

Université de Montréal

Évaluation objective de la douleur chronique secondaire à l'arthrose chez le chat

Par Martin Guillot

Département de biomédecine vétérinaire
Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté médecine vétérinaire en vue de
l'obtention du grade de *philosophiæ doctor* (Ph.D.)
en sciences vétérinaires option pharmacologie

Décembre, 2013

© Martin Guillot, 2013

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Cette thèse intitulée :
Évaluation objective de la douleur chronique secondaire à l'arthrose chez le chat

présentée par :
Martin Guillot

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Louis Gendron, président rapporteur

Christophe Desbois, examinateur externe

Éric Troncy, directeur de recherche

Jacques A. de Guise, codirecteur de recherche

Johanne Martel-Pelletier, codirectrice de recherche

Francis Beaudry, membre du jury

SOMMAIRE

Résumé

La prévalence de l'arthrose féline augmente fortement avec l'âge atteignant plus de 80% des chats de plus de 11 ans. L'arthrose induit une douleur chronique s'exprimant par des changements de comportements et une diminution de la mobilité. Il n'existe aucun outil validé pour évaluer la douleur chronique associée à l'arthrose chez le chat. Conséquemment, aucun traitement ciblant cette douleur n'a pu être validé.

Notre hypothèse de recherche est que la douleur arthrosique chez le chat induit des handicaps fonctionnels, des changements neurophysiologiques et un état d'hypersensibilité qu'il faut évaluer pour quantifier de manière fiable cette douleur et ses répercussions sur la qualité de vie de l'animal.

Nos objectifs étaient 1) de développer des outils adaptés aux chats mesurant les handicaps fonctionnels grâce à des outils cinématiques, cinétiques et de suivi de l'activité motrice ; 2) de caractériser les changements fonctionnels et neurophysiologiques secondaires à la douleur arthrosique et de tester avec ces outils un traitement analgésique à base d'anti-inflammatoire non stéroïdien ; 3) de développer une technique adaptée aux chats pouvant caractériser la présence du phénomène de sensibilisation centrale à l'aide d'une évaluation de la sommation temporelle mécanique ; 4) de tester la possibilité de mesurer le métabolisme glucidique cérébral par tomographie d'émission par positrons comme marqueur des changements supraspinaux secondaires à la chronicisation de la douleur.

Grâce au développement d'outils de mesure de douleur chronique objectifs, sensibles et répétables nous avons caractérisé la douleur chez les chats arthrosiques. Ils présentent des signes de boiterie quantifiée par une diminution de l'amplitude de l'articulation ou par une diminution de la force verticale d'appui au sol et une diminution de l'activité motrice quotidienne. Ces deux derniers outils ont permis de démontrer qu'un anti-inflammatoire non stéroïdien (le méloxicam) administré pendant quatre semaines réduit la douleur arthrosique. De plus, grâce au développement de tests sensoriels quantitatifs et à l'utilisation d'imagerie cérébrale fonctionnelle, nous avons démontré pour la première fois que la douleur arthrosique

conduisait à des modifications du système nerveux central chez le chat. Particulièrement, les chats arthrosiques développent le phénomène de sensibilisation centrale mis en évidence par un seuil de retrait aux filament de von Frey diminué (mesure réflexe) mais aussi par une facilitation de la sommation temporelle mécanique (mesure tenant compte de la composante cognitive et émotionnelle de la douleur). L'augmentation du métabolisme cérébral dans le cortex somatosensoriel secondaire, le thalamus et la substance grise périaqueducule, souligne aussi l'importance des changements liés à la chronicisation de la douleur.

Un traitement analgésique adapté à l'arthrose permettra d'améliorer la qualité de vie des chats atteints, offrira une option thérapeutique valide aux praticiens vétérinaires, et profitera aux propriétaires qui retrouveront un chat actif et sociable. La découverte de l'implication du phénomène de sensibilisation central combiné à l'investigation des changements cérébraux secondaires à la douleur chronique associée à l'arthrose par imagerie fonctionnelle ouvre de nouvelles avenues de recherche chez le chat (développement et/ou validation de traitements adaptés à l'état d'hypersensibilité) et les humains (potentiel modèle naturel de douleur chronique associée à l'arthrose).

Mots-clés : Actimétrie, Anti-inflammatoires non stéroïdiens, Arthrose féline, Douleur chronique, Force verticale d'appui au sol, Hypersensibilité tactile, Sensibilisation centrale, Sommation temporelle, Tomographie d'émission par positrons, Vidéo fluoroscopie.

Abstract

Feline osteoarthritis prevalence increases with age, up to 80% in cats aged 11 years old and more. Osteoarthritis is associated with chronic pain expressing as altered behaviour and a decrease in mobility. Currently, there is no validated technique to evaluate osteoarthritis-associated chronic pain in cats. This situation leads to an absence of approved medication for the treatment of OA-associated chronic pain in cats.

Our hypothesis states that osteoarthritis-associated pain in cats is expressed as physical disabilities, neurophysiologic changes, hypersensitivity, which need to be assessed to quantify adequately this pain and its impact on quality of life.

Our objectives were 1) to develop a cat adapted method to assess physical disabilities using kinematics, kinetics and motor activity evaluations; 2) to describe functional and neurophysiologic changes related to osteoarthritis-associated pain, and to test a non steroidal anti-inflammatory based analgesic treatment; 3) to develop a cat adapted method to detect central sensitisation using mechanical temporal summation; 4) to test the feasibility of measuring carbohydrate brain metabolism using positron emission tomography as a marker of supraspinal changes-associated with pain chronicity.

Using objective chronic pain evaluation tools determined as sensitive and repeatable, we characterized feline osteoarthritis-associated pain. Cats afflicted with osteoarthritis presented lameness characterised by decreased joint amplitude, or decreased peak ground reaction vertical force, and decreased motor activity. Using the two latter tools, we demonstrated the efficacy of a non steroidal anti-inflammatory (meloxicam) to alleviate osteoarthritis-associated pain after four weeks of administration. Moreover, using quantitative sensory testing and brain functional imaging, we demonstrated for the first time, that osteoarthritis-associated pain in cats led to central nervous system changes. Specially, cats afflicted with osteoarthritis developed central sensitisation as indicated by a decreased von Frey withdrawal threshold (a reflex evaluation), and also by a facilitated mechanical temporal summation (an approach allowing to take into account affective and cognitive dimensions of pain). The increase of brain metabolism in the secondary somatosensory cortex, thalamus and periaqueductal grey matter also highlighted the importance of pain chronicity related changes.

Using an analgesic treatment built to alleviate osteoarthritis-associated pain will improve cats quality of life, will help veterinarians, and will benefit owners who will retrieve an active and social cat. Demonstrating both the importance of central sensitisation and assessment of brain changes related to osteoarthritis-associated chronic pain using brain functional imaging opens new research opportunities in cats (development and/or validation of hypersensitivity related treatments), and humans (potential natural model of osteoarthritis-associated pain).

Keywords : Actimetry, Central sensitisation, Chronic pain, Feline osteoarthritis, Non steroidal anti-inflammatory, Peak ground reaction vertical force, Tactile hypersensitivity, Temporal summation, Positron emission tomography, Videofluoroscopy.

Table des matières

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS.....	xvi
DÉDICACE.....	xix
REMERCIEMENTS.....	xx
INTRODUCTION.....	1
1 RECENSION DES ÉCRITS.....	2
1.1 L'arthrose est un syndrome multifactoriel complexe de défaillance articulaire.....	2
1.1.1 L'articulation synoviale normale.....	2
1.1.1.1 Les constituants de l'articulation synoviale et leur rôle.....	2
1.1.1.2 La matrice extracellulaire du cartilage articulaire hyalin.....	4
1.1.1.3 Remplacement du cartilage articulaire.....	5
1.1.2 Les facteurs de risque de l'arthrose féline.....	6
1.1.2.1 L'arthrose féline est-elle une maladie idiopathique ?.....	6
1.1.2.2 L'importance de la génétique.....	8
1.1.3 L'arthrose est une maladie du cartilage.....	10
1.1.4 L'arthrose est une maladie de la membrane synoviale.....	13
1.1.5 L'arthrose est une maladie de l'os sous-chondral.....	15
1.1.6 L'arthrose est une maladie mécano-inflammatoire.....	18
1.2 Détection de l'arthrose féline.....	21
1.2.1 Son importance et sa localisation.....	21
1.2.2 Les limites de l'examen radiographique.....	23
1.3 La douleur d'origine arthrosique est-elle pathologique ?.....	26
1.3.1 Un résumé des bases essentielles en physiologie de la douleur.....	26
1.3.1.1 Définir la douleur animale.....	26
1.3.1.2 Les voies de la douleur nociceptive.....	27
1.3.1.3 Les modulations du signal nociceptif.....	30

1.3.2	Les preuves d'un développement douloureux local et central	36
1.3.2.1	Les origines de la douleur arthrosique et le rôle de l'inflammation	36
1.3.2.2	La chronicisation de la douleur et les preuves croissantes du rôle majeur de la sensibilisation centrale	39
1.3.3	Mesurer la douleur chronique chez l'animal : avez vous dit défis ?.....	41
1.3.3.1	L'absence d'outils de mesure validés chez le chat	41
1.3.3.2	Les mesures physiologiques	41
1.3.3.3	L'évaluation des comportements associés à la douleur	42
1.3.3.4	Les mesures objectives de douleur chronique	46
1.3.4	L'arthrose féline est une maladie douloureuse invalidante.....	50
1.3.5	L'absence de traitement validé	53
1.4	Résumé et énoncé de l'hypothèse de recherche.....	56
1.5	Sources documentaires.....	59
2	PUBLICATIONS.....	78
2.1	Coxofemoral joint kinematics using video-fluoroscopic images of treadmill walking cats: development of a technique to assess osteoarthritis-associated disability.....	80
2.1.1	Abstract.....	80
2.1.2	Key words	81
2.1.3	Introduction.....	81
2.1.4	Material and method	82
2.1.4.1	Cats' selection and characteristics	82
2.1.4.2	Video-fluoroscopic acquisition of the coxofemoral joints.....	83
2.1.4.3	Video-fluoroscopic images pre-processing and providing of the kinematic data	84
2.1.4.4	Data analysis	86
2.1.5	Results.....	87
2.1.6	Discussion.....	90
2.1.7	Conflict of interest statement.....	94
2.1.8	Acknowledgements.....	95
2.1.9	References.....	95
2.2	Evaluation of Osteoarthritis in Cats: Novel Information from a Pilot Study	100

