figure 6.5) indicating a good agreement between the two scores. Additionally, the percentage of lesions (score ≥ 1) for each sample was calculated for both grading systems and were plotted against each other to examine the relationship between both assessments (Figure 6.6). The percentage of lesions defined by the electromechanical score was always greater or equal to the one defined by the ICRS grade suggesting a higher sensitivity in defining cartilage degradation for the electromechanical technique. When considering the mappings of both grading systems (Figure 6.7), the electromechanical score showed early degenerated regions (beige-yellowish regions with a score between 0.5-2) not detected macroscopically by the surgeon (white regions with an ICRS grade of 0). Furthermore, the degeneration stage seemed more advanced when defined by the electromechanical score (orange-reddish regions with a score between 2.5-3.5) than the ICRS grade (yellow and orange regions with an ICRS grade of 1 and 2 respectively) (Figure 6.7).

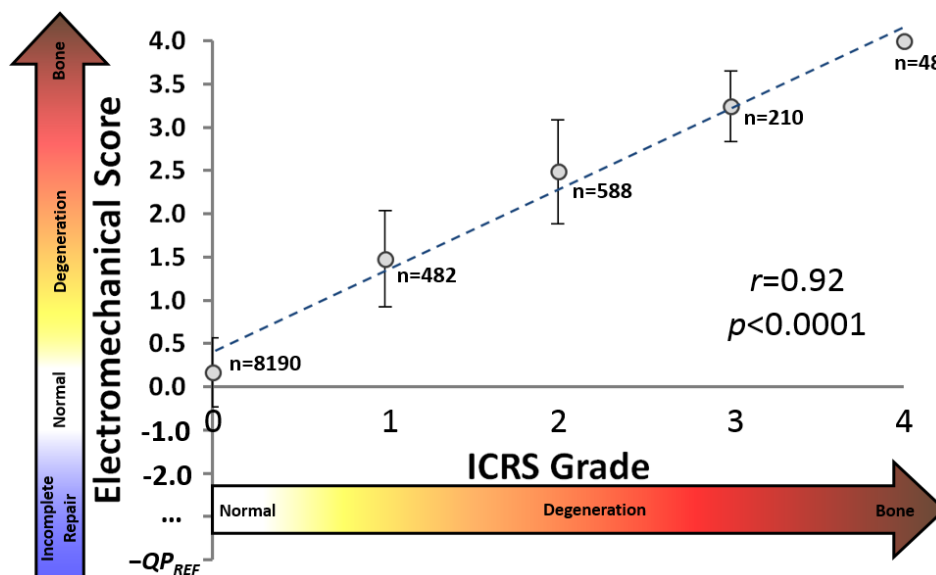


Figure 6.5: Scatter Plot of pooled data (from all positions of the 37 articular surfaces). A strong positive correlation can be observed between the electromechanical score and the ICRS grade.

The presented electromechanical scores were calculated considering the high-resolution segmentation. Scatter plot shows mean value (grey marker) and standard deviation (error bars).

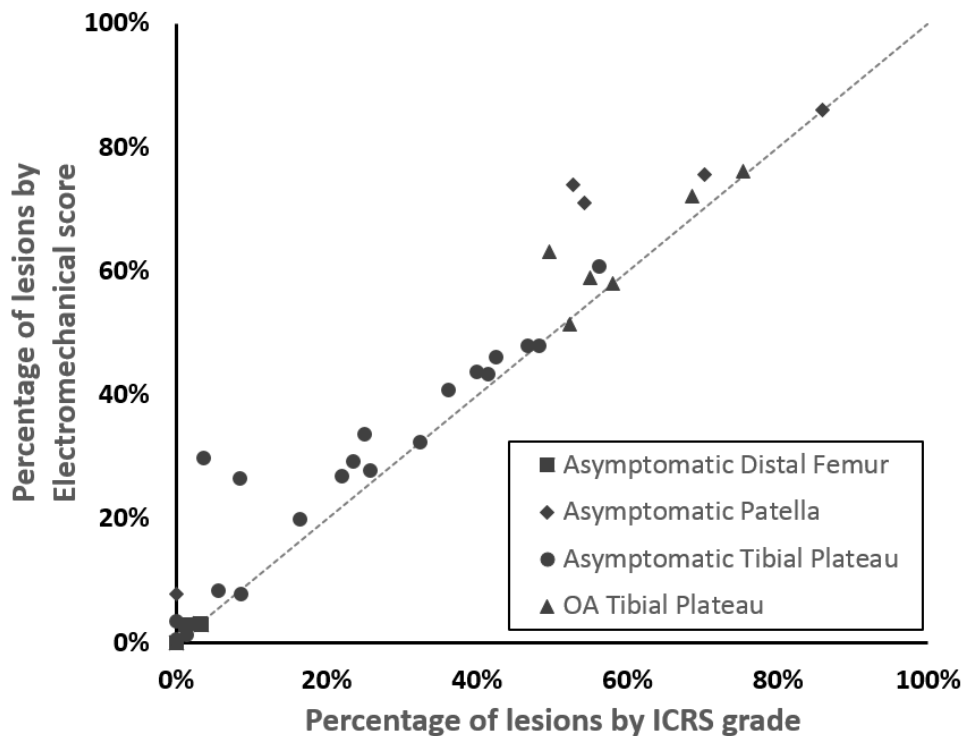


Figure 6.6: Scatter plot of the percentage of lesions found by the electromechanical score (Y-axis) and the percentage of lesions found by the ICRS grade (X-axis). Lesions are defined when the ICRS score or the electromechanical score is greater or equal to 1. The dotted line represents a perfect match between the two scores. The percentage of lesions detected by the electromechanical score is greater or equal to the one detected by the ICRS score. Distal femurs, patellas and tibial plateaus from OA asymptomatic donors are represented by square, diamond and circle markers respectively. Tibial plateaus from patients undergoing total knee replacement surgeries are represented by a triangle marker.

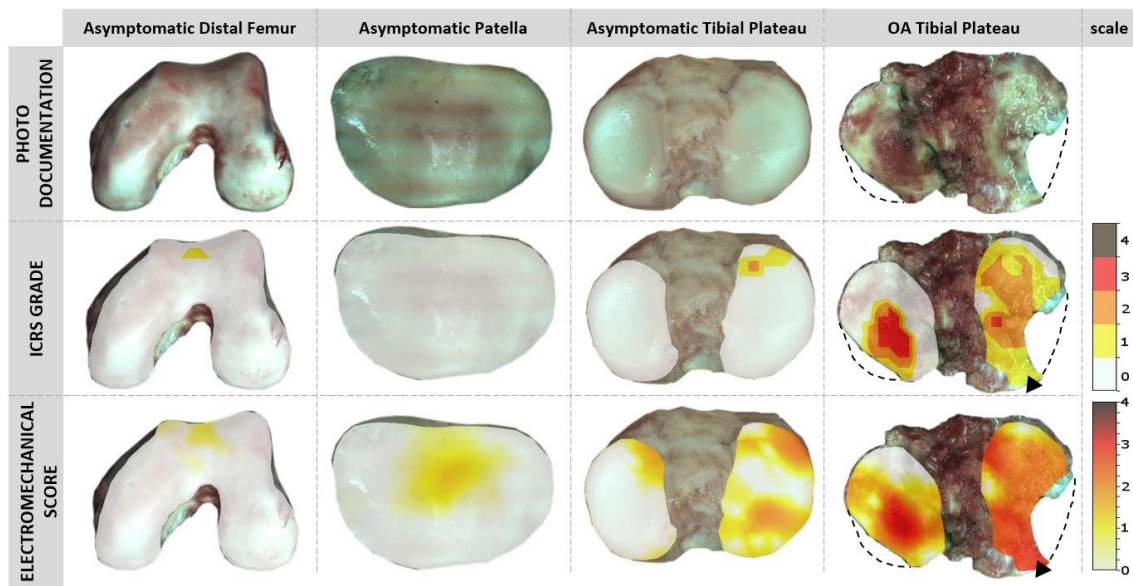


Figure 6.7: Representative mappings of the ICRS grade and electromechanical score for each type of articular surface. The mappings of the electromechanical score shows early degenerated regions (beige-yellowish regions with an electromechanical score between 0.5 and 2) not detected macroscopically by the surgeon (white regions with an ICRS grade of 0). Also, the degeneration stage seems more advanced when defined by the electromechanical score (orange-reddish regions with an electromechanical score between 2.5 and 3.5) than the ICRS grade (yellow and orange regions with an ICRS grade of 1 and 2 respectively) — as shown by the black arrows on the OA tibial plateau. The black dotted lines represent missing parts of the OA tibial plateau.