2.2.1	Abstract.....	100
2.2.2	Key words.....	101
2.2.3	Introduction.....	101
2.2.4	Materials and methods.....	102
2.2.4.1	Cat selection and housing.....	102
2.2.4.2	Structural evaluation.....	103
2.2.4.3	Kinetic evaluations.....	105
2.2.4.4	Motor activity assessment.....	105
2.2.4.5	Statistical analysis.....	105
2.2.5	Results.....	106
2.2.5.1	CR and MRI structural evaluations.....	106
2.2.5.2	Functional evaluations.....	108
2.2.5.3	Exploratory correlations.....	109
2.2.6	Discussion.....	110
2.2.6.1	Structural evaluation of OA-related lesions.....	110
2.2.6.2	Functional evaluation.....	111
2.2.7	Acknowledgments.....	113
2.2.8	References.....	114
2.3	Characterisation of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools.....	118
2.3.1	Abstract.....	118
2.3.2	Keywords.....	119
2.3.3	Introduction.....	119
2.3.4	Materials and methods.....	120
2.3.4.1	Cat selection and experimental protocol.....	120
2.3.4.2	Measurement of PVF.....	122
2.3.4.3	Motor activity assessment.....	123
2.3.4.4	Punctate tactile allodynia quantification.....	124
2.3.4.5	Statistical method.....	124
2.3.5	Results.....	126
2.3.5.1	Departure from the protocol and health follow up.....	126

2.3.5.2	Outcome reliability and sensitivity to OA during the placebo period	126
2.3.5.3	Effect of meloxicam.....	127
2.3.6	Discussion.....	132
2.3.7	Conclusions.....	136
2.3.8	Conflict of interest statement.....	137
2.3.9	Acknowledgements.....	137
2.3.10	References.....	138
2.4	Evoked temporal summation in cats to highlight central sensitization related to osteoarthritis-associated chronic pain: A preliminary study.....	141
2.4.1	Abstract.....	141
2.4.2	Keywords	142
2.4.3	Introduction.....	142
2.4.4	Methods.....	144
2.4.4.1	Ethics statement	144
2.4.4.2	Animals and experimental design.....	144
2.4.4.3	Measurement of PVF	146
2.4.4.4	Motor activity assessment.....	146
2.4.4.5	Secondary punctate tactile allodynia quantification	147
2.4.4.6	Mechanical repetitive stimuli quantitative sensory testing.....	148
2.4.4.7	Statistical methods	149
2.4.5	Results.....	151
2.4.6	Acknowledgements.....	156
2.4.7	Competing interests	157
2.4.8	References.....	157
2.5	[¹⁸ F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography of the cat brain: A feasibility study to investigate osteoarthritis-associated pain.....	162
2.5.1	Abstract.....	162
2.5.2	Keywords	162
2.5.3	Introduction.....	163
2.5.4	Material and methods.....	163
2.5.5	Results and discussion	166

2.5.6	Conflict of interest statement.....	167
2.5.7	Acknowledgements.....	167
2.5.8	References.....	167
3	DISCUSSION GÉNÉRALE.....	169
3.1	Caractériser la douleur animale	169
3.1.1	Les paramètres confondants et l'interrelation des données mesurées	169
3.1.2	La réponse à l'administration d'un analgésique	170
3.1.3	L'aspect multidimensionnel.....	170
3.2	Le bilan de la caractérisation objective de la douleur secondaire à l'arthrose chez le chat.....	172
3.2.1	Les handicaps fonctionnels : possibles origines et conséquences	172
3.2.2	Les tests sensoriels quantitatifs : apport original et limitations	177
3.2.3	L'imagerie cérébrale fonctionnelle : avancées et défis.....	179
3.2.4	Les limites des évaluations objectives et la nécessité de développer des outils complémentaires	182
3.3	La première démonstration de l'efficacité d'un analgésique chez le chat arthrosique.....	183
3.3.1	La suspicion d'une efficacité dose-dépendante	183
3.3.2	Chat arthrosique ; chat douloureux ?	186
3.4	Les options thérapeutiques pour combattre la douleur chronique associée à l'arthrose	189
3.4.1	Les limites des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	189
3.4.2	Les nombreuses options potentielles adaptées à la physiopathologie de l'arthrose	190
3.5	Le chat arthrosique : un modèle naturel de douleur arthrosique pour l'humain ? ..	194
3.6	Sources documentaires.....	198
	CONCLUSION.....	214
	ANNEXE 1 : Les bases de la tomographie d'émission par positrons au [¹⁸ F]-fluorodéoxyglucose	xxi
	ANNEXE 2 : Curriculum abrégé	xxx

Liste des tableaux

Table 1.3-I Études de l'association entre douleur et changements structuraux secondaires à l'arthrose détectés à l'IRM (Hunter et al., 2013).	38
Table 1.3-II Implication des molécules pro-inflammatoires dans la douleur arthrosique	39
Table 1.3-III Les différentes techniques d'imagerie fonctionnelle cérébrale	49
Table 1.3-IV Les principaux comportements indicatifs de douleur chronique chez le chat arthrosique	52
Table 2.1-I Structural imaging scores, subjective pain, and kinematic variables of the left and right coxofemoral joints extracted from the video frames by cat.	89
Table 2.2-I Structural scores of OA-related lesions of the coxofemoral joints, as assessed using CR and MR images in normal (n = 2) and OA (n = 4) cats.	107
Table 2.3-I Age, radiographic and orthopaedic features of the selected cats at the start of the study by OA-status-group.	121
Table 2.3-II Details of the mixed model analyses.	125
Table 2.3-III Mean and standard deviation (SD) of the most affected limb PVF, velocity and maximum number of trials (MT) of the after-exercise session by treatment group over days.....	129
Table 2.3-IV Mean and standard deviation (SD) of the motor activity intensity by treatment group over days.....	130
Table 2.3-V Mean and standard deviation (SD) of the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold (g) by treatment group over days.	131
Table 2.3-VI. Percentage of allodynic cats by treatment group over periods.....	132
Table 2.4-I Age, body weight, radiographic and clinical features of the selected cats.	145
Table 2.4-II Characterization of the mechanical stimuli provided by each stimulation profile.....	149
Table 2.4-III Details of the mixed model analyses.	150

Liste des figures

Figure 1.1-1 Schéma d'une articulation synoviale normale	3
Figure 1.1-2 Les éléments clefs de la dégradation de la matrice cartilagineuse.....	12
Figure 1.1-3 La membrane synoviale au centre des évènements biopathologiques de l'arthrose	15
Figure 1.1-4 Synthèse schématique de la pathogénie de l'arthrose	19
Figure 1.2-1 Exemples de radiographies	24
Figure 1.3-1 Genèse d'un potentiel d'action dans un nocicepteur et les principaux récepteurs de modulation	28
Figure 1.3-2 Conduction du signal nociceptif au niveau de la moelle épinière et les principaux récepteurs de modulation	29
Figure 1.3-3 Les principales molécules impliquées dans la sensibilisation d'un nocicepteur.....	31
Figure 1.3-4 Les mécanismes du phénomène de sensibilisation centrale.....	33
Figure 1.3-5 Hyperalgésie et allodynie.....	34
Figure 1.3-6 Schéma simplifié des voies de la douleur nociceptive et de ses modulations	36
Figure 1.3-7 Un exemple d'échelle visuelle analogique.....	43
Figure 1.3-8 Utilisation du système de gradation CSOM chez le chat arthrosique.....	45
Figure 1.3-9 Schéma de l'interrelation entre atteintes structurelles, dysfonctions motrices et douleur chronique dans l'arthrose féline.....	53
Figure 1.4-1 Schématisation de l'hypothèse de recherche.....	58
Figure 2.1-1 Different steps of the video-fluoroscopic images pre-processing.....	85
Figure 2.1-2 Left (a) and right (b) coxofemoral joint angle in the sagittal plane by percent of gait cycle.....	87
Figure 2.1-3 Absolute difference between the left and right coxofemoral joint angles in the sagittal plane by percent of gait cycle.....	88
Figure 2.1-4 Test-retest observed absolute (expressed as SD; a) and relative (expressed as coefficient of variation; b) variation of the coxofemoral joint angle in the sagittal plane by percent of the gait cycle.	90

Figure 2.1-5 Left (a) and right (b) coxofemoral bone angles in the sagittal plane by percent gait cycle.	91
Figure 2.2-1 Osteoarthritic changes detected using CR and MR images in a cat.	107
Figure 2.2-2 Bone marrow edema-like lesion.	108
Figure 2.2-3 Daylight (A) and night-time (B) mean motor activity by day and osteoarthritis status.	109
Figure 2.2-4 Graphical representation of PVF as a function of A- Daylight motor activity; B- Night-time motor activity; C- Age; D- MRI global structural score, plus linear trends.	110
Figure 2.3-1 Study design diagram.	122
Figure 2.3-2 Least square means of the different outcomes by OA-status-group during the placebo period.	128
Figure 2.3-3 Least square means and SEM of the log-transformed PVF by period and treatment after excluding OA-status-group 2 cats.	130
Figure 2.3-4 Least square means and SEM of the log-transformed MA intensity by period and treatment.	131
Figure 2.4-1 Photograph of the placement of the von Frey probe.	147
Figure 2.4-2 Photograph of the mechanical repetitive stimuli quantitative sensory testing experimental setting.	148
Figure 2.4-3 Characterization of osteoarthritis (OA) using chronic pain evaluation methods:	151
Figure 2.4-4 Number of stimuli reached and 95% confidence interval (inverse link of the least squares means estimates and 95% confidence interval obtained using the Poisson generalized linear modelling) following repetitive mechanical stimuli.	153
Figure 2.5-1 Four transversal slices of: A) cat brain imaged with [¹⁸ F]-fluorodeoxyglucose (FDG) using a small animal positron emission tomography (PET) scanner; B) brain regions of interest (ROI) segmented from magnetic resonance (MR) images; C) PET signal coregistered with MR images.	165
Figure 2.5-2 Mean metabolic activity in the brain regions of interest expressed as a ratio of standardized uptake values (SUV), and standard deviation.	166

Figure 3.1-1 Le modèle bio-psycho-social de la douleur chronique et les mesures
rattachées 171

Liste des sigles et des abréviations

5-HT	Sérotonine
5-HT3	Récepteur de sous-type 3 à la sérotonine
5'UTR (5' UnTranslated Region)	Région 5' non traduite
ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs)	Une désintégrine et métalloprotéinase avec un motif thrombospondine
ADN	Acide désoxyribo nucléique
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AMPA	amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionate
AMPAR	Récepteur AMPA
ASIC1-4	Canaux ioniques sensibles aux protons 1-4
ATP	Adénosine triphosphate
BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor)	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BMP (Bone Morphogenetic Proteins)	Protéines morphogénétiques de l'os
BOLD (Blood-Oxygen-Level Dependent)	Signal dépendant du niveau d'oxygénation sanguin
CCL2 (Chemokine C-C motif ligand 2)	Ligand 2 de la chimiokine au motif C-C
CCL5 (Chemokine C-C motif ligand 5)	Ligand 5 de la chimiokine au motif C-C
CDMP (Cartilage-Derived Morphogenetic Proteins)	Protéines morphogénétiques dérivés du cartilage
CGRP (Calcitonin Gene Related Peptide)	Peptide relié au gène de la calcitonine
COMP (Cartilage Oligomeric Matrix Protein)	Protéine oligomérique de la matrice cartilagineuse
COX	Cyclo-oxygénase
CSOM (Client-Specific Outcome Measures)	Outil d'évaluation des mesures spécifiques aux propriétaires
CTGF (Connective Tissue Growth Factor)	Facteur de croissance des tissus connectifs
<i>e.g.</i>	<i>exempli gratia</i>

ERK 1/2 (<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2</i>)	Kinases 1/2 régulées par un signal extracellulaire
ET	Écart type
FGF (<i>Fibroblast Growth Factors</i>)	Facteurs de croissance des fibroblastes
FMPI (<i>Feline Musculoskeletal Pain Index</i>)	Indice de douleur musculosquelettique félin
GABA	Acide <i>gamma</i> -aminobutyrique
GDF5 (<i>Growth Differentiation Factor 5</i>)	Facteur de croissance / différenciation 5
GluR	Récepteur ionotrope activé par le glutamate
HGF (<i>Hepatocyte Growth Factor</i>)	facteur de croissance des hépatocytes
IGF (<i>Insulin-like Growth Factor</i>)	Facteurs de croissance semblables à l'insuline
IL	Interleukine
IL-1R	Récepteur à l'IL-1
IL-1Ra	Antagoniste au récepteur de l'interleukine 1
IRM	Imagerie par résonance magnétique
IRMf	Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
LIF (<i>Leukemia Inhibitory Factor</i>)	Facteur inhibiteur de leucémie
LT	Leucotriènes
mGluR	Récepteurs métabotropiques du glutamate couplés aux protéines G
MMP (<i>Matrix MetalloProteinases</i>)	Métalloprotéinases de la matrice extracellulaire
NaV1.6-9	Canaux sodiques voltage dépendant 1.6-9
NGF (<i>Nerve Growth Factor</i>)	Facteur de croissance neuronale
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NMDAR	Récepteur NMDA
NK1	Neurokinine 1
NO	Monoxyde d'azote
NOR	Noradrénaline
OP	Opioides
OPG	Ostéoprotégérine
P2X3	Canal ionique purinergique 2X3

PAR (<i>Protease-Activated Receptors</i>)	Récepteurs activés par les protéases
PG	Prostaglandines
PKA	Phosphokinase A
PKC	Phosphokinase C
PPAR- γ (<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma</i>)	Récepteur gamma activé par le proliférateur du péroxysome
RANKL (<i>Receptor Activator of Nuclear Factor-κB</i>)	Activateur du récepteur du facteur nucléaire <i>kappa</i> -B
SP	Substance P
TEP	Tomographie d'émission par positrons
TGF- β (<i>Transforming Growth Factor beta</i>)	Facteurs de croissance de transformation <i>beta</i>
TIMP (<i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinases</i>)	Inhibiteur tissulaire de MMP
TNF- α (<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>)	Facteur de nécrose tumorale <i>alpha</i>
TrkA, B	Tyrosines kinases A, B
TRP (<i>Transient Receptor Potential</i>)	Potentiel récepteur transitoire
TRPA1 (<i>Transient Receptor Potential cation channel, subfamily A, member 1</i>)	TRP de type canaux cations de la sous-famille A membre 1
TRPM8 (<i>Transient Receptor Potential cation channel subfamily M member 8</i>)	TRP de type canaux cations de la sous-famille M membre 8
TRPV1 (<i>Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (= vanilloid receptor 1 = capsaicin receptor)</i>)	TRP de type canaux cations de la sous-famille V membre 1 (= récepteur vanilloïde sous-type 1 = récepteur de la capsaïcine)
uPa (<i>Urokinase type Plasminogen Activator</i>)	Urikinase du type activateur du plasminogène
VEGF (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)	Facteur de croissance de vaisseaux endothéliaux
VIP (<i>Vasoactive Intestinal Peptide</i>)	Peptide intestinal vasoactif
WDR (<i>Wide Dynamic Range</i>)	Gamme dynamique large

Au Dr Jérôme RE del Castillo.

Remerciements

Au Dr Éric Troncy, mon directeur de recherche pour son soutien indéfectible, son temps, sa passion, son infatigable recherche de fonds et d'idées, ce fut toute une aventure !

Aux Dr Jacques de Guise et Dre Johanne Martel-Pelletier, mes co-directeurs de recherche pour leur appui indispensable dans les moments opportuns. Leurs parcours remarquables sont des exemples inspirants.

Aux Dr Louis Gendron, président rapporteur, Dr Christophe Desbois, examinateur externe et Dr Francis Beaudry, membre du jury pour avoir accepté d'évaluer cette thèse.

Au Dre Agathe Bédard, ma femme, pour son soutien inconditionnel sans lequel cette aventure n'aurait pu s'achever.

À Dominique Gauvin, la maman du labo, pour TOUT.

À la Dre Pascale Rialland, partenaire d'aventure, pour son café à tout heure, son éternel optimisme et sa ténacité.

Au bientôt Dr Maxim Moreau, aussi partenaire d'aventure, pour son organisation sans faille et sa vision complémentaire de la vie.

Au Dre Mary Klinck, pour sa gentillesse et son savoir chat.

À l'équipe d'Arthrolab Inc., particulièrement Carolle Sylvestre, Pascale St-Onge, et Mélissa d'Auteuil, sans qui les chats ne seraient pas d'aussi bonne humeur.

À l'équipe du LIO, pour m'avoir accueilli les bras ouverts et épaulé à travers les obscurs algorithmes de traitement d'images.

À l'équipe du CIMS, pour m'avoir inclus tel un membre du groupe dès le premier jour même si les défis techniques apportés ont écourté de nombreuses nuits.

INTRODUCTION

Ces dernières années, l'attrait des animaux de compagnie en Amérique du Nord est toujours bien présent malgré la crise économique. Les ventes de services médicaux aux États-Unis sont un bon exemple de l'engouement qui est de prendre soin de son animal de compagnie : les ventes de produits et de services médicaux pour les animaux domestiques (les chats et les chiens) sont de 9,33 milliards de dollars américains, en 2014, avec un taux de croissance annuel autour de 7% depuis 2009. Les ventes des produits pharmaceutiques ont augmenté de 3,4% en 2009, pour atteindre 4,96 milliards de dollars américains. De 2009 à 2014, une croissance moyenne annuelle de 7,2% est attendue sur les produits pharmaceutiques vétérinaires.

L'arthrose est un problème majeur en médecine vétérinaire avec une prévalence élevée dans les populations canine et féline. Particulièrement, l'arthrose atteint environ 80% des chats gériatriques de 11 ans et plus et est la cause principale de douleur / invalidité chez les chats âgés (représentant environ 35 millions d'individus). Pour l'instant seulement 10-15% des chats arthrosiques sont diagnostiqués et suivis ce qui indique que son diagnostic, et *a fortiori* sa prise en charge, sont largement sous-évalués. Cela s'explique en partie par le manque de connaissances de la maladie par les praticiens vétérinaires. Mais surtout par le manque d'outils pour quantifier correctement les impacts de la maladie sur la qualité de vie de ces animaux. de plus, le marché félin est toujours en attente de médicaments analgésiques validés dans le traitement de l'arthrose puisque là encore aucun outil d'évaluation de la douleur chronique chez le chat n'a été validé pour permettre l'évaluation de l'efficacité de nouvelles thérapeutiques et de thérapeutiques translatées d'autres espèces comme le chien.

Cet ouvrage se propose : i) de faire le point sur les connaissances actuelles dans le domaine de l'arthrose et la douleur chronique associée avec comme axe d'intérêt particulier le chat ; ii) de rapporter les études, accomplies au cours de mon programme de doctorat, ayant permis de faire progresser les connaissances dans la caractérisation de la douleur arthrosique et de son traitement ; iii) de discuter des résultats de ces études et de mettre en contexte leur importance et leur portée.

1 RECENSION DES ÉCRITS

1.1 L'arthrose est un syndrome multifactoriel complexe de défaillance articulaire

La majorité des recherches pour élucider la biopathologie de l'arthrose ont été obtenues dans des modèles expérimentaux d'arthrose. Il n'existe que peu d'informations spécifiques à l'espèce féline. Par contre, il est assumé que la majorité des voies de signalisation et des événements décrits à partir des données obtenues chez l'humain et de modèles animaux (*e.g.* le chien, le lapin, le rat et la souris) sont d'intérêt et extrapolables au chat. Quand des données spécifiques à l'espèce féline sont disponibles, elles seront soulignées dans les prochaines sections de ce chapitre.

1.1.1 L'articulation synoviale normale

1.1.1.1 Les constituants de l'articulation synoviale et leur rôle

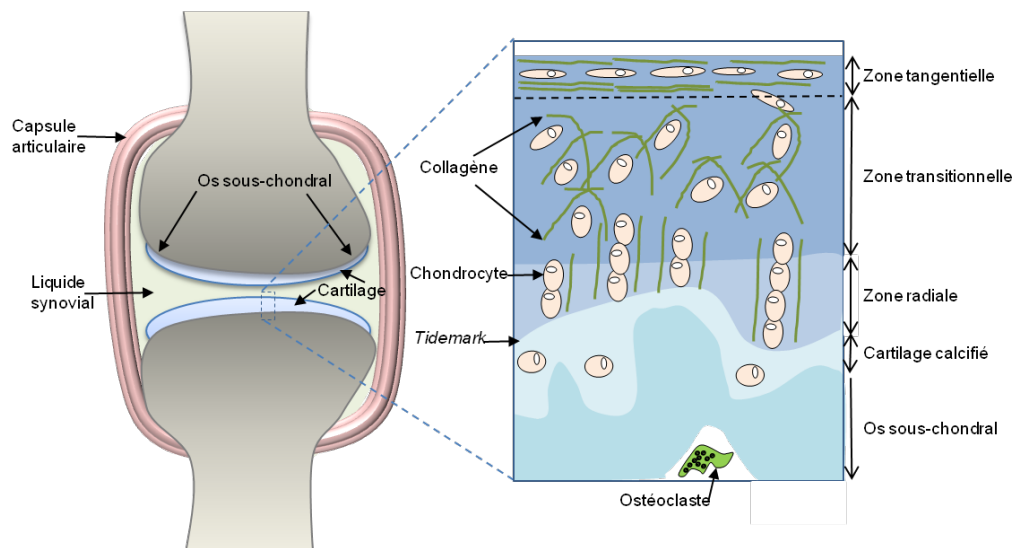
L'arthrose est une maladie de l'articulation synoviale. Avant d'envisager de décrire les modifications pathologiques liées à cette maladie, il est d'intérêt de rappeler brièvement l'anatomie et la physiologie d'une articulation synoviale ou diarthrose. Une articulation synoviale est constituée de la partie épiphysaire de deux os qui est couverte par quelques millimètres de cartilage articulaire et fermée par une capsule articulaire contenant le liquide synovial (Figure 1.1-1).

La capsule articulaire comprend une couche externe, épaisse et fibreuse, entourant le tissu connectif qui remplit un rôle de support, et une couche interne, la membrane synoviale. La membrane synoviale est richement vascularisée et innervée. Elle fabrique le liquide synovial. Elle comprend des synoviocytes du type A (principalement des phagocytes) et du type B (principalement des cellules sécrétrices). Le liquide synovial est un ultrafiltrat du plasma qui permet de maintenir l'homéostasie de l'articulation et sa lubrification. Notamment, deux molécules importantes, la lubricine et l'acide hyaluronique, sont fabriquées par les

cellules de la membrane synoviale et participent à la protection du cartilage articulaire (Hui et al., 2012).