6.6 Discussion

The addition of quantitative assessment of cartilage quality to the process of macroscopic grading systems is required by the majority of arthroscopists to aid clinical decision making. The current study presented the development and verification of a novel electromechanical grading system which offers a quantitative and reliable assessment of cartilage function. The results supported our first hypothesis stating that the electromechanical QP of cartilage increases as its degeneration progresses until cartilage thinning where the electromechanical QP decreases towards 0, consistent with many previous studies which observed mechanical and electromechanical responses of cartilage decreasing in the course of OA (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2015; Kleemann et al., 2005; Knecht et al., 2006). The electromechanical QP increased by approximately 4 QP units for each ICRS grade from 0 to 3 (Figure 6.2), similar to a previous study which showed a stiffness loss of about 25% in human tibial plateaus for each ICRS grade (Kleemann et al., 2005). To our knowledge, studies always neglected testing on severely fibrillated and fissured tissue and thus, no one has ever reported the distinct variation of cartilage properties from early-stage degeneration compared to end-stage degeneration (cartilage thinning) which was observed in the current study. Indeed, we identified two distinct electromechanical QP distributions within ICRS grade 3 which were classified as grade 3 and 3.5 (Figure 6.2). Higher QPs were attributed to cartilage generating very low compression-induced streaming potentials due to matrix integrity loss, thus requiring many microelectrodes to reach a sum of 100mV. Lower QPs resulted from cartilage thinning due to severe degradation of the cartilage tissue so during cartilage compression, the interstitial pressure rises resulting in high streaming potentials, thus fewer microelectrodes are required to reach a sum of 100mV. This interesting cartilage's electromechanical behaviour has not been previously reported, but many studies have reported a decrease in cartilage stiffness with cartilage degeneration (Kleemann et al., 2005). Similarly to what we observed for the electromechanical properties, when reaching a certain cartilage degeneration level, where cartilage thinning is evident, the stiffness measured would increase instead of decreasing due to the presence of the bone.

We investigated the possible influence of patient-specific characteristics on the properties of knee cartilage, more specifically its electromechanical response, within each degeneration state.

Indeed, since many studies have indicated an increase in the prevalence of osteoarthritis with aging, obesity or in women (Heidari, 2011), we first thought that the diagnostic algorithm needed to be customized according to patient-specific attributes. However, we found no evidence that patient characteristics available in this study affected the electromechanical QP (Table 6.2) and thus, need not be considered in the diagnostic algorithm. Perhaps surprisingly, the electromechanical properties of normal cartilage at matched-location of elderly people was found similar to those of young people. This result supports another study revealing that osteoarthritis is independent of the process in which cartilage changes with aging and thus, the decrease is not absolutely a consequence of aging (Martin & Buckwalter, 2001). Our study emphasizes once more that the spatial variation of cartilage properties within an articular surface needs to be advised to provide an accurate diagnostic (Moshtagh et al., 2016). We found that at least 5 specific regions need to be considered (Figure 6.3). These regions are the distal femur (trochlea and anterior condyles), the posterior femoral condyles, the patella, and the tibial plateau covered and not covered by the meniscus. Existing literature suggests effectively a significant difference between the associated structures of cartilage in the region covered compared to the region not covered by the meniscus (Thambyah et al., 2006) and a difference between femoral cartilage compared to patellar cartilage (Froimson et al., 1997). Thereby, incorporating region-specific electromechanical patterns into the diagnostic algorithm offers higher sensitivity and specificity.

The verification of the newly developed electromechanical grading system revealed a strong positive correlation between the electromechanical score and the ICRS grade (Figure 6.5) and highlighted several interesting findings. First, 84% of the articular surfaces used for the verification were issued from asymptomatic cadaveric donors where most of their surface were macroscopically evaluated as normal (ICRS 0) (Figure 6.6). However, the electromechanical score was able to detect early degeneration up to a score of 2 where the surgeon reported an ICRS grade 0 (Figure 6.6 and Figure 6.7). This is in concordance with many publications where the macroscopic assessment of cartilage was widely reported as biased since visual normal cartilage is not necessarily healthy (Bert & Leverone, 2007; Sim et al., 2016). One assumption is that a uniformly early degenerated surface will appear normal to the surgeon due to the lack of more degenerated regions to compare to. Additionally, at some regions, the electromechanical score was almost one full grade higher than the macroscopic visual score (Figure 6.7). Likewise,

previous investigators have reported the difficulty in distinguishing between ICRS grade 1 vs 2 and ICRS grade 2 vs 3 (Spahn et al., 2011). One could think that the electromechanical grading system could over-diagnose early cartilage degeneration. However, electromechanical properties are quantitative, direct and sensitive measurements of functional properties of the cartilage (Changoor et al., 2011; Legare et al., 2002; Sim et al., 2016; Sim et al., 2014) reported to detect early cartilage degeneration before any macroscopic changes could be observed (Sim et al., 2016), while the ICRS grade remains a qualitative and subjective assessment of cartilage degeneration (Spahn et al., 2011). Given that the electromechanical grading system provides a more precise grading of cartilage degeneration analogous to the ICRS grade, *in vivo* quantitative assessment of cartilage structure can provide the surgeon with immediate information on cartilage health during surgery. Using a precise electromechanical grading scale instead of a subjective visual scale would, for example, lead to a complete and more extensive removal of diseased cartilage in cartilage repair surgery. In turn, this could lead to a structurally more durable repair having removed all the diseased cartilage. Additionally, using electromechanical gradation may allow proper selection of the donor site during mosaicplasty or when using a fresh osteochondral allograft as the donor tissue.

This study has several limitations, including a second freeze-thaw cycle before ICRS macroscopic scoring by the surgeon. We believe that a second freeze-thaw cycle would have minimal influence on the macroscopic appearance of the surface and thus, would not substantially tamper the ICRS grade assessment. Indeed, the use of two freeze-thaw cycles was justified by many studies reporting no impact on the mechanical properties after three freeze-thaw cycles at -80°C in animal models (Peters et al., 2017), and that a maximum of two freeze-thaw cycles minimize any effects associated with freezing of human cartilage (Athanasίου et al., 1991). Another limitation of the study involves the impractical differentiation between normal and extremely worn cartilage when considering the electromechanical QP alone. Fortunately, the macroscopic distinction between ICRS grade 0 and 3.5 is obvious and thus, user input can be used to account for the presence of cartilage thinning in the calculation of the electromechanical score. Yet, an ongoing study is investigating the raw streaming potential distribution recorded during measurement to find indicators that might be used to differentiate automatically between these two grades. Moreover, our hypothesis that the electromechanical QPs of abnormally thin cartilage

(incomplete repair) would be lower than hyaline-like (normal) cartilage was supported by cartilage repair data obtained in sheep (Schagemann et al., 2016), while validation is still required in human. Nonetheless, a major limitation of our study comes from the fact that our samples were stored for a relatively extended period (maximum of 3 years). Thus, additional *ex vivo* and clinical studies are envisaged for a complete validation of this electromechanical grading system. One more limitation of this study is that this grading system is only applicable to articular surfaces of the knee, thus similar studies will be needed to apply it to other joints. Despite these shortcomings, the newly developed grading system could be useful in many areas such as clinical diagnostics to assist in decision making and monitoring, research such as cartilage repair or wear patterns studies and quality control where articular surfaces intended for transplantation would be assessed to ensure their compliance.

The need is urgent for an instrument to standardize and quantify diagnosis of cartilage in its early stage of degeneration where the macroscopic grading system fails. Here we have described the development and reliability of an electromechanical grading system which precisely distinguishes normal cartilage from the various stages of degeneration. This arthroscopic probe will provide a real-time quantitative diagnostic of cartilage during arthroscopic procedures, and will be especially useful in questionable cases where macroscopic assessment is insufficient to accurately differentiate between low-grade and high-grade cartilage lesions, to establish appropriate treatment.

6.7 Conflict of interest

Two of the co-authors, E. Quenneville and M. Garon, are the owners of the company Biomomentum Inc.

6.8 Acknowledgement

We acknowledge the technical contributions of Jean-Francois Lavoie, Dalia Zaky, Aurore Li Tong, Mathieu Masse and Laura-Alexie Chevrolat. Funding was provided by the National Sciences and

Engineering Research Council (NSERC), IRAP program from National Research Council Canada, MÉDITIS Program, the Canadian Arthritis Society and Biomomentum Inc.

6.9 References

- Abedian, R., Willbold, E., Becher, C., & Hurschler, C. (2013). In vitro electro-mechanical characterization of human knee articular cartilage of different degeneration levels: a comparison with ICRS and Mankin scores. *J Biomech*, *46*(7), 1328-1334. doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.02.004
- Athanasίου, K. A., Rosenwasser, M. P., Buckwalter, J. A., Malinin, T. I., & Mow, V. C. (1991). Interspecies comparisons of in situ intrinsic mechanical properties of distal femoral cartilage. *J Orthop Res*, *9*(3), 330-340. doi: 10.1002/jor.1100090304
- Bae, W. C., Payanal, M. M., Chen, A. C., Hsieh-Bonassera, N. D., Ballard, B. L., Lotz, M. K., . . . Sah, R. L. (2010). Topographic Patterns of Cartilage Lesions in Knee Osteoarthritis. *Cartilage*, *1*(1), 10-19. doi: 10.1177/1947603509354991
- Becher, C., Ricklefs, M., Willbold, E., Hurschler, C., & Abedian, R. (2015). Electromechanical Assessment of Human Knee Articular Cartilage with Compression-Induced Streaming Potentials. *Cartilage*. doi: 10.1177/1947603515599191
- Bert, J. M., & Leverone, J. (2007). Histologic appearance of "pristine" articular cartilage in knees with unicompartmental osteoarthritis. *J Knee Surg*, *20*(1), 15-19.
- Brinkhof, S., Nizak, R., Sim, S., Khlebnikov, V., Klomp, D. W. J., & Saris, D. B. F. (2017). Correlation of 7T gagCEST MRI with Electromechanical Properties of Femoral Articular Cartilage Abstract. *Proceedings of the Annual Meeting International Society for Magnetic Resonance in Medecine*, 808.
- Buschmann, M. D., & Grodzinsky, A. J. (1995). A molecular model of proteoglycan-associated electrostatic forces in cartilage mechanics. *J Biomech Eng*, *117*(2), 179-192.
- Changoor, A., Coutu, J. P., Garon, M., Quenneville, E., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2011). Streaming potential-based arthroscopic device is sensitive to cartilage changes immediately post-impact in an equine cartilage injury model. *J Biomech Eng*, *133*(6), 061005. doi: 10.1115/1.4004230

- Changoor, A., Fereydoonzad, L., Yaroshinsky, A., & Buschmann, M. D. (2010). Effects of refrigeration and freezing on the electromechanical and biomechanical properties of articular cartilage. *J Biomech Eng*, *132*(6), 064502. doi: 10.1115/1.4000991
- Froimson, M. I., Ratcliffe, A., Gardner, T. R., & Mow, V. C. (1997). Differences in patellofemoral joint cartilage material properties and their significance to the etiology of cartilage surface fibrillation. *Osteoarthritis Cartilage*, *5*(6), 377-386.
- Garon, M., Legare, A., Guardo, R., Savard, P., & Buschmann, M. D. (2002). Streaming potentials maps are spatially resolved indicators of amplitude, frequency and ionic strength dependant responses of articular cartilage to load. *J Biomech*, *35*(2), 207-216.
- Heidari, B. (2011). Knee osteoarthritis prevalence, risk factors, pathogenesis and features: Part I. *Caspian J Intern Med*, *2*(2), 205-212.
- Kleemann, R. U., Krockner, D., Cedraro, A., Tuischer, J., & Duda, G. N. (2005). Altered cartilage mechanics and histology in knee osteoarthritis: relation to clinical assessment (ICRS Grade). *Osteoarthritis Cartilage*, *13*(11), 958-963. doi: 10.1016/j.joca.2005.06.008
- Knecht, S., Vanwanseele, B., & Stussi, E. (2006). A review on the mechanical quality of articular cartilage - implications for the diagnosis of osteoarthritis. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, *21*(10), 999-1012. doi: 10.1016/j.clinbiomech.2006.07.001
- Legare, A., Garon, M., Guardo, R., Savard, P., Poole, A. R., & Buschmann, M. D. (2002). Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J Orthop Res*, *20*(4), 819-826. doi: 10.1016/S0736-0266(02)00002-5
- Mainil-Varlet, P., Aigner, T., Brittberg, M., Bullough, P., Hollander, A., Hunziker, E., . . . International Cartilage Repair, S. (2003). Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am*, *85-A Suppl 2*, 45-57.
- Martin, J. A., & Buckwalter, J. A. (2001). Roles of articular cartilage aging and chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis. *Iowa Orthop J*, *21*, 1-7.
- Moshtagh, P. R., Pouran, B., Korthagen, N. M., Zadpoor, A. A., & Weinans, H. (2016). Guidelines for an optimized indentation protocol for measurement of cartilage stiffness: The effects of spatial variation and indentation parameters. *J Biomech*, *49*(14), 3602-3607. doi: 10.1016/j.jbiomech.2016.09.020

- Nishitani, K., Kobayashi, M., Kuroki, H., Mori, K., Shirai, T., Satake, T., . . . Matsuda, S. (2014). Ultrasound can detect macroscopically undetectable changes in osteoarthritis reflecting the superficial histological and biochemical degeneration: ex vivo study of rabbit and human cartilage. *PLoS One*, *9*(2), e89484. doi: 10.1371/journal.pone.0089484
- Oakley, S. P., & Lassere, M. N. (2003). A critical appraisal of quantitative arthroscopy as an outcome measure in osteoarthritis of the knee. *Semin Arthritis Rheum*, *33*(2), 83-105.
- Peters, A. E., Comerford, E. J., Macaulay, S., Bates, K. T., & Akhtar, R. (2017). Micromechanical properties of canine femoral articular cartilage following multiple freeze-thaw cycles. *J Mech Behav Biomed Mater*, *71*, 114-121. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.03.006
- Quenneville, E., Garon, M., Legare, A., Shive, M., & Buschmann, M. D. (2007). Mapping Articular Cartilage Function using a Streaming Potential-based Arthroscopic Device. *Transactions of the 2007 Segal North American Osteoarthritis Workshop*.
- Schagemann, J. C., Rudert, N., Taylor, M. E., Sim, S., Quenneville, E., Garon, M., . . . Mittelstaedt, H. (2016). Bilayer Implants: Electromechanical Assessment of Regenerated Articular Cartilage in a Sheep Model. *Cartilage*, *7*(4), 346-360. doi: 10.1177/1947603515623992
- Sim, S., Chevrier, A., Garon, M., Quenneville, E., Lavigne, P., Yaroshinsky, A., . . . Buschmann, M. D. (2016). Electromechanical probe and automated indentation maps are sensitive techniques in assessing early degenerated human articular cartilage. *J Orthop Res*. doi: 10.1002/jor.23330
- Sim, S., Chevrier, A., Garon, M., Quenneville, E., Yaroshinsky, A., Hoemann, C. D., & Buschmann, M. D. (2014). Non-destructive electromechanical assessment (Arthro-BST) of human articular cartilage correlates with histological scores and biomechanical properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, *22*(11), 1926-1935.
- Spahn, G., Klinger, H. M., Baums, M., Pinkepank, U., & Hofmann, G. O. (2011). Reliability in arthroscopic grading of cartilage lesions: results of a prospective blinded study for evaluation of inter-observer reliability. *Arch Orthop Trauma Surg*, *131*(3), 377-381. doi: 10.1007/s00402-011-1259-8
- Tetteh, E. S., Bajaj, S., & Ghodadra, N. S. (2012). Basic science and surgical treatment options for articular cartilage injuries of the knee. *J Orthop Sports Phys Ther*, *42*(3), 243-253. doi: 10.2519/jospt.2012.3673

Thambyah, A., Nather, A., & Goh, J. (2006). Mechanical properties of articular cartilage covered by the meniscus. *Osteoarthritis Cartilage*, *14*(6), 580-588. doi: 10.1016/j.joca.2006.01.015

CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE

Les trois études présentées aux chapitres précédents répondent aux objectifs de recherche de cette thèse, soit d'investiguer la performance et la sensibilité d'une sonde électromécanique afin de développer un algorithme de diagnostic de la dégénération du cartilage humain. Cette discussion récapitule les points clés présentés dans chaque article scientifique, en y ajoutant un complément à ces points.

7.1 Paramètre quantitatif électromécanique

Plusieurs études antérieures ont démontré que les potentiels d'écoulement sont des indicateurs sensibles de l'intégrité du cartilage et de sa composition dans des modèles animaux (Changoor et al., 2011; Frank et al., 1987; Garon et al., 2002; Legare et al., 2002). Or, afin de rendre la sonde arthroscopique utilisable en clinique, il est important d'étudier les propriétés électromécaniques du cartilage humain. Telle que mentionnée par la revue littéraire, l'analyse des potentiels d'écoulement a été modifiée, il y a environ cinq ans. Auparavant, le résultat de l'analyse de la réponse électromécanique du cartilage était le SPI, soit l'intégrale des potentiels d'écoulement. Maintenant, la sortie de la sonde se nomme le paramètre quantitatif, soit QP, et est calculée comme étant le nombre de microélectrodes en contact avec le cartilage lorsque la somme des potentiels d'écoulement atteint 100 mV. Ce nouveau paramètre est inversement proportionnel à l'ancien paramètre et à la réponse électromécanique du cartilage. En effet, le QP sera élevé avec une faible réponse électromécanique du cartilage tandis qu'il sera plus bas avec une réponse électromécanique plus forte. Ainsi, une étude approfondie sur le nouveau paramètre QP était essentielle. Le premier article visait donc à introduire ce nouveau paramètre quantitatif électromécanique à la communauté scientifique. De plus, cet article rapportait la première étude *ex vivo* de notre groupe de recherche caractérisant les propriétés électromécaniques du cartilage humain. L'objectif de cette étude était de corréler les propriétés électromécaniques avec les propriétés conventionnelles (histologique, biochimique et mécanique). Les résultats de cette recherche ont permis d'identifier les points clés suivants:

- ✓ Le QP corrèle fortement avec les propriétés mécaniques et histologiques du cartilage humain;
- ✓ L'évaluation non destructive et quantitative offerte par la sonde électromécanique, à travers le nouveau paramètre QP, est sensible à l'intégrité et à la structure du réseau de collagène du cartilage;
- ✓ La cartographie haute résolution complète d'une surface articulaire, soit le fémur distal, prend environ 30 minutes à obtenir.

Les points clés de cette étude démontrent que la sonde électromécanique offre une évaluation fidèle de la qualité du cartilage articulaire et pourrait être utile en clinique, du fait de sa rapidité de mesure et sa nature non destructive et objective. Puisque c'était le premier article, de notre groupe de recherche, rapportant les propriétés électromécaniques du cartilage humain, il aurait été intéressant de comparer l'ancien paramètre de la sonde au nouveau paramètre. Deux études ont été publiées rapportant l'ancien paramètre du cartilage humain par un groupe de recherche allemand (Abedian et al., 2013; Becher et al., 2015). Ces deux études ont également corrélé les propriétés électromécaniques représentées par le SPI au score histologique Mankin ($r=-0.409$, $p<0.059$) et aux propriétés mécaniques, telles que le module poroélastique ($r=0.563$, $p<0.008$) et le logarithme naturel de la perméabilité ($r=-0.374$, $p<0.095$). Alors que dans le premier article, où les propriétés électromécaniques du cartilage sont représentées par le QP, des corrélations plus fortes sont observées avec le score histologique Mankin ($r=0.73$, $p<0.0001$), le module des fibrilles ($r=-0.76$, $p<0.0001$), le module de la matrice ($r=-0.69$, $p<0.0001$) et le logarithme naturel de la perméabilité ($r=0.72$, $p<0.0001$). En comparant les résultats obtenus des deux paramètres de la sonde électromécanique, il semble que le nouveau paramètre, QP, offre un meilleur agrément entre les propriétés électromécaniques et les techniques d'évaluation du cartilage, soit l'histologie et la mécanique.