L'os sous chondral de l'épiphyse se situe à l'interface entre le cartilage articulaire et le squelette rigide. Il est organisé en treillis permettant la transmission des forces du cartilage vers le cortex de l'os lors de la mise en charge de l'articulation. Il est richement vascularisé et innervé.

Figure 1.1-1 Schéma d'une articulation synoviale normale



Une articulation synoviale est constituée de la partie épiphysaire de deux os qui est couverte par quelques millimètres de cartilage articulaire et fermée par une capsule articulaire contenant le liquide synovial. La capsule articulaire comprend une couche externe, épaisse et fibreuse remplissant un rôle de support, et une couche interne, la membrane synoviale qui fabrique le liquide synovial. L'os sous chondral de l'épiphyse se situe à l'interface entre le cartilage articulaire et le squelette rigide. Il permet la transmission des forces du cartilage vers le cortex de l'os lors de la mise en charge de l'articulation. Le cartilage articulaire permet la distribution du poids de la mise en charge et un glissement sans friction lors du mouvement. L'innervation de l'articulation (composée de fibres A β , A δ et C) est physiologiquement assurée essentiellement par la membrane synoviale et l'os.

L'agrandissement du cartilage articulaire sur la droite du schéma permet d'illustrer qu'il est composé de quatre régions : i) La zone tangentielle composée de chondrocytes de forme allongés et de fibrilles de collagène disposées parallèlement à la surface articulaire; ii) La zone transitionnelle composée de chondrocytes plus ronds disposés aléatoirement et de faisceaux épais de fibres de collagène; iii) La zone radiale composée de chondrocytes positionnés en colonnes perpendiculaires à la ligne de démarcation (« tidemark ») et d'épais faisceaux radiaux de collagène; iv) La zone de cartilage calcifié qui jouxte l'os sous-chondral dans laquelle les chondrocytes sont au sein d'une matrice calcifiée (Goldring and Marcu, 2009; Renberg, 2005).

Le cartilage articulaire a pour fonction de distribuer le poids de la mise en charge (comme un amortisseur de choc) et de permettre un glissement sans friction lors du mouvement. C'est un tissu aneuronal, alymphatique et avasculaire composé de chondrocytes. Les chondrocytes sont enfermés dans une matrice extracellulaire avec laquelle ils sont en étroit contact. Les apports nutritifs et en oxygène se font essentiellement par diffusion de liquide dans le cartilage (Hardingham, 2010). Dans des conditions physiologiques, les chondrocytes ne se divisent pas, mais permettent le remplacement permanent de la matrice extracellulaire (Goldring and Marcu, 2009). Les chondrocytes sont aussi capables de répondre à des stimulations mécaniques (*e.g.* suite à une blessure ou une instabilité) et biologiques (*e.g.* par des cytokines ou des facteurs de croissance et de différenciation) qui amènent à des modifications de la matrice cartilagineuse (Goldring and Goldring, 2007).

1.1.1.2 La matrice extracellulaire du cartilage articulaire hyalin

La matrice extracellulaire représente environ 95% du cartilage articulaire hyalin. Cette matrice est composée majoritairement d'eau (80 % de son poids) dont la présence dépend de la présence de collagène et de protéoglycanes.

Les molécules de collagène représentent 50 à 60 % du poids sec du cartilage. Ce sont des molécules relativement insolubles en forme de triples hélices qui s'organisent en fibrilles et fibres. Le collagène du fait de son élasticité résiste et transmet les forces de tension. Environ 90 % du collagène est du collagène du type II spécifique au cartilage hyalin et qui définit un réseau organisé (Eyre, 1991). Le reste est formé de nombreux types de collagène, dont il est important de souligner le type VI trouvé richement sous forme de microfibrilles autour des chondrocytes et qui pourrait servir de lien avec le reste du réseau de fibres de collagène. Aussi le collagène de type IX, XI et XXVII permettent l'organisation du réseau de collagène et la rétention des protéoglycanes (Eyre et al., 2006; Plumb et al., 2007).

Les protéoglycanes sont la deuxième portion la plus importante de la phase solide du cartilage et représentent 5 à 10 % du poids humide. Ils s'opposent aux forces de compression. Ce sont des supramolécules complexes organisées sous forme d'amas d'aggrécans le long d'un polymère d'acide hyaluronique servant de squelette. Les aggrécans s'attachent de manière covalente à l'acide hyaluronique par des protéines de liaison. Ces protéines de liaison

sont des monomères constitués d'une protéine noyau et de chaînes latérales de glycosaminoglycanes (les sulfates de chondroïtine, de kératane et de dermatane) rayonnant dans la matrice extracellulaire. Ces glycosaminoglycanes sont très anioniques ce qui les rend très hydrophiles. L'intime relation entre le collagène et les protéoglycanes permet au cartilage de reprendre sa structure initiale lors de déformation et de répartir l'eau au sein du cartilage lors de l'amortissement des chocs (Gahunia and Pritzker, 2012; Goldring and Marcu, 2009; Renberg, 2005; Scott and Stockwell, 2006).

De plus, de nombreuses molécules non collagéniques sont présentes dans la matrice extracellulaire (Gahunia and Pritzker, 2012; Goldring and Marcu, 2009). Ces molécules sont des protéines et des glycoprotéines qui sont présentes en petite quantité, mais qui jouent un grand rôle dans la modulation des propriétés et/ou du métabolisme de la matrice extracellulaire. Parmi les plus importantes, les byglycanes et la décorine aident à la stabilisation de la matrice extracellulaire (Bianco et al., 1990; Poole et al., 1996). La fibronectine module l'adhésion, la morphologie et la différenciation cellulaire (Piperno et al., 1998). Enfin, la protéine oligomérique de la matrice cartilagineuse (COMP) catalyse la genèse des fibrilles du collagène et son interaction avec le collagène de type IX est essentielle au maintien de la matrice extracellulaire (Halasz et al., 2007; Koelling et al., 2006).

1.1.1.3 Remplacement du cartilage articulaire

La matrice cartilagineuse est remplacée tout au long de sa vie sous le contrôle de différents facteurs cataboliques (de nombreuses protéases, la fibronectine, des neuromédiateurs et des facteurs inflammatoires dont les rôles dans l'arthrose seront développés dans le chapitre 1.1.3) et anaboliques. Les facteurs anaboliques les plus importants dans la formation et le maintien du cartilage sont (Finsson et al., 2012; Fortier et al., 2011; Martel-Pelletier et al., 2008) :

i) Les facteurs de croissance de transformation (TGF- β). Leurs rôles sont critiques dans le développement, la croissance et la réparation du cartilage. Ils supportent la croissance de protéoglycane, sont capables de diminuer l'activité de l'interleukine 1 β (IL-1 β) et de certaines protéases. Parfois ils possèdent aussi un rôle proinflammatoire.

ii) Les protéines morphogénétiques de l'os (BMP). Elles stimulent la formation de l'os et du cartilage, et favorisent la croissance des chondrocytes.

iii) Les protéines morphogénétiques dérivées du cartilage (CDNP). Elles sont nécessaires au développement et la croissance du cartilage.

iv) Les facteurs de croissance semblables à l'insuline (IGF). Ce sont des facteurs homéostasiques majeurs contrôlant la synthèse de la matrice extracellulaire et l'activité mitotique des chondrocytes.

v) Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF). Ils stimulent la synthèse de protéoglycanes et de collagène.

vi) Le facteur de croissance des tissus connectifs (CTGF). Il régule la prolifération et la différenciation des chondrocytes.

vii) Les protéines reliées à la lectine qui ont un rôle protecteur des chondrocytes.

1.1.2 Les facteurs de risque de l'arthrose féline

1.1.2.1 L'arthrose féline est-elle une maladie idiopathique ?

Chez l'humain, l'arthrose est une maladie multifactorielle. Les facteurs de risque clairement établis sont une instabilité mécanique de l'articulation (*e.g.* la rupture du ligament croisé antérieur et un conflit fémoro-acétabulaire), l'âge, l'obésité et une combinaison de facteurs génétiques (Goldring and Goldring, 2007; Loeser, 2013; Rannou et al., 2010; Sellam and Berenbaum, 2013).

Chez le chat, l'arthrose est, semble-t-il, principalement idiopathique (arthrose primaire) puisque aucune cause sous-jacente n'est rapportée à la présence d'arthrose dans $28/36 = 78 \%$ (Clarke et al., 2005), $254/292 = 87 \%$ (Godfrey, 2005), $20/28 = 71 \%$ (Clarke and Bennett, 2006) et dans $92/92 = 100 \%$ des cas (Lascelles et al., 2010b). Cependant, les causes sous-jacentes n'ont pas encore été systématiquement cherchées et donc déterminées (Bennett et al., 2012a; Lascelles, 2010). Certains avancent que du fait de la forte prévalence d'arthrose bilatérale (Clarke and Bennett, 2006; Godfrey, 2005; Lascelles et al., 2007b; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011) et même des cas d'arthrose bilatérale multiple (Slingerland et

al., 2011), l'arthrose devrait être une maladie constitutionnelle (Slingerland et al., 2011), ou primaire (Lascelles, 2010). Cette forte proportion d'atteinte bilatérale pourrait aussi indiquer des causes congénitales (*e.g.* dysplasie articulaire), systémiques (*e.g.* désordres métaboliques) ou neurogéniques (Lascelles, 2010). D'autres (Hardie et al., 2002) considèrent que l'arthrose est secondaire à des facteurs indéterminés tels qu'une dysplasie articulaire clinique ou sub-clinique, et à des traumatismes chroniques.

Une des causes bien établies d'arthrose chez le chat sont les anciens traumatismes articulaires rapportés dans $8/36 = 22\%$ (Clarke et al., 2005) et $38/292 = 13\%$ (Godfrey, 2005) des cas. Plusieurs maladies congénitales sont aussi à l'origine du développement de l'arthrose mais l'importance de leur implication est incertaine (Bennett et al., 2012a; Lascelles, 2010). Ainsi, l'arthrose peut être secondaire à une dysplasie du coude ou de la hanche (Bennett et al., 2012a; Keller et al., 1999; Lascelles, 2010), l'ostéo-chondrodysplasie du *Scottish fold* (Malik et al., 1999) et à certaines formes de mucopolysaccharidose (Konde et al., 1987; Norrdin et al., 1995). L'arthrose peut aussi être secondaire à l'acromégalie (Peterson, 2007; Peterson et al., 1990), à la rupture du ligament croisé crânial (Herzog et al., 1993) et à différentes arthropathies (Beale, 2005; Bennett et al., 2012a; Lascelles, 2010; Loughin et al., 2006).