Une étude a été faite en collaboration avec ce groupe de recherche allemand, afin de comparer directement l'ancien et le nouveau paramètre de la sonde. Cette étude a été présentée dans le cadre de la conférence annuelle de l'*International Cartilage Repair Society* (Sim et al., 2016). Un genou humain cadavérique a été utilisé afin d'obtenir des caractérisations électromécaniques et

histologiques du cartilage selon deux types de configuration : *in vitro* et en arthroscopie simulée. Pour ce faire, un chirurgien a ouvert l'articulation afin de définir 12 points de mesure à l'aide d'un marqueur permanent et a refermé l'articulation grâce à des points de suture. Le genou cadavérique a ensuite été placé à 90° de flexion dans un étau, pour effectuer des mesures électromécaniques avec la sonde en arthroscopie simulée. Finalement, le fémur distal a été extrait de l'articulation pour effectuer des mesures électromécaniques *in vitro*. Dans cette étude, les données brutes de potentiels d'écoulement ont été analysées avec l'ancien et le nouvel algorithme afin d'extraire le SPI et le QP respectivement. Comme prévu, une forte corrélation entre le QP et le score histologique de Mankin a été trouvée ($r=0.84$, $p=0.0007$) alors qu'une faible et non significative corrélation entre le SPI et le score histologique a été notée ($r=-0.54$, $p=0.07$). Cette étude a également démontré que la nouvelle analyse des potentiels d'écoulements est toujours indépendante de l'utilisateur, tout comme l'ancienne analyse, mais elle est plus robuste et fiable (ICC de 0.85 a été obtenu pour le QP et un ICC de 0.87 a été obtenu pour le SPI). De plus, en comparant les mesures obtenues dans les deux types de configuration, une grande concordance entre les mesures QP (ICC de 0.89) a été obtenue, comparativement à une faible concordance pour les mesures SPI (ICC de 0.64). L'ancienne analyse des potentiels d'écoulement se fonde sur une aire de contact, alors que le nouvel algorithme se fonde sur l'intégrale des potentiels d'écoulement pour déterminer cette aire de contact. Le nouveau paramètre QP est donc inversement proportionnel à l'ancien paramètre SPI, mais il offre de meilleures corrélations avec les techniques conventionnelles de caractérisation du cartilage, tel que le score histologique Mankin. Ainsi, ces résultats démontrent clairement que les valeurs QP sont plus robustes et plus fiables que le SPI dans les deux types de configurations.

7.2 Sensibilité de la sonde électromécanique

Conséquemment aux résultats prometteurs du premier article, le second article a rapporté la sensibilité de la sonde électromécanique à distinguer la dégénération précoce du cartilage humain.

Les points clés du second article ont été:

- ✓ Les propriétés électromécaniques et mécaniques, sont les plus robustes à détecter du cartilage précocement altéré, comparativement aux autres techniques conventionnelles;
- ✓ Les cartographies électromécaniques et mécaniques, sont conformes à l'évaluation macroscopique des lésions cartilagineuses et révèlent une région plus étendue de dégradation qui n'est pas détectée visuellement;
- ✓ La sonde électromécanique et la nouvelle technique d'indentation automatisée, révèlent une similarité de la distribution de leurs propriétés entre le genou gauche et droit d'un même donneur.

Les points clés de cette étude démontrent que la sonde électromécanique possède un grand potentiel d'application clinique pour l'évaluation de la dégénération précoce du cartilage humain. La conception de la sonde électromécanique a été optimisée pour une utilisation en arthroscopie. En effet, les dimensions de l'embout possédant les microélectrodes permettent une insertion à travers un point d'entrée chirurgical. De plus, les mesures électromécaniques sont obtenues à partir d'une compression légère et non destructive du cartilage articulaire. La caractéristique la plus importante pour son utilisation en clinique est sa rapidité d'obtention et d'analyse des résultats. Cela prend un maximum de cinq secondes afin d'obtenir et d'afficher une mesure électromécanique.

Le second article s'est fondé sur une évaluation macroscopique du cartilage afin de définir les trois régions sur lesquelles les analyses de sensibilité ont été effectuées. L'évaluation macroscopique se fondait grossièrement sur le score ICRS, c'est-à-dire que, les fibrillations et les fissures étaient tous considérées comme des régions lésionnelles. Cependant, si cette évaluation macroscopique était rigoureusement fondée sur le score ICRS, soit en définissant la sévérité de la lésion par les grades 1 à 4, peut-être que l'on aurait pu découvrir un impact de la sévérité de la lésion sur l'étendue de

la zone précocement dégénérée. Ainsi, cette information pourrait être utile dans la compréhension des patrons d'usure du cartilage.

À travers la troisième hypothèse concernant la similarité des patrons de dégénération provenant d'un même donneur, une analyse additionnelle aurait été intéressante pour la communauté scientifique. En effet, l'atout majeur de la sonde électromécanique est d'offrir une caractérisation cartographique d'une surface articulaire et permettre une meilleure compréhension de l'évolution des patrons lésionnels à travers la maladie. Un groupe de recherche de San Diego a publié une étude démontrant des patrons lésionnels sur le fémur distal (Bae et al., 2010). Ils ont trouvé trois patrons distincts de dégénération, soit au niveau du condyle médial antérieur, du condyle latéral postérieur et de la trochlée accompagnée de petites lésions dans le condyle médial antérieur. Des plateaux tibiaux ont été analysés dans le second article et il aurait été intéressant d'investiguer les patrons de dégénération dans le plateau tibial. Donc, définir des modèles et des voies de la dégénération du cartilage peut être utile dans la stratification des patients pour des traitements spécifiques et appropriés à l'arthrose.

7.3 Outil de diagnostic

Afin de prôner une utilisation diagnostique, il fallait développer une base de données électromécanique sur des articulations saines, qui tiendrait compte différents paramètres spécifiques du patient et de la localisation de mesure. C'est à travers le premier article que l'on a découvert que la distribution du QP était assez uniforme à travers la surface d'un fémur distal sain et qu'elle ne varie pas beaucoup avec l'âge et le sexe. Avec le deuxième article, on a observé que cette variation du QP était bien moindre que la variation observée dans les régions dégénérées. Cela nous indique que seul un nombre limité d'articulations cadavériques, considérées comme normales, seraient nécessaires pour créer une base de données de valeurs normales et statistiquement valides. Cela nous indique également que l'effet de la localisation de la mesure sur l'articulation est inférieur que prévu, comparativement aux observations chez les modèles animaux où le cartilage est plus mince. Ainsi, la sonde arthroscopique pourra couvrir tout le spectre de dégénérescence, soit de la dégénération précoce aux stades les plus avancés. Une fois les

distributions normales connues, il sera possible d'associer le paramètre quantitatif mesuré à la valeur normale attendue à cette position. La rédaction du troisième article s'est posée sur le développement d'un système de classification électromécanique de la santé du cartilage articulaire. Les points clés du troisième article sont:

- ✓ Le QP augmente à mesure que le cartilage dégénère jusqu'à atteindre une phase d'amincissement où le QP commencera à diminuer jusqu'à atteindre 0 avec une perte totale du cartilage.
- ✓ Les propriétés électromécaniques du cartilage sain et à l'intérieur d'un même grade de dégénération ne varient pas en fonction de l'âge, du sexe, de l'indice de masse corporelle ou du statut fumeur du patient. Par contre, les propriétés électromécaniques varient topographiquement à travers une surface articulaire.
- ✓ Le système de classification électromécanique est plus fiable que le système de classification macroscopique ICRS.

Dans le troisième article, la base de données électromécanique de référence du cartilage sain du genou humain contient 75 surfaces articulaires, soit 8 190 points de mesures. Il serait intéressant de bonifier cette base de données au fur et à mesure que les données électromécaniques passent les critères d'inclusion. Éventuellement, tous les cliniciens pourraient contribuer à ajouter des mesures électromécaniques de cartilage sain dans cette base de données. Les dimensions de la sonde électromécanique la rendent appropriée pour d'autres grandes articulations, telles que l'épaule ou la hanche. De ce fait, une banque de données de propriétés électromécaniques de ces deux articulations pourrait s'avérer utile, car elles sont sujettes à une dégénération du cartilage. De plus, un groupe de recherche suisse travaille actuellement sur les propriétés électromécaniques en fonction de la dégénération du cartilage de la hanche (Wiewiorski et al., 2015).

Le dernier article démontre que les caractéristiques spécifiques du patient n'ont pas d'effet sur les propriétés électromécaniques de cartilage sain et à l'intérieur d'un même grade de dégénération. Or, les seules caractéristiques disponibles lors de l'étude étaient l'âge, le sexe, l'indice de masse corporelle et le statut de fumeur. Bien que ces trois premières caractéristiques soient connues comme étant des facteurs de l'arthrose (Cross et al., 2014; Heidari, 2011; Litwic et al., 2013), il

aurait été intéressant de pouvoir vérifier l'impact d'autres caractéristiques. Par exemple, une étude a démontré que la prévalence de l'arthrose variait selon le groupe ethnique, l'occupation et le niveau d'activité du patient (Plotnikoff et al., 2015; Wright et al., 2008). Il a également été démontré à travers le troisième article que les propriétés électromécaniques varient selon la localisation de la mesure. En effet, la force du nouveau système de classification électromécanique est qu'il tient compte de la distribution des valeurs normales grâce à la base de données développée. Plusieurs études ne tiennent pas compte de cette grande variation des propriétés mécaniques (comparable à la variation des propriétés électromécaniques) du cartilage, où la large gamme de propriétés possibles pour du cartilage sain se chevauche avec les propriétés du cartilage dégénéré. Le plus critique dans le diagnostic exact du cartilage est de tenir compte de la localisation de la mesure. Un résultat surprenant a été découvert à travers le présent article, soit l'existence de deux distributions distinctes (faibles et hautes valeurs QP) des propriétés électromécaniques du cartilage à l'intérieur du grade ICRS 3. Les faibles valeurs QP étaient du même ordre que les valeurs QP d'un cartilage sain. Ce grade de dégénération sévère, soit le grade ICRS 3, possède quatre sous-grades : 3A, 3B, 3C et 3D. Malheureusement, le protocole expérimental ne mentionnait pas l'utilisation des sous-grades par l'orthopédiste lors de l'évaluation macroscopique des surfaces articulaires. Il nous est impossible à ce stade, de relier chacune des distributions des propriétés électromécaniques avec les sous-grades du grade ICRS 3. Malgré cela, nous sommes les premiers à développer un aspect diagnostic avec une technologie quantitative, qui permet l'évaluation du cartilage articulaire. De plus, nous avons fait en sorte que ce nouveau système de classification électromécanique soit analogue à un système de classification très utilisé parmi les chirurgiens, pour faciliter l'apprentissage et l'utilisation de ce nouvel outil.

7.4 Applications possibles

La sonde électromécanique est indépendante de l'utilisateur, de la vitesse, de l'orientation et de la force de compression, ce qui fait de cette technologie un excellent candidat pour de nombreuses applications cliniques et de recherches. Les études sur lesquelles les explants sont maintenus dans des conditions de culture peuvent bénéficier de l'utilisation de la sonde électromécanique, car la nature non destructive de l'appareil permettrait une surveillance séquentielle de modifications du cartilage au fil du temps. En clinique, la mesure des propriétés électromécaniques pourrait

contribuer à la planification des procédures de réparation en fournissant un moyen objectif pour classer les lésions du cartilage et déterminer ainsi la quantité de cartilage endommagé qui devrait être réséqué. En outre, des régions éloignées du site principal des défauts pourront être évaluées avec la sonde afin de déterminer si une dégradation mineure se produit, ce qui peut être particulièrement difficile à distinguer en utilisant un palpeur mécanique. Il est attendu que des régions présentant des changements dégénératifs précoces soient asymptomatiques et ne soient pas candidates à une intervention chirurgicale, mais elles pourraient éventuellement progresser vers des lésions arthrosiques. L'identification de ces régions peut représenter une opportunité d'intervention thérapeutique précoce pour prévenir ou ralentir la progression de l'arthrose (Lotz & Kraus, 2010). Une autre application possible de la sonde serait pour les banques de tissus, où le système de classification électromécanique permettrait de déterminer la conformité des tissus de transplantation. Entre autres, un groupe de recherche de la Lituanie a publié une étude sur la fiabilité de la sonde électromécanique pour évaluer la qualité des allogreffes (Mickevicius et al., 2015).

CHAPITRE 8 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'objectif principal de cette thèse consistait à transformer la sonde arthroscopique électromécanique en un outil précis de diagnostic de la dégénération du cartilage articulaire. Pour ce faire, les aspects les plus importants étaient de construire une base de données de référence des propriétés électromécaniques du cartilage sain chez le genou humain et de concevoir des modèles statistiques pour la caractérisation du cartilage articulaire. Le plan expérimental a combiné plusieurs séries de surfaces articulaires provenant de genoux humains et plusieurs techniques de caractérisation du cartilage, afin de répondre aux trois objectifs spécifiques fixés dans le cadre de ce projet.

Une première étude expérimentale a permis d'investiguer la corrélation des propriétés électromécaniques du cartilage humain, définies par le QP, avec les propriétés du cartilage obtenues par des techniques conventionnelles, telles que l'histologie, la biochimie et les tests mécaniques. Des modèles statistiques de régressions simples et multiples ont été effectués auprès de toutes les propriétés recueillies sur des échantillons de fémurs distaux humains, provenant de donneurs cadavériques. Les résultats de cette étude ont démontré que le QP corrèle fortement avec les propriétés mécaniques et histologiques du cartilage humain, mais corrèle faiblement avec les propriétés biochimiques, telles que le contenu en eau et en glycosaminoglycanes. De plus, des régressions multiples ont permis de révéler que parmi les propriétés histologiques recueillies, le score Mankin était celle qui expliquait le mieux des propriétés électromécaniques, comparativement au score PLM. En effet, le score Mankin tient compte de plusieurs aspects du cartilage, non seulement l'intégrité de sa matrice extracellulaire, mais également son contenu en protéoglycanes et l'intégrité de sa surface. Par ailleurs, la régression multiple du QP en fonction des propriétés mécaniques a révélé que le module des fibrilles de collagène avait un effet prédominant comparativement à l'effet du module de la matrice et de la perméabilité hydraulique. En effet, la mesure électromécanique consiste en une indentation quasi instantanée, et plusieurs études ont démontré que la réponse instantanée en compression du cartilage est gouvernée par l'intégrité du réseau de collagène. De plus, la cartographie haute résolution complète d'un fémur distal dure environ 30 minutes, ce qui est très rapide pour une technologie d'évaluation de la qualité

du cartilage. Les résultats de cette étude ont permis de confirmer que les propriétés électromécaniques sont sensibles à l'intégrité et à la structure du réseau de collagène du cartilage.

En second lieu, une étude expérimentale a été effectuée afin d'examiner la sensibilité de la sonde arthroscopique à distinguer un cartilage dégénéré d'un cartilage sain. Le protocole comptait deux types de surfaces articulaires, soit le fémur distal et le plateau tibial, provenant de genoux cadavériques. Une évaluation macroscopique a permis de regrouper les mesures selon trois régions : la région I était macroscopiquement dégénérée, la région II était macroscopiquement normale, mais adjacente à la région I et la région III était le reste de la surface macroscopiquement normale. Les analyses de sensibilité ont révélé que la sonde électromécanique et la technique d'indentation automatisée étaient les plus robustes à détecter du cartilage précocement altéré, comparativement aux techniques d'histologie, de biochimie et de compression non confinée. De plus, les cartographies électromécaniques et mécaniques permettent de détecter une région plus étendue de dégradation, qui n'est pas détectée visuellement. Par ailleurs, la sonde électromécanique et la nouvelle technique d'indentation automatisée révèlent une similarité de la distribution de leurs propriétés entre le genou gauche et droit d'un même donneur. Ces deux études expérimentales ont révélé le potentiel diagnostique de cette sonde arthroscopique et ont motivé son développement en un outil de diagnostic quantitatif pour le cartilage articulaire.

Le dernier objectif de cette thèse consistait à développer une base de données électromécanique qui tiendrait compte de différents paramètres spécifiques du patient et de la localisation de mesure. À travers le troisième article, un nouveau système de classification électromécanique a été conçu. Ce système est analogue à un système de classification très connu et très utilisé par les orthopédistes, soit le score ICRS. Notre nouveau système de classification possède les avantages d'être objectif et quantitatif. De plus, un algorithme de diagnostic calculant le nouveau score électromécanique a été développé et implémenté dans la sonde arthroscopique. En fait, la vérification de ce nouveau système de classification électromécanique a été effectuée sur un sous-ensemble des surfaces articulaires disponibles. Cette vérification a démontré que le score électromécanique est plus fiable que le score ICRS, car il offre une évaluation plus précise et objective. Par contre, un phénomène intéressant a été découvert, soit qu'à travers le grade ICRS 3,

il existe deux distributions distinctes des propriétés électromécaniques (faibles et hautes valeurs QP). Les faibles valeurs QP d'un cartilage très dégénéré sont du même ordre que ceux d'un cartilage sain. Dans ces cas de doute, une rétroaction de l'utilisateur sur l'apparence du cartilage est nécessaire pour offrir une classification juste. Un logiciel a également été conçu dans le cadre de cette thèse afin de pouvoir diagnostiquer la dégénération du cartilage en temps réel, en utilisant le nouveau système de classification électromécanique. Ce logiciel permettrait d'effectuer des études de validation *ex vivo* en premier lieu et en clinique en deuxième lieu.