Le seul facteur de risque qui a pu être pour l'instant associé de manière indépendante à une augmentation de la présence de l'arthrose féline est l'âge. Godfrey *et al.* (2005) rapporte que sa population contrôle est significativement plus jeune que sa population étudiée de chats arthrosiques (âge moyen [intervalle] 8,2 ans [0-25] et 10,8 ans [2-19], respectivement). De même Clarke *et al.* (2005) rapporte une population contrôle plus jeune que la population étudiée (âge médian 4 ans [0,2-18] et 10,2 ans [0,6-16,4], respectivement). Dans l'étude prospective de Lascelles *et al.* (2010b) la seule variable significativement associée à la sévérité de l'arthrose (pour cet article, définie par maladie articulaire dégénérative appendiculaire) est l'âge. L'augmentation d'un an d'âge augmentait le score radiographique d'arthrose de 10,31 %. De même, dans l'étude prospective de Slingerland *et al.* (2011), seul l'âge était significativement associé à la présence d'arthrose (ratio de chance 1,66, intervalle de confiance à 95 % [1,08-1,46]). Il est intéressant de noter que dans ces deux études certains autres facteurs que l'âge étaient significativement associés à la sévérité de l'arthrose (concentration sanguine de lipase, de créatinine, d'urée, de cholestérol, d'amylase et de

sodium) (Lascelles et al., 2010b) ou à la présence d'arthrose (diminution de la mobilité et diminution du toilettage) (Slingerland et al., 2011). Cependant, aucun de ces facteurs ne restait associé à la présence d'arthrose lors des analyses multivariées, suggérant que l'âge était en fait un facteur confondant.

Chez le chat, ni le sexe ni le poids ne sont un facteur de risque de présence ou de sévérité de l'arthrose (Clarke and Bennett, 2006; Clarke et al., 2005; Godfrey, 2005; Hardie et al., 2002; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011). Pourtant chez l'humain, les femmes de plus de cinquante ans semblent prédisposées au développement de l'arthrose, particulièrement du genou (Pereira et al., 2011; Prieto-Alhambra et al., 2013). Le rôle des hormones sexuelles et de la ménopause pourrait expliquer cette prédisposition, mais cela est encore controversé (Berenbaum, 2013; de Klerk et al., 2009). Toutefois, le fort taux d'animaux stérilisés sélectionnés dans les études félines (99 %) ne permettrait pas vraiment de distinguer un effet sexe puisque les hormones sexuelles ne sont plus un facteur de différence entre les deux populations. Il est par contre plus étonnant que le poids n'influe pas la prévalence de l'arthrose chez le chat. En effet, l'obésité est un facteur de risque très important dans l'arthrose humaine (Berenbaum et al., 2013; Berenbaum and Sellam, 2008) et canine (Zoran, 2010). L'obésité contribue directement à la pathogénie de l'arthrose par l'augmentation des dommages mécaniques sur le cartilage du fait de l'augmentation de la charge. L'obésité contribue aussi à l'inflammation synoviale due à la sécrétion par les adipocytes de cytokines pro-inflammatoires et d'hormones spécifiques (adipokines) telles la leptine, l'adiponectine, la résistine et le vistafine qui contribuent à l'initiation et à la progression de l'arthrose (Berenbaum et al., 2013; Hu et al., 2011).

1.1.2.2 L'importance de la génétique

Chez l'humain, il est bien accepté que l'arthrose soit une maladie polygénétique (Chapman and Valdes, 2012; Reginato and Olsen, 2002; Valdes and Spector, 2011). Certains variants génétiques peuvent modifier la sévérité et la progression de l'arthrose (Kerkhof et al., 2010; Valdes et al., 2010; Valdes and Spector, 2010; van Meurs et al., 2009). Les études chez les jumeaux ont permis d'établir que l'héritabilité de l'arthrose du genou et de la hanche, en tenant compte des autres facteurs de risque comme l'âge, le sexe et l'indice de masse

corporelle, était de 39 % et 60 %, respectivement (Lanyon et al., 2000; Zhai et al., 2007). Malgré la forte composante génétique, la recherche des gènes impliqués dans le risque de développer de l'arthrose est toujours un grand défi à cause de i) la forte hétérogénéité clinique de la maladie; ii) l'hétérogénéité entre les groupes ethniques; iii) la découverte de très nombreux *loci* ayant un très petit effet sur l'augmentation du risque; iv) l'absence de découverte de mutations rares ayant un effet important malgré de nombreuses études d'associations génétiques (Chapman and Valdes, 2012; Valdes and Spector, 2011). Pour illustrer ces propos, l'exemple du polymorphisme du gène GDF5 (un polymorphisme d'un seul nucléotide rs143383 dans la région 5'UTR du gène), un gène impliqué dans le développement de l'articulation et retrouvé dans ses différents tissus lors d'arthrose, est considéré comme important (Egli et al., 2009). Il n'est pourtant associé qu'à un facteur de chance de développer de l'arthrose du genou et de la hanche de 1,2 (Valdes et al., 2011) et 1,8 (Miyamoto et al., 2007), respectivement. Aucun variant rare pour ce gène n'a pu le lier au développement de l'arthrose indépendamment de son polymorphisme (Dodd et al., 2011). Récemment, les modifications épigénétiques¹ ont montré l'importance de leur rôle dans les modulations du risque de développer de l'arthrose. Par exemple, le gène GDF5 est soumis à une méthylation de son ADN qui peut modifier son expression allélique et donc la pénétrance et le sévérité de l'atteinte liées à ce gène (Reynard et al., 2011). Chez le chat, une prédisposition génétique existerait chez le Burmese et une telle prédisposition ne peut être écartée chez les sujets développant de l'arthrose multiple (Bennett et al., 2012a). Une seule étude a pour l'instant investigué la relation entre le développement de l'arthrose et l'expression génétique (Gao et al., 2013). Différents gènes impliqués dans les fonctions immunitaires, l'apoptose et la phosphorylation oxydative ont été identifiés comme surexprimés chez les chats arthrosiques comparés à une population contrôle. Cependant, l'utilisation de sang et non pas de tissus articulaires et le faible nombre d'animaux utilisés dans cette étude (29 chats arthrosiques et 35 chats contrôles) sont d'importantes limitations ne permettant pas encore de déterminer l'importance de cette découverte.

¹ L'épigénétique réfère aux changements héréditaires de l'expression génique qui se développent sans changement de la séquence primaire d'ADN suite à des mécanismes impliquant principalement la méthylation de l'ADN, les modifications des histones ou les ARNs non codants.

1.1.3 L'arthrose est une maladie du cartilage

L'arthrose a été longtemps considérée comme une maladie du cartilage. Même si son rôle a été atténué par le concept émergent de défaillance de l'ensemble de l'articulation (Loeser et al., 2012), la dégradation et la perte progressive du cartilage articulaire reste au cœur de l'initiation et du développement de la maladie (Loeser, 2008). Cette dégradation implique plusieurs mécanismes moléculaires partiellement élucidés et est secondaire à des changements dans la composition de la matrice extracellulaire et dans le métabolisme des chondrocytes (Bertrand et al., 2010; Goldring and Goldring, 2010).

L'intégrité de la structure du cartilage articulaire est primordiale pour assurer sa résistance aux forces de compression lors de la mise en charge. Cette fonction est assurée par la présence d'un réseau hautement organisé de collagène et d'amas de protéoglycanes assurant le maintien d'une force osmotique (cf. 1.1.1.1). Les agrécanes sont les premiers constituants de la matrice cartilagineuse qui sont endommagés et ils disparaissent du cartilage articulaire sous forme de fragments parallèlement à la sévérité de la maladie (Martel-Pelletier et al., 2008). En réponse à cette perte, les chondrocytes tentent d'augmenter la production de protéoglycanes. Particulièrement, une synthèse accrue d'amas d'agrécanes est observée au début de la maladie. La formation d'amas peut être vue comme une forme de protection face aux enzymes de dégradation. Mais, ces efforts de protection sont vains et la perte d'agrécanes est suivie d'une perte de collagène. Alors, au cours de la maladie une perte nette de matrice extracellulaire est présente entraînant une perte des propriétés mécaniques du cartilage articulaire (Bertrand et al., 2010). Cette perte progressive de protéoglycanes et de collagène est secondaire à l'action spécifique de différentes protéases produites par des chondrocytes, des fibroblastes ou des macrophages (Figure 1.1-2):

i) Les métalloprotéinases de la matrice extracellulaire (MMP). Les principales MMP impliquées dans la dégradation de la matrice cartilagineuse (le collagène et/ou les protéoglycanes) sont les collagénases (MMP-1, -8, -13 et -14), les gélatinases (MMP-2 et -9), la stromélysine-1 (MMP-3), MMP-14, -15, -16, -18 et -28 (Goldring and Marcu, 2009; Martel-Pelletier et al., 2008; Troeberg and Nagase, 2012).

ii) Les aggrecanases (Bertrand et al., 2010; Martel-Pelletier et al., 2008). Les aggrecanases appartiennent à la famille de métalloprotéinases ADAMTS (une désintégrine et métalloprotéinase avec un motif thrombospondine). Les enzymes ADAMTS-4 et ADAMTS-5 (aggrecanase 1 et aggrecanase 2, respectivement) ont un rôle central dans la destruction des protéoglycanes du cartilage articulaire, particulièrement lors de l'initiation de l'arthrose (Huang and Wu, 2008; Verma and Dalal, 2011). L'enzyme ADAMTS-5 pourrait jouer un rôle plus important (Troeberg and Nagase, 2012) et son activation est régulée par le récepteur transmembranaire syndecan-4 (Echtermeyer et al., 2009).

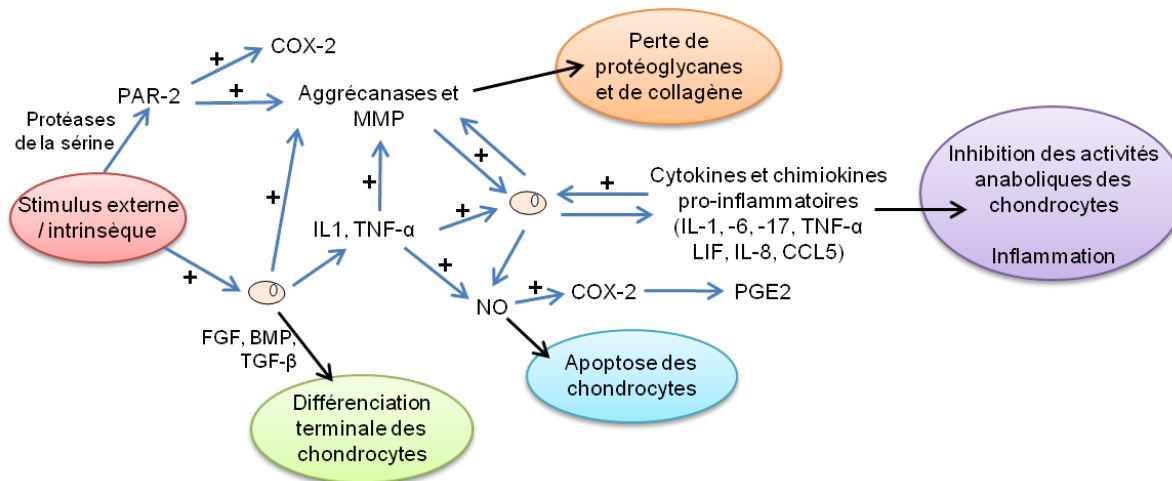
iii) Les protéinases de la sérine (*e.g.* l'uPa, la matriptase, la protéine C activée) et les protéinases de la cystéine (*e.g.* les cathepsines dont la cathepsine K, la calpaïne et la caspase) ont aussi un rôle plus ou moins important dans la destruction de la matrice extracellulaire et l'activation des MMP (Martel-Pelletier et al., 2008).