Ces travaux sont les premiers à avoir examiné la justesse et la sensibilité du nouveau paramètre électromécanique, le QP, sur des surfaces articulaires du genou humain. Parmi toutes les techniques développées pour parvenir à offrir un outil quantitatif d'évaluation du cartilage articulaire, la sonde arthroscopique est la seule qui offre une mesure directe reflétant ses propriétés fonctionnelles et structurelles. Non seulement elle est indépendante de l'utilisateur, de l'orientation, de la force et de la vitesse appliquées lors de la compression du cartilage, elle fournit une donnée en moins de cinq secondes pour chaque mesure. De plus, nous sommes les premiers à offrir à un tel outil de mesure, une fonctionnalité diagnostique analogue à ce qui est déjà reconnu par les chirurgiens. À la lumière des résultats obtenus, la sonde arthroscopique pourrait être utile dans de nombreux domaines, tels que le diagnostic clinique pour aider la prise de décision et à la surveillance, la recherche pour des études sur la réparation du cartilage ou des études sur des modèles d'usage, mais également le contrôle qualité, où les surfaces articulaires ou allogreffes destinées à la transplantation seraient évaluées électromécaniquement pour assurer leur conformité.

D'autres travaux dans cette même veine de recherche permettront de mieux comprendre les deux distributions distinctes des propriétés électromécaniques à l'intérieur du grade ICRS 3, soit des lésions sévères du cartilage et surtout de raffiner/automatiser l'algorithme diagnostique. Le raffinement et l'automatisation de l'algorithme diagnostique sont en cours à travers un projet complémentaire mené par une étudiante au doctorat de notre groupe de recherche. Des travaux futurs sont nécessaires à la validation complète du système de classification électromécanique sur des échantillons frais et en présence d'un orthopédiste pendant la prise de mesure. À ce moment, le protocole expérimental devra faire part de l'utilisation des sous-grades ICRS lors de l'évaluation

macroscopique par le chirurgien. Avec des résultats prometteurs, des études pourraient même être effectuées sur d'autres articulations proéminentes du corps humain qui sont sujettes à l'arthrose, soit l'épaule ou la hanche. Ces points à élucider permettraient d'améliorer et de valider le caractère diagnostique de la sonde arthroscopique, en ayant comme but ultime de rendre cette technologie enfin utilisable en clinique et reconnue comme méthode de choix dans l'évaluation quantitative du cartilage articulaire.

BIBLIOGRAPHIE

- Abedian, R., Willbold, E., Becher, C., & Hurschler, C. (2013). In vitro electro-mechanical characterization of human knee articular cartilage of different degeneration levels: a comparison with ICRS and Mankin scores. *J Biomech*, *46*(7), 1328-1334. doi: 10.1016/j.jbiomech.2013.02.004
- Afara, I. O., Prasadam, I., Moody, H., Crawford, R., Xiao, Y., & Oloyede, A. (2014). Near infrared spectroscopy for rapid determination of Mankin score components: a potential tool for quantitative characterization of articular cartilage at surgery. *Arthroscopy*, *30*(9), 1146-1155. doi: 10.1016/j.arthro.2014.04.097
- Aisen, A. M., McCune, W. J., MacGuire, A., Carson, P. L., Silver, T. M., Jafri, S. Z., & Martel, W. (1984). Sonographic evaluation of the cartilage of the knee. *Radiology*, *153*(3), 781-784. doi: 10.1148/radiology.153.3.6387794
- Akella, S. V., Regatte, R. R., Gougoutas, A. J., Borthakur, A., Shapiro, E. M., Kneeland, J. B., . . . Reddy, R. (2001). Proteoglycan-induced changes in T1rho-relaxation of articular cartilage at 4T. *Magn Reson Med*, *46*(3), 419-423.
- Arokoski, J. P., Jurvelin, J. S., Vaatainen, U., & Helminen, H. J. (2000). Normal and pathological adaptations of articular cartilage to joint loading. *Scand J Med Sci Sports*, *10*(4), 186-198.
- Aydelotte, M. B., & Kuettner, K. E. (1988). Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. I. Morphology and cartilage matrix production. *Connect Tissue Res*, *18*(3), 205-222.
- Bae, W. C., Payanal, M. M., Chen, A. C., Hsieh-Bonassera, N. D., Ballard, B. L., Lotz, M. K., . . . Sah, R. L. (2010). Topographic Patterns of Cartilage Lesions in Knee Osteoarthritis. *Cartilage*, *1*(1), 10-19. doi: 10.1177/1947603509354991
- Bashir, A., Gray, M. L., & Burstein, D. (1996). Gd-DTPA²⁻ as a measure of cartilage degradation. *Magn Reson Med*, *36*(5), 665-673.
- Becher, C., Ricklefs, M., Willbold, E., Hurschler, C., & Abedian, R. (2015). Electromechanical Assessment of Human Knee Articular Cartilage with Compression-Induced Streaming Potentials. *Cartilage*. doi: 10.1177/1947603515599191
- Blumenkrantz, G., & Majumdar, S. (2007). Quantitative magnetic resonance imaging of articular cartilage in osteoarthritis. *Eur Cell Mater*, *13*, 76-86.

- Bonassar, L. J., Jeffries, K. A., Paguio, C. G., & Grodzinsky, A. J. (1995). Cartilage degradation and associated changes in biochemical and electromechanical properties. *Acta Orthop Scand Suppl*, 266, 38-44.
- Brama, P. A., Barneveld, A., Karssenbergh, D., Van Kampen, G. P., & Van Weeren, P. R. (2001). The application of an indenter system to measure structural properties of articular cartilage in the horse. Suitability of the instrument and correlation with biochemical data. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 48(4), 213-221.
- Brittberg, M., & Winalski, C. S. (2003). Evaluation of cartilage injuries and repair. *J Bone Joint Surg Am*, 85-A Suppl 2, 58-69.
- Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1998a). Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Instr Course Lect*, 47, 487-504.
- Buckwalter, J. A., & Mankin, H. J. (1998b). Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect*, 47, 477-486.
- Bullough, P. G. (2004). The role of joint architecture in the etiology of arthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 12 Suppl A, S2-9.
- Buschmann, M. D., Gluzband, Y. A., Grodzinsky, A. J., Kimura, J. H., & Hunziker, E. B. (1992). Chondrocytes in agarose culture synthesize a mechanically functional extracellular matrix. *J Orthop Res*, 10(6), 745-758. doi: 10.1002/jor.1100100602
- Buschmann, M. D., & Grodzinsky, A. J. (1995). A molecular model of proteoglycan-associated electrostatic forces in cartilage mechanics. *J Biomech Eng*, 117(2), 179-192.
- Cameron, M. L., Briggs, K. K., & Steadman, J. R. (2003). Reproducibility and reliability of the outerbridge classification for grading chondral lesions of the knee arthroscopically. *Am J Sports Med*, 31(1), 83-86. doi: 10.1177/03635465030310012601
- Changoor, A., Coutu, J. P., Garon, M., Quenneville, E., Hurtig, M. B., & Buschmann, M. D. (2011). Streaming potential-based arthroscopic device is sensitive to cartilage changes immediately post-impact in an equine cartilage injury model. *J Biomech Eng*, 133(6), 061005. doi: 10.1115/1.4004230
- Chen, A. C., Nguyen, T. T., & Sah, R. L. (1997). Streaming potentials during the confined compression creep test of normal and proteoglycan-depleted cartilage. *Ann Biomed Eng*, 25(2), 269-277.

- Chu, C. R., Williams, A., Tolliver, D., Kwok, C. K., Bruno, S., 3rd, & Irrgang, J. J. (2010). Clinical optical coherence tomography of early articular cartilage degeneration in patients with degenerative meniscal tears. *Arthritis Rheum*, 62(5), 1412-1420. doi: 10.1002/art.27378
- Cross, M., Smith, E., Hoy, D., Nolte, S., Ackerman, I., Fransen, M., . . . March, L. (2014). The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis*, 73(7), 1323-1330. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204763
- Frank, E. H., & Grodzinsky, A. J. (1987). Cartilage electromechanics--II. A continuum model of cartilage electrokinetics and correlation with experiments. *J Biomech*, 20(6), 629-639.
- Frank, E. H., Grodzinsky, A. J., Koob, T. J., & Eyre, D. R. (1987). Streaming potentials: a sensitive index of enzymatic degradation in articular cartilage. *J Orthop Res*, 5(4), 497-508. doi: 10.1002/jor.1100050405
- Garon, M. (2007). *Conception et validation d'une sonde arthroscopique pour l'évaluation des propriétés électromécaniques fonctionnelles du cartilage articulaire*.
- Garon, M., Legare, A., Guardo, R., Savard, P., & Buschmann, M. D. (2002). Streaming potentials maps are spatially resolved indicators of amplitude, frequency and ionic strength dependant responses of articular cartilage to load. *J Biomech*, 35(2), 207-216.
- Gelse, K., Olk, A., Eichhorn, S., Swoboda, B., Schoene, M., & Raum, K. (2010). Quantitative ultrasound biomicroscopy for the analysis of healthy and repair cartilage tissue. *Eur Cell Mater*, 19, 58-71.
- Grassi, W., Lamanna, G., Farina, A., & Cervini, C. (1999). Sonographic imaging of normal and osteoarthritic cartilage. *Semin Arthritis Rheum*, 28(6), 398-403.
- Grodzinsky, A. J., & Frank, E. H. (2011). *Fields, forces, and flows in biological systems*. London: Garland Science.
- Hannan, M. T., Felson, D. T., & Pincus, T. (2000). Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol*, 27(6), 1513-1517.
- Heidari, B. (2011). Knee osteoarthritis prevalence, risk factors, pathogenesis and features: Part I. *Caspian J Intern Med*, 2(2), 205-212.
- Herrmann, J. M., Pitris, C., Bouma, B. E., Boppart, S. A., Jesser, C. A., Stamper, D. L., . . . Brezinski, M. E. (1999). High resolution imaging of normal and osteoarthritic cartilage with optical coherence tomography. *J Rheumatol*, 26(3), 627-635.

- Hollander, A. P., Pidoux, I., Reiner, A., Rorabeck, C., Bourne, R., & Poole, A. R. (1995). Damage to type II collagen in aging and osteoarthritis starts at the articular surface, originates around chondrocytes, and extends into the cartilage with progressive degeneration. *J Clin Invest*, *96*(6), 2859-2869. doi: 10.1172/JCII18357
- Huber, M., Trattng, S., & Lintner, F. (2000). Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage. *Invest Radiol*, *35*(10), 573-580.
- Hunziker, E. B., Quinn, T. M., & Hauselmann, H. J. (2002). Quantitative structural organization of normal adult human articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, *10*(7), 564-572.
- Hwang, W. S., Ngo, K., & Saito, K. (1990). Silver staining of collagen fibrils in cartilage. *Histochem J*, *22*(9), 487-490.
- Iagnocco, A. (2010). Imaging the joint in osteoarthritis: a place for ultrasound? *Best Pract Res Clin Rheumatol*, *24*(1), 27-38. doi: 10.1016/j.berh.2009.08.012
- Inerot, S., Heinegard, D., Audell, L., & Olsson, S. E. (1978). Articular-cartilage proteoglycans in aging and osteoarthritis. *Biochem J*, *169*(1), 143-156.
- Jahr, H., Brill, N., & Nebelung, S. (2015). Detecting early stage osteoarthritis by optical coherence tomography? *Biomarkers*, *20*(8), 590-596. doi: 10.3109/1354750X.2015.1130190
- Jasin, H. E. (1995). Structure and function of the articular cartilage surface. *Scand J Rheumatol Suppl*, *101*, 51-55.
- Kaleva, E., Viren, T., Saarakkala, S., Sahlman, J., Sirola, J., Puhakka, J., . . . Toyras, J. (2011). Arthroscopic Ultrasound Assessment of Articular Cartilage in the Human Knee Joint: A Potential Diagnostic Method. *Cartilage*, *2*(3), 246-253. doi: 10.1177/1947603510391781
- Kellgren, J. H., & Lawrence, J. S. (1957). Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis*, *16*(4), 494-502.
- Kim, Y. J., Bonassar, L. J., & Grodzinsky, A. J. (1995). The role of cartilage streaming potential, fluid flow and pressure in the stimulation of chondrocyte biosynthesis during dynamic compression. *J Biomech*, *28*(9), 1055-1066.
- Kokkonen, H. T., Suomalainen, J. S., Joukainen, A., Kroger, H., Sirola, J., Jurvelin, J. S., . . . Toyras, J. (2014). In vivo diagnostics of human knee cartilage lesions using delayed CBCT arthrography. *J Orthop Res*, *32*(3), 403-412. doi: 10.1002/jor.22521
- Konig, R., & van Kaick, G. (1987). [Nuclear magnetic resonance tomography anatomy of the knee and ankle joints]. *Radiologe*, *27*(2), 52-56.

- Koster, I. M., Oei, E. H., Hensen, J. H., Boks, S. S., Koes, B. W., Vroegindeweij, D., . . . Bierma-Zeinstra, S. M. (2011). Predictive factors for new onset or progression of knee osteoarthritis one year after trauma: MRI follow-up in general practice. *Eur Radiol*, *21*(7), 1509-1516. doi: 10.1007/s00330-011-2089-3
- Lakin, B. A., Grasso, D. J., Shah, S. S., Stewart, R. C., Bansal, P. N., Freedman, J. D., . . . Snyder, B. D. (2013). Cationic agent contrast-enhanced computed tomography imaging of cartilage correlates with the compressive modulus and coefficient of friction. *Osteoarthritis Cartilage*, *21*(1), 60-68. doi: 10.1016/j.joca.2012.09.007
- Lee, R. C., Frank, E. H., Grodzinsky, A. J., & Roylance, D. K. (1981). Oscillatory compressional behavior of articular cartilage and its associated electromechanical properties. *J Biomech Eng*, *103*(4), 280-292.
- Legare, A., Garon, M., Guardo, R., Savard, P., Poole, A. R., & Buschmann, M. D. (2002). Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J Orthop Res*, *20*(4), 819-826. doi: 10.1016/S0736-0266(02)00002-5
- Lehner, K. B., Rechl, H. P., Gmeinwieser, J. K., Heuck, A. F., Lukas, H. P., & Kohl, H. P. (1989). Structure, function, and degeneration of bovine hyaline cartilage: assessment with MR imaging in vitro. *Radiology*, *170*(2), 495-499. doi: 10.1148/radiology.170.2.2911674
- Li, L. P., Herzog, W., Korhonen, R. K., & Jurvelin, J. S. (2005a). The role of viscoelasticity of collagen fibers in articular cartilage: axial tension versus compression. *Med Eng Phys*, *27*(1), 51-57. doi: 10.1016/j.medengphy.2004.08.009
- Li, X., Han, E. T., Ma, C. B., Link, T. M., Newitt, D. C., & Majumdar, S. (2005b). In vivo 3T spiral imaging based multi-slice T(1rho) mapping of knee cartilage in osteoarthritis. *Magn Reson Med*, *54*(4), 929-936. doi: 10.1002/mrm.20609
- Li, X., Martin, S., Pitris, C., Ghanta, R., Stamper, D. L., Harman, M., . . . Brezinski, M. E. (2005c). High-resolution optical coherence tomographic imaging of osteoarthritic cartilage during open knee surgery. *Arthritis Res Ther*, *7*(2), R318-323. doi: 10.1186/ar1491
- Litwic, A., Edwards, M. H., Dennison, E. M., & Cooper, C. (2013). Epidemiology and burden of osteoarthritis. *Br Med Bull*, *105*, 185-199. doi: 10.1093/bmb/lds038
- Liukkonen, J., Lehenkari, P., Hirvasniemi, J., Joukainen, A., Viren, T., Saarakkala, S., . . . Toyras, J. (2014). Ultrasound arthroscopy of human knee cartilage and subchondral bone in vivo. *Ultrasound Med Biol*, *40*(9), 2039-2047. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2014.04.001

- Lotz, M. K., & Kraus, V. B. (2010). New developments in osteoarthritis. Posttraumatic osteoarthritis: pathogenesis and pharmacological treatment options. *Arthritis Res Ther*, *12*(3), 211. doi: 10.1186/ar3046
- Lyyra, T., Jurvelin, J., Pitkanen, P., Vaatainen, U., & Kiviranta, I. (1995). Indentation instrument for the measurement of cartilage stiffness under arthroscopic control. *Med Eng Phys*, *17*(5), 395-399.
- Mainil-Varlet, P., Aigner, T., Brittberg, M., Bullough, P., Hollander, A., Hunziker, E., . . . International Cartilage Repair, S. (2003). Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS). *J Bone Joint Surg Am*, *85-A Suppl 2*, 45-57.
- Malemud, C. J. (1991). Changes in proteoglycans in osteoarthritis: biochemistry, ultrastructure and biosynthetic processing. *J Rheumatol Suppl*, *27*, 60-62.
- Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., & Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, *53*(3), 523-537.
- Marx, R. G., Connor, J., Lyman, S., Amendola, A., Andrish, J. T., Kaeding, C., . . . Multicenter Orthopaedic Outcomes, N. (2005). Multirater agreement of arthroscopic grading of knee articular cartilage. *Am J Sports Med*, *33*(11), 1654-1657. doi: 10.1177/0363546505275129
- Mathur-De Vre, R. (1984). Biomedical implications of the relaxation behaviour of water related to NMR imaging. *Br J Radiol*, *57*(683), 955-976. doi: 10.1259/0007-1285-57-683-955
- McDevitt, C. A., & Muir, H. (1976). Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. *J Bone Joint Surg Br*, *58*(1), 94-101.
- Mickevicius, T., Pockevicius, A., Kucinskas, A., Gudas, R., Maciulaitis, J., Noreikaite, A., & Usas, A. (2015). Impact of storage conditions on electromechanical, histological and histochemical properties of osteochondral allografts. *BMC Musculoskelet Disord*, *16*, 314. doi: 10.1186/s12891-015-0776-y
- Moonen, C. T., van Zijl, P. C., Frank, J. A., Le Bihan, D., & Becker, E. D. (1990). Functional magnetic resonance imaging in medicine and physiology. *Science*, *250*(4977), 53-61.
- Mosher, T. J., & Dardzinski, B. J. (2004). Cartilage MRI T2 relaxation time mapping: overview and applications. *Semin Musculoskelet Radiol*, *8*(4), 355-368. doi: 10.1055/s-2004-861764