L'arthrose s'accompagne aussi d'une modification du métabolisme et des fonctions chondrocytaires (Figure 1.1-2). Les changements de la composition de la matrice extracellulaire et la perte de protéoglycanes entraînent une prolifération des chondrocytes (parfois retrouvés sous forme d'amas) et une perte partielle du phénotype articulaire. Physiologiquement, les chondrocytes gardent un phénotype stable et sont résistants à la prolifération et à la différenciation. Mais lors d'arthrose, les chondrocytes développent une différenciation terminale et deviennent hypertrophiques (Little et al., 2009). Cette hypertrophie est observée naturellement lors du phénomène d'ossification endochondrale (principal mécanisme de formation de l'os chez les vertébrés). Ainsi, suite à l'invasion vasculaire en provenance de l'os sous-chondral, les chondrocytes subissent une apoptose et le cartilage arthritique se minéralise (Bertrand et al., 2010). Ces changements sont modulés principalement par les facteurs de croissance FGF, BMP, TGF- β et par différentes voies de signalisation telles *Wnt/ β -caténine* (Cailotto et al., 2010; Lories et al., 2013; Lories and Luyten, 2005; Luyten et al., 2009), et *hedgehogs* (Lin et al., 2009).

Les modifications du métabolisme du cartilage articulaire sont aussi largement secondaires à différents médiateurs de l'inflammation agissant sur les chondrocytes. Ces médiateurs inhibent leurs activités anaboliques (principalement par la suppression de la synthèse de protéoglycanes, de protéines de liaison et du collagène du type II) et produisent

une boucle d'activation positive du catabolisme qui conduit à la production de protéases et d'autres facteurs inflammatoires (Goldring et al., 2008; Kapoor et al., 2011; Martel-Pelletier et al., 2008).

Figure 1.1-2 Les éléments clefs de la dégradation de la matrice cartilagineuse



La dégradation et la perte progressive du cartilage articulaire sont au cœur de l'initiation et du développement de l'arthrose. Suite à un stimulus externe ou intrinsèque le métabolisme chondrocytaire est modifié. D'une part sous l'action des facteurs de croissances FGF, BMP et TGF- β les chondrocytes subissent une différenciation terminale. D'autre part, sous l'action de médiateurs inflammatoires, les activités anaboliques des chondrocytes sont inhibées (principalement par la suppression de la synthèse de protéoglycannes, de protéines de liaison et du collagène du type II) et une boucle d'activation positive du catabolisme (production de protéases et de facteurs inflammatoires) est activée. Une perte nette de matrice extracellulaire est induite par l'action spécifique de différentes protéases (principalement les aggrécánases et les MMP) entraînant une perte des propriétés mécaniques du cartilage articulaire. Récemment, l'action de PAR-2 comme voie complémentaire d'activation des MMP et de l'inflammation a été mise en évidence. L'activation de la production NO par différentes cytokines pro-inflammatoires est aussi une voie fondamentale de dégradation du cartilage du fait de l'induction de l'apoptose chondrocytaire et de la synthèse de PGE₂.

Les facteurs inflammatoires majeurs dans la progression de la maladie synthétisés dans le cartilage sont :

i) Des cytokines pro-inflammatoires : les plus importantes sont l'IL-1 β , le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'IL-6 (Kapoor et al., 2011; Martel-Pelletier et al., 2008). Il est important de souligner ici que l'IL-1 β semble jouer à la fois un rôle dans l'activation des voies de signalisation cataboliques, mais aussi dans l'homéostasie du cartilage articulaire (Fan et al., 2007). D'autres cytokines telles l'IL-17 et -18, l'oconstatine M et le facteur inhibiteur de

leucémie (LIF), jouent aussi un rôle plus ou moins important (Kapoor et al., 2011; Martel-Pelletier et al., 2008).

ii) Le monoxyde d'azote (NO) est produit par le cartilage arthrosique. Il est responsable de l'apoptose des chondrocytes et de l'induction de la synthèse de cyclo-oxygénase (COX)-2 et de prostaglandine (PG)E₂ (Notoya et al., 2000).

iii) Les récepteurs activés par les protéases (PAR) : plusieurs PAR semblent importants, dont PAR-2 qui stimule les voies cataboliques et pro-inflammatoires et est capable d'induire la dégradation du cartilage (Boileau et al., 2007).

1.1.4 L'arthrose est une maladie de la membrane synoviale

L'arthrose s'accompagne la plupart du temps du développement d'une synovite (inflammation de la membrane synoviale) qui peut être présente même lorsque les dommages cartilagineux sont peu sévères (Sellam and Berenbaum, 2010; Sutton et al., 2009). La synovite est en général adjacente aux sites de dommages cartilagineux, mais ces derniers ne sont pas toujours reliés à des lésions synoviales (Ayril et al., 2005). Cette synovite est caractérisée par une hypertrophie et une hyperplasie de la membrane synoviale. Une augmentation du nombre de cellules synoviales, une infiltration multifocale de lymphocytes et de macrophages, et une néovascularisation sont aussi observées (Scanzello and Goldring, 2012; Sellam and Berenbaum, 2010). La synovite, bien que moins sévère que lors d'arthrites rhumatoïdes ou infectieuses est un processus clef dans la physiopathologie de l'arthrose. Elle est responsable en partie de la sévérité des signes cliniques, et reflète la progression structurale de la maladie (particulièrement l'épaississement synovial (Roemer et al., 2010)). Elle est aussi responsable de l'action de nombreux médiateurs (Scanzello and Goldring, 2012; Sellam and Berenbaum, 2010; Sutton et al., 2009). En effet, la membrane synoviale produit différentes molécules essentielles dans l'initiation et le développement de l'arthrose (Figure 1.1-3) :

i) Des médiateurs pro-inflammatoires : les plus importants sont encore l'IL-1 β et le TNF- α qui stimulent à leur tour la synthèse de différentes MMP, cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (Kapoor et al., 2011; Scanzello and Goldring, 2012; Sellam and Berenbaum, 2010; Sutton et al., 2009). Ces molécules sont produites par les synoviocytes activés et les macrophages. Elles stimulent les chondrocytes et les cellules synoviales à produire d'autres

cytokines (principalement l'IL-6 et -8 et le LIF) et de la PGE₂. Les macrophages jouent un rôle central dans le maintien de la réaction inflammatoire et de sa propagation par l'induction d'IL-6 et -8, du LIF, et des MMP-1 et -3 (Bondeson et al., 2006).

ii) Des neuropeptides : différents neuropeptides sont synthétisés par la membrane synoviale contribuant à la réponse inflammatoire et à l'initiation et au maintien de la douleur arthrosique (Sellam and Berenbaum, 2010; Sutton et al., 2009). Les plus importants sont, la bradykinine, un peptide vasodilatateur et inflammatoire qui contribue à la sensibilisation nerveuse, et la substance P (SP) qui induit la production de PGE₂ et de collagénases par les synoviocytes. D'autres peptides tels la corticolibérine, l'urocortine, le peptide intestinal vasoactif (VIP) et le facteur de croissance neuronale (NGF) sont aussi impliqués.

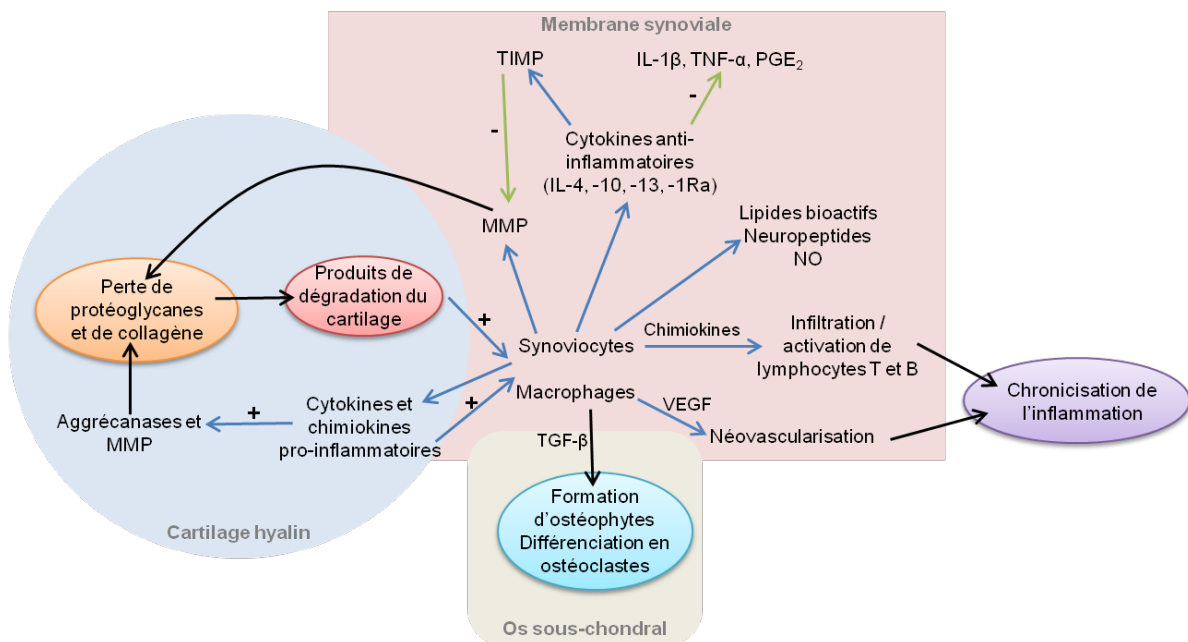
iii) Des cytokines anti-inflammatoires : pour tenter de diminuer la réponse inflammatoire, la membrane synoviale (et aussi dans une certaine mesure les chondrocytes) synthétise différentes cytokines anti-inflammatoires, dont l'IL-4, -10, -13 et -1Ra (inhibiteur compétitif du récepteur de l'IL-1β). Ces cytokines stimulent la synthèse de IL-1Ra et d'inhibiteur tissulaire de MMP (TIMP), et diminuent la production de PGE₂, d'IL-1β, de TNF-α et de MMP (Scanzello and Goldring, 2012; Sellam and Berenbaum, 2010; Sutton et al., 2009).

iv) Le facteur de croissance de vaisseaux endothéliaux (VEGF). Ce facteur pro-angiogénique est augmenté dans la membrane synoviale indiquant la présence d'un phénomène de néovascularisation. Ce phénomène pourrait contribuer à la transition de la phase aiguë à la phase chronique de l'inflammation et aider l'infiltration de la membrane cellulaire par les cellules inflammatoires (Bonnet and Walsh, 2005; Walsh et al., 2007).

Même la présence d'une faible synovite produit de nombreux facteurs pro-inflammatoires contribuant à la production de PGE₂, de NO et de leucotriènes (LT)B₄ qui augmentent le catabolisme articulaire. Aussi la synovite favorise l'induction des nombreuses protéases impliquées dans la destruction du cartilage articulaire (Scanzello and Goldring, 2012; Sellam and Berenbaum, 2010). Les synoviocytes participent aussi directement à la production de MMP (particulièrement les MMP-1, -3, -9 et -13). Finalement, il est important de noter la contribution des macrophages de la membrane synoviale dans la composante

osseuse de la maladie. Ils participent à la formation des ostéophytes sous le contrôle des TGF- β (van Lent et al., 2004) et peuvent se différencier en ostéoclastes (Adamopoulos et al., 2006; Blom et al., 2004). Cela souligne la forte interrelation des différentes composantes de l'articulation dans la progression de l'arthrose.

Figure 1.1-3 La membrane synoviale au centre des événements biopathologiques de l'arthrose



La membrane synoviale est affectée par une inflammation qui est responsable en partie de la sévérité des signes cliniques, et reflète la progression structurale de l'arthrose. Les synoviocytes et les macrophages synoviaux produisent différentes molécules essentielles dans l'initiation et le développement de la maladie : des MMP, cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, des lipides bioactifs, des neuropeptides et du NO. Le VEGF est augmenté dans la membrane synoviale contribuant à la chronicisation de l'inflammation.

Les macrophages synoviaux participent à la formation des ostéophytes sous le contrôle des TGF- β et peuvent se différencier en ostéoclastes.

La membrane synoviale produit aussi des cytokines anti-inflammatoires pour tenter de diminuer la réponse inflammatoire.

1.1.5 L'arthrose est une maladie de l'os sous-chondral

L'arthrose s'accompagne de différentes lésions de l'os sous-chondral telles la présence d'ostéophytes, de lésions de la moelle osseuse sous-jacente, la sclérose, et la formation de kystes (Goldring and Goldring, 2010; Goldring, 2008; Goldring, 2009; Kwan Tat et al., 2010). L'arthrose est aussi caractérisée par des changements du métabolisme osseux et une perte

d'intégrité de la jonction ostéochondrale. L'ensemble de ces changements ont des conséquences délétères sur les propriétés biomécaniques de l'articulation qui devient moins congruente, moins résistante et dont les capacités d'absorption des chocs diminuent (Goldring, 2009; Suri and Walsh, 2012; Weinans et al., 2012).

Les ostéophytes sont des excroissances fibrocartilagineuses et osseuses présentes au pourtour de l'articulation. L'initiation de la formation des ostéophytes est secondaire à la prolifération de cellules périostées qui se différencient en chondrocytes. Ces chondrocytes forment alors les ostéophytes *via* le processus classique d'ossification endochondrale (van der Kraan and van den Berg, 2007). Ce processus est modulé par différents facteurs de croissance dont TGF- β (Goldring, 2009; Scharstuhl et al., 2003). Les ostéophytes peuvent être présents avec ou sans lésions cartilagineuses (Goldring, 2008). Il y a une association positive entre les sites de forte mise en charge et leur présence. Les ostéophytes pourraient représenter une adaptation osseuse à des facteurs mécaniques locaux qui contribuent au maintien de la stabilité articulaire (Messent et al., 2007; van der Kraan and van den Berg, 2007). Ce mécanisme a également été proposé récemment dans le développement de l'arthrose canine sur la base d'un suivi longitudinal d'une cohorte de chiens (Moreau et al., 2013).

Les lésions de moelle osseuse sont des lésions focales à bords diffus. Elles sont un mélange de nécrose, de fibrose et d'œdème et sont associées à la présence de microfractures (Zanetti et al., 2000). Les kystes sous-chondraux sont des lésions focales bien délimitées et constituées par de la nécrose osseuse (Bancroft et al., 2004). Ces lésions sont fortement associées aux zones de dommages du cartilage articulaire et corrèlent positivement avec la progression clinique et structurale de l'arthrose (Eckstein et al., 2012; Hunter et al., 2006; Oda et al., 2008; Raynauld et al., 2009; Taljanovic et al., 2008). Les lésions de moelle osseuse sont retrouvées dans des régions de fort remodelage osseux et pourraient être secondaires à un trauma de l'os ou à des défauts mécaniques de l'articulation (Hunter et al., 2009; Lowitz et al., 2013).

Le remodelage osseux présent au niveau de l'os sous-chondral a fait l'objet de nombreuses études parfois contradictoires. Il semble que précocement dans le développement de la maladie, l'os sous-chondral est l'objet de résorption osseuse. L'os sous-chondral montre alors une diminution de l'épaisseur des trabécules osseux et une augmentation des ostéoclastes

et des protéases dont la cathepsine K et la MMP-13 (Kwan Tat et al., 2010; Weinans et al., 2012). Par contre, avec la progression de la maladie, l'os sous-chondral se sclérose, montrant une augmentation de volume et un plus grand nombre de trabécules osseux (Cox et al., 2013; Kwan Tat et al., 2010).

De plus, le métabolisme osseux semble augmenté avec la présence d'un renouvellement anormalement haut et d'une matrice osseuse peu minéralisée. Ces modifications du métabolisme osseux sont secondaires principalement à la suractivation de deux voies de signalisation : i) Wnt/ β caténine qui favorise la minéralisation osseuse ; ii) ostéoprotégérine (OPG) / *receptor activator of nuclear factor- κ B* (RANKL) qui stimule la formation et l'activité des ostéoclastes. Ces modifications sont aussi maintenues par la surexpression de facteurs de croissance dont IGF et TGF- β qui stimulent l'ostéogenèse (Kwan Tat et al., 2010; Lories et al., 2013; Suri and Walsh, 2012; Weinans et al., 2012).

Alors que les changements tardifs de l'os sous-chondral semblent communs à l'humain et aux différents modèles animaux d'arthrose (particulièrement le chien, les cochons d'Inde et les rongeurs), le chat ne semble pas démontrer d'épaississement de l'os sous-chondral lors du développement de la maladie. Le chat montre cependant des changements précoces de l'os sous-chondral (diminution de la minéralisation) que ce soit après une induction d'arthrose par rupture du ligament croisé crânial (Boyd et al., 2005) ou lors d'arthrose naturelle au niveau des coudes (Ryan et al., 2013). Il semble aussi que les chats présentent moins d'ostéophytes (Boyd et al., 2005; Lascelles, 2010). Alors que les changements observés au niveau du cartilage articulaire et de la membrane synoviale sont très similaires aux autres espèces, l'observation de changements osseux qui semblent différer n'a pas encore d'explication et devra être approfondie pour savoir s'il s'agit d'une différence temporelle (développement plus lent) ou métabolique (différences dans les voies de signalisation ou enzymatiques).

Finalement, un élément important de la pathogénie de l'os sous chondral lors d'arthrose est la perte de l'intégrité de la jonction ostéochondrale (Figure 1.1-4). L'augmentation de l'activité ostéoclastique entraîne la formation de canaux à travers le plateau sous-chondral et le cartilage non calcifié. La duplication de la *tidemark* est le résultat de l'avancement du front d'ossification à travers le cartilage non calcifié. Il en résulte alors une perte de la séparation physicochimique entre les compartiments osseux et cartilagineux

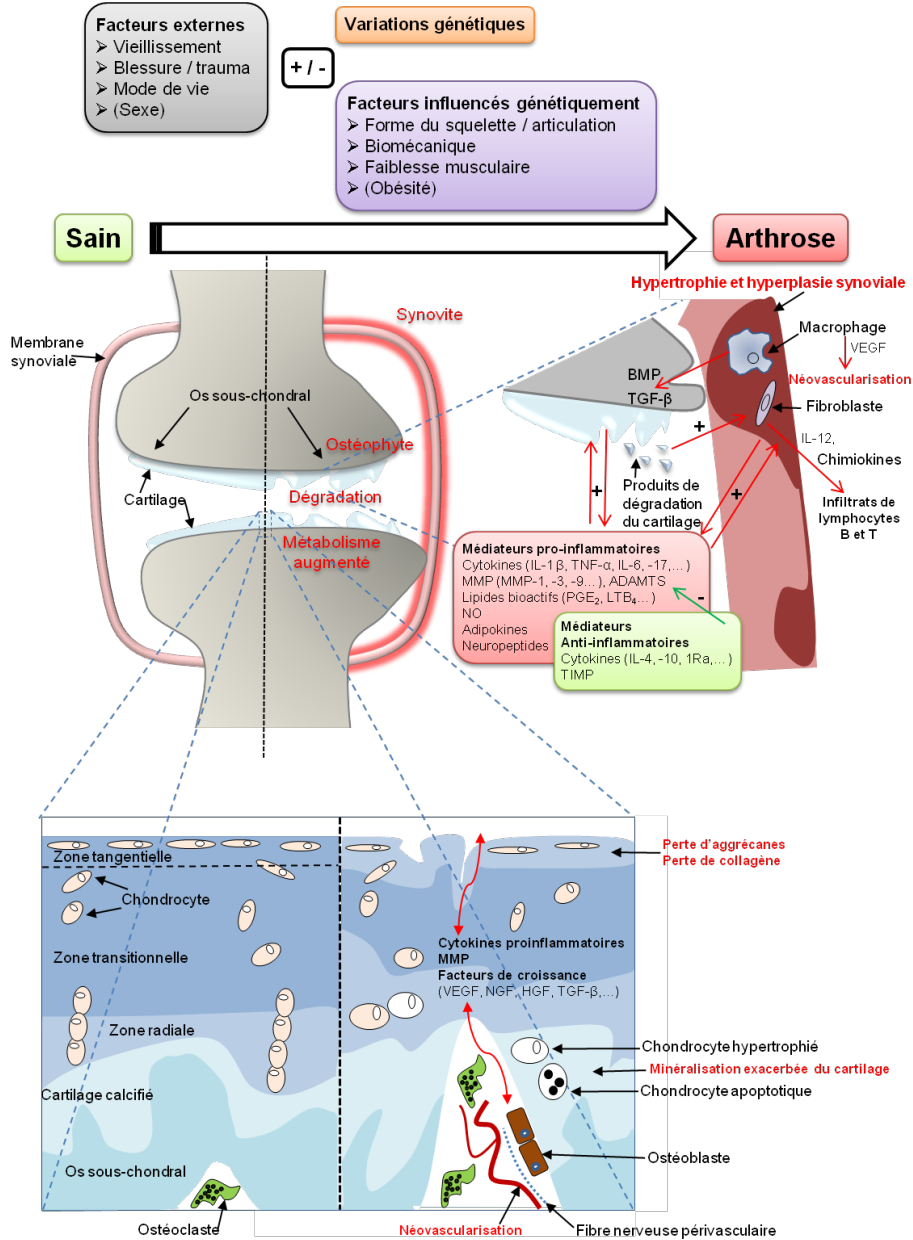
contribuant à l'aggravation des lésions cartilagineuses et à la perte de l'intégrité biomécanique et biochimique du cartilage. Cette perte d'intégrité stimulée par le facteur de croissance des hépatocytes (HGF), fait en sorte que l'os sous-chondral est soumis à l'action de différentes cytokines, protéases et facteurs de croissance présents dans l'articulation arthrosique. Par exemple, le NGF stimule la sensibilisation des nerfs présents, alors que le VEGF en provenance des chondrocytes stimule le métabolisme osseux. D'un autre côté, la néo-angiogenèse qui accompagne le front d'ossification expose les chondrocytes à des facteurs de différenciation conduisant à leur hypertrophie et à l'avancement de l'ossification endochondrale (Kwan Tat et al., 2010; Mapp and Walsh, 2012; Suri and Walsh, 2012; Weinans et al., 2012).