- Murray, R. C., Branch, M. V., Tranquille, C., & Woods, S. (2005). Validation of magnetic resonance imaging for measurement of equine articular cartilage and subchondral bone thickness. *Am J Vet Res*, *66*(11), 1999-2005.
- Myers, S. L., Dines, K., Brandt, D. A., Brandt, K. D., & Albrecht, M. E. (1995). Experimental assessment by high frequency ultrasound of articular cartilage thickness and osteoarthritic changes. *J Rheumatol*, *22*(1), 109-116.
- Niederauer, G. G., Niederauer, G. M., Cullen, L. C., Jr., Athanasiou, K. A., Thomas, J. B., & Niederauer, M. Q. (2004). Correlation of cartilage stiffness to thickness and level of degeneration using a handheld indentation probe. *Ann Biomed Eng*, *32*(3), 352-359.
- Oakley, S. P., & Lassere, M. N. (2003). A critical appraisal of quantitative arthroscopy as an outcome measure in osteoarthritis of the knee. *Semin Arthritis Rheum*, *33*(2), 83-105.
- Oei, E. H., van Tiel, J., Robinson, W. H., & Gold, G. E. (2014). Quantitative radiologic imaging techniques for articular cartilage composition: toward early diagnosis and development of disease-modifying therapeutics for osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, *66*(8), 1129-1141. doi: 10.1002/acr.22316
- Oliveria, S. A., Felson, D. T., Reed, J. I., Cirillo, P. A., & Walker, A. M. (1995). Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis Rheum*, *38*(8), 1134-1141.
- Outerbridge, R. E. (1961). The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg Br*, *43-B*, 752-757.
- Palmer, A. W., Guldberg, R. E., & Levenston, M. E. (2006). Analysis of cartilage matrix fixed charge density and three-dimensional morphology via contrast-enhanced microcomputed tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *103*(51), 19255-19260. doi: 10.1073/pnas.0606406103
- Peterfy, C. G., Guermazi, A., Zaim, S., Tirman, P. F., Miaux, Y., White, D., . . . Genant, H. K. (2004). Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, *12*(3), 177-190. doi: 10.1016/j.joca.2003.11.003
- Plotnikoff, R., Karunamuni, N., Lytvyak, E., Penfold, C., Schopflocher, D., Imayama, I., . . . Raine, K. (2015). Osteoarthritis prevalence and modifiable factors: a population study. *BMC Public Health*, *15*, 1195. doi: 10.1186/s12889-015-2529-0

- Podlipska, J., Koski, J. M., Pulkkinen, P., & Saarakkala, S. (2013). In vivo quantitative ultrasound image analysis of femoral subchondral bone in knee osteoarthritis. *ScientificWorldJournal*, 2013, 182562. doi: 10.1155/2013/182562
- Podlipska, J., Koski, J. M., Pulkkinen, P., & Saarakkala, S. (2016). Corrigendum to "In Vivo Quantitative Ultrasound Image Analysis of Femoral Subchondral Bone in Knee Osteoarthritis". *ScientificWorldJournal*, 2016, 5950841. doi: 10.1155/2016/5950841
- Poole, A. R., Kojima, T., Yasuda, T., Mwale, F., Kobayashi, M., & Lavery, S. (2001). Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clin Orthop Relat Res*(391 Suppl), S26-33.
- Pritzker, K. P., Gay, S., Jimenez, S. A., Ostergaard, K., Pelletier, J. P., Revell, P. A., . . . van den Berg, W. B. (2006). Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*, 14(1), 13-29. doi: 10.1016/j.joca.2005.07.014
- Quenneville, E. (2006). *Les distributions de potentiel électrique dans le cartilage articulaire*.
- Ravaud, P., Ayral, X., & Dougados, M. (1999). Radiologic progression of hip and knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 7(2), 222-229. doi: 10.1053/joca.1998.0155
- Regatte, R. R., Akella, S. V., Wheaton, A. J., Lech, G., Borthakur, A., Kneeland, J. B., & Reddy, R. (2004). 3D-T1rho-relaxation mapping of articular cartilage: in vivo assessment of early degenerative changes in symptomatic osteoarthritic subjects. *Acad Radiol*, 11(7), 741-749. doi: 10.1016/j.acra.2004.03.051
- Rogers, J., Watt, I., & Dieppe, P. (1990). Comparison of visual and radiographic detection of bony changes at the knee joint. *BMJ*, 300(6721), 367-368.
- Saarakkala, S., Julkunen, P., Kiviranta, P., Makitalo, J., Jurvelin, J. S., & Korhonen, R. K. (2010). Depth-wise progression of osteoarthritis in human articular cartilage: investigation of composition, structure and biomechanics. *Osteoarthritis Cartilage*, 18(1), 73-81. doi: 10.1016/j.joca.2009.08.003
- Saarakkala, S., Laasanen, M. S., Jurvelin, J. S., & Toyras, J. (2006). Quantitative ultrasound imaging detects degenerative changes in articular cartilage surface and subchondral bone. *Phys Med Biol*, 51(20), 5333-5346. doi: 10.1088/0031-9155/51/20/017
- Saarakkala, S., Waris, P., Waris, V., Tarkiainen, I., Karvanen, E., Aarnio, J., & Koski, J. M. (2012). Diagnostic performance of knee ultrasonography for detecting degenerative changes of

- articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 20(5), 376-381. doi: 10.1016/j.joca.2012.01.016
- Silvast, T. S., Kokkonen, H. T., Jurvelin, J. S., Quinn, T. M., Nieminen, M. T., & Toyras, J. (2009). Diffusion and near-equilibrium distribution of MRI and CT contrast agents in articular cartilage. *Phys Med Biol*, 54(22), 6823-6836. doi: 10.1088/0031-9155/54/22/005
- Sim, S., Becher, C., Garon, M., Quenneville, E., Hurschler, C., & Buschmann, M. D. (2016). Comparison Between In Vitro and Simulated Arthroscopy Electromechanical Measurements of Human Articular Surfaces Using the Arthro-BST. *Trans International Cartilage Repair Society*, P132.
- Spahn, G., Felmet, G., Baumgarten, G., Plettenberg, H., Hoffmann, M., Klinger, H. M., & Hofmann, G. O. (2013). [Evaluation of cartilage degeneration by near infrared spectroscopy (NIRS): methodical description and systematic literature review]. *Z Orthop Unfall*, 151(1), 31-37. doi: 10.1055/s-0032-1327873
- Spahn, G., Klinger, H. M., Baums, M., Hoffmann, M., Plettenberg, H., Kroker, A., & Hofmann, G. O. (2010). Near-infrared spectroscopy for arthroscopic evaluation of cartilage lesions: results of a blinded, prospective, interobserver study. *Am J Sports Med*, 38(12), 2516-2521. doi: 10.1177/0363546510376744
- Spahn, G., Klinger, H. M., Baums, M., Pinkepank, U., & Hofmann, G. O. (2011). Reliability in arthroscopic grading of cartilage lesions: results of a prospective blinded study for evaluation of inter-observer reliability. *Arch Orthop Trauma Surg*, 131(3), 377-381. doi: 10.1007/s00402-011-1259-8
- Spahn, G., Klinger, H. M., & Hofmann, G. O. (2009). How valid is the arthroscopic diagnosis of cartilage lesions? Results of an opinion survey among highly experienced arthroscopic surgeons. *Arch Orthop Trauma Surg*, 129(8), 1117-1121. doi: 10.1007/s00402-009-0868-y
- Sun, A., Bai, X., & Ju, B. F. (2015). A new method for evaluating the degeneration of articular cartilage using pulse-echo ultrasound. *Rev Sci Instrum*, 86(3), 034301. doi: 10.1063/1.4914044
- Teichtahl, A. J., Wluka, A. E., Davies-Tuck, M. L., & Cicuttini, F. M. (2008). Imaging of knee osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 22(6), 1061-1074. doi: 10.1016/j.berh.2008.09.004

- Viren, T., Saarakkala, S., Kaleva, E., Nieminen, H. J., Jurvelin, J. S., & Toyras, J. (2009). Minimally invasive ultrasound method for intra-articular diagnostics of cartilage degeneration. *Ultrasound Med Biol*, 35(9), 1546-1554. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2009.04.004
- Wheaton, A. J., Dodge, G. R., Elliott, D. M., Nicoll, S. B., & Reddy, R. (2005). Quantification of cartilage biomechanical and biochemical properties via T1rho magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med*, 54(5), 1087-1093. doi: 10.1002/mrm.20678
- Wiewiorski, M., Werner, L., Hügle, T., Geurts, J., Bianco, D., Barg, A., & Valderrabano, V. (2015). Electro-Mechanical Characterization of Femoral Articular Cartilage Abstract. *Trans International Cartilage Repair Society*, P124.
- Wright, N. C., Riggs, G. K., Lisse, J. R., Chen, Z., & Women's Health, I. (2008). Self-reported osteoarthritis, ethnicity, body mass index, and other associated risk factors in postmenopausal women-results from the Women's Health Initiative. *J Am Geriatr Soc*, 56(9), 1736-1743. doi: 10.1111/j.1532-5415.2008.01812.x
- Xie, T., Guo, S., Zhang, J., Chen, Z., & Peavy, G. M. (2006). Determination of characteristics of degenerative joint disease using optical coherence tomography and polarization sensitive optical coherence tomography. *Lasers Surg Med*, 38(9), 852-865. doi: 10.1002/lsm.20394
- Zhang, M., Min, Z., Rana, N., & Liu, H. (2013). Accuracy of magnetic resonance imaging in grading knee chondral defects. *Arthroscopy*, 29(2), 349-356. doi: 10.1016/j.arthro.2012.04.138
- Zhang, W., Doherty, M., Peat, G., Bierma-Zeinstra, M. A., Arden, N. K., Bresnihan, B., . . . Bijlsma, J. W. (2010). EULAR evidence-based recommendations for the diagnosis of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 69(3), 483-489. doi: 10.1136/ard.2009.113100