1.1.6 L'arthrose est une maladie mécano-inflammatoire

Lors du développement d'arthrose, un déplacement d'équilibre est induit entre activités anaboliques et cataboliques des enzymes normalement impliquées dans la formation, le remodelage et la réparation des tissus connectifs conduisant à une défaillance de l'ensemble de l'articulation (Figure 1.1-4) incluant le cartilage articulaire, la membrane synoviale, l'os sous-chondral et parfois les tendons et les structures de support de l'articulation (Loeser et al., 2012). L'évènement initiateur de ce déséquilibre n'est pas encore connu et les hypothèses font encore débat (Berenbaum, 2013; Felson, 2013; Sellam and Berenbaum, 2013).

L'arthrose peut être considérée comme une maladie secondaire au mouvement ou aux forces physiques soumises à l'articulation. L'arthrose serait alors initiée par une augmentation des forces dans une région focale de l'articulation (Felson, 2013; Guilak, 2011). L'augmentation des forces peut être due à une anatomie anormale de l'articulation (*e.g.* la dysplasie acétabulaire, le conflit fémoro-acétabulaire, les *varus* ou *valgus* des membres), ou à un excès de mise en charge suite à une blessure (*e.g.* la rupture d'un ligament articulaire ou péri-articulaire, une lésion méniscale) ou l'obésité (Baker-LePain and Lane, 2012; Felson, 2013). Ensuite, une fois que l'arthrose se développe, la mécanique anormale de l'articulation entraîne une dégradation de la maladie et le plus souvent l'inflammation est secondaire aux déficits mécaniques de l'articulation (Felson, 2013).

Figure 1.1-4 Synthèse schématique de la pathogénie de l'arthrose



L'arthrose est une maladie multifactorielle dont les facteurs de risque sont une instabilité mécanique de l'articulation, l'âge et une combinaison de facteurs génétiques (le sexe et l'âge sont des facteurs de risque chez l'humain mais ne semblent pas l'être chez le chat). Lors d'arthrose, un déplacement d'équilibre est induit entre activités anaboliques et cataboliques ce qui conduit à une défaillance de l'ensemble de l'articulation incluant le cartilage articulaire, la membrane synoviale et l'os sous-chondral. L'arthrose conduit toujours à la déstabilisation de l'articulation et à la dégradation du cartilage articulaire. Parallèlement, le tissu synovial et l'os sous-chondral sont soumis à des modifications localisées mais importantes, en grande partie secondaires à l'activité inflammatoire qui s'y développe. D'après Kapoor et al., 2011, Sellam and Berenbaum, 2010 et Suri and Walsh, 2012.

L'arthrose peut aussi être considérée comme une maladie inflammatoire (Berenbaum, 2013). Différents médiateurs inflammatoires (dont l'IL-1 β et le TNF- α) produits par les différents tissus de l'articulation jouent un rôle primordial dans l'initiation et le maintien de l'arthrose et sont délétères pour le cartilage, la membrane synoviale et l'os sous-chondral (Berenbaum, 2013; Kapoor et al., 2011). De plus, de nombreuses études suggèrent que la réponse inflammatoire présente dans l'arthrose s'accompagne d'une réponse immunitaire marquée par l'infiltration de macrophages, de cellules T et B, ainsi que d'une activation du complément (Haseeb and Haqqi, 2013; Scanzello and Goldring, 2012; Wang et al., 2011). La membrane synoviale joue un rôle central dans l'initiation et le maintien de l'inflammation locale (Haseeb and Haqqi, 2013). Des fragments de cartilage rentrant en contact avec la membrane synoviale pourraient initier la production de médiateurs inflammatoires qui activeraient la production de MMP par les chondrocytes alors activés et aggraverait la destruction du cartilage articulaire. Cette cascade serait initiée par des récepteurs de type Toll qui ont un rôle dans l'immunité innée par leur reconnaissance de motifs moléculaires associés aux pathogènes (Berenbaum, 2013; Haseeb and Haqqi, 2013; Scanzello and Goldring, 2012). L'importance de l'immunité innée est aussi soulignée par le rôle primordial des macrophages synoviaux dans la production d'IL-1 β , de TNF- α et de MMP-1 et -3. Par la suite, les médiateurs inflammatoires peuvent stimuler l'angiogenèse (dans la membrane synoviale et l'os sous-chondral), stimuler la production de cytokines pro-inflammatoires, de MMP, de NO et de PGE₂ par les différents tissus de l'articulation, engendrant un cercle vicieux (Berenbaum, 2013; Haseeb and Haqqi, 2013; Kapoor et al., 2011). La voie de signalisation du facteur de transcription nucléaire NF- κ B est le régulateur principal de la réponse inflammatoire stimulée par l'IL-1 β et le TNF- α . L'activation de cette voie de signalisation conduit à l'expression de gènes inflammatoires contribuant à la formation de NO, de COX-2, de chimiokines, de différentes MMP et d'ADAMTS-4 et -5 (Haseeb and Haqqi, 2013; Kapoor et al., 2011; Rigoglou and Papavassiliou, 2013). D'autres voies de signalisation cellulaires sont aussi impliquées dans la régulation de la réponse inflammatoire telle les voies de signalisation des protéines kinases activées par les substances mitogènes N-terminale c-Jun et p38, et la voie de signalisation Wnt/ β caténine (Kapoor et al., 2011).

Actuellement, il semble que l'hypothèse la mieux acceptée soit que l'initiation de l'arthrose soit parfois une lésion cartilagineuse secondaire à un stress mécanique, parfois une atteinte inflammatoire, et parfois une combinaison de ces événements (Rannou et al., 2010).

1.2 Détection de l'arthrose féline

1.2.1 Son importance et sa localisation

La première description disponible de l'arthrose féline remonte à 1964 au niveau du squelette axial (Beadman et al., 1964). Cependant, les tentatives d'évaluation de la prévalence de l'arthrose chez le chat sont récentes ; la première étude extensive date de 2002 (Hardie et al., 2002). L'estimation de la prévalence de l'arthrose varie largement selon les études. Ces variations s'expliquent en grande partie par le type d'étude (études rétrospectives *versus* études prospectives), de l'âge d'inclusion des animaux, mais aussi de la définition de l'arthrose. Certaines études définissent l'arthrose sous le terme maladies articulaires dégénératives. Pourtant, ce terme englobe aussi les arthrites infectieuses, les spondyloses déformantes et les arthrites inflammatoires non septiques (*e.g.* spondylarthropathies et arthrite rhumatoïde) qui sont distinctes dans leurs processus physiopathologiques.

La première étude extensive tentant d'établir la prévalence de l'arthrose féline est une étude rétrospective non randomisée incluant 100 chats âgés de 12 ans et plus dont l'âge moyen (\pm ET) était 15,2 (\pm 1,9) ans (Hardie et al., 2002). Cette étude a établi suite à l'évaluation d'examen radiographiques que 90 % des chats de son échantillon étaient atteints d'une maladie articulaire dégénérative d'au moins une articulation, dont 64 % au niveau appendiculaire. Il est ici considéré que l'arthrose est la cause principale des maladies articulaires dégénératives appendiculaires, mais les différents types de pathologie ne sont pas distingués les uns des autres. De plus, moins de 20 % des chats présentaient dans leur dossier des radiographies des hanches, des genoux et des carpes. Ainsi, il est possible d'extrapoler de cette étude que l'arthrose semble assez fréquente chez les chats gériatriques, mais il n'est pas possible d'établir raisonnablement la prévalence de l'arthrose, ni les sites anatomiques les plus souvent ou les plus sévèrement atteints.

Deux autres études rétrospectives renseignent un peu plus sur la prévalence radiographique de l'arthrose dans la population générale féline. La première (Clarke et al., 2005) s'intéressait aussi aux maladies articulaires dégénératives, mais définissait spécifiquement les atteintes arthrosiques par rapport aux autres maladies articulaires dégénératives. Elle rapporte alors une prévalence de l'arthrose de 16,5 % au sein de son échantillon de 218 chats (âge des chats arthrosiques non précisé spécifiquement). Les articulations plus fréquemment atteintes d'arthrose étaient les articulations coxo-fémorales (51 %) et des coudes (26,5 %). La seconde étude (Godfrey, 2005), se concentrait uniquement sur l'arthrose radiographique et rapporte une prévalence de 22 % dans l'échantillon étudié de 292 chats (âge moyen des chats arthrosiques de 10,8 ans [2-19 ans]). Les lésions radiographiques d'arthrose ont été détectées plus fréquemment dans les articulations des coudes (55,5 %), des genoux (24,5 %) et coxo-fémorales (17 %). Des lésions bilatérales étaient présentes dans 65 % des chats arthrosiques.

Par la suite, deux équipes ont mené une étude prospective. Cette démarche permet une extrapolation de l'estimation de la prévalence à la population féline en général si la création de l'échantillon aléatoire est bien représentative de celle-ci. La première (Lascalles et al., 2010b), est une étude randomisée, stratifiée pour l'âge (4 strates de 5 ans entre 0 et 20 ans ont été arbitrairement proposées ; âge moyen de 9,4 (\pm 5,1) ans) et provenant d'une seule pratique professionnelle féline en Caroline du Nord (États-Unis d'Amérique). Malheureusement, cette étude définit l'arthrose au sein des maladies articulaires dégénératives sans l'y différencier. La prévalence rapportée des maladies articulaires dégénératives est globalement de 92 % (de 80% pour les chats de 0-5 ans; de 88% pour les chats de 5-10 ans, et de 100 % pour les deux dernières strates). Globalement, une articulation appendiculaire était atteinte dans 55% des cas. Les articulations les plus atteintes étaient les articulations coxo-fémorales (65 %), des genoux (50 %), des tarse (40 %) et des coudes (35 %). Jusqu'à 80 % des chats arthrosiques présentaient une atteinte bilatérale des articulations appendiculaires. La deuxième étude (Slingerland et al., 2011) a étudié la présence d'arthrose radiographique d'une population de chats de 6 ans et plus (âge médian de 11 ans) choisis aléatoirement au sein des animaux référés à l'hôpital vétérinaire d'enseignement de l'université d'Utrecht (Pays-Bas). Soixante et un pourcent des chats présentaient des signes radiographiques d'arthrose dans au moins une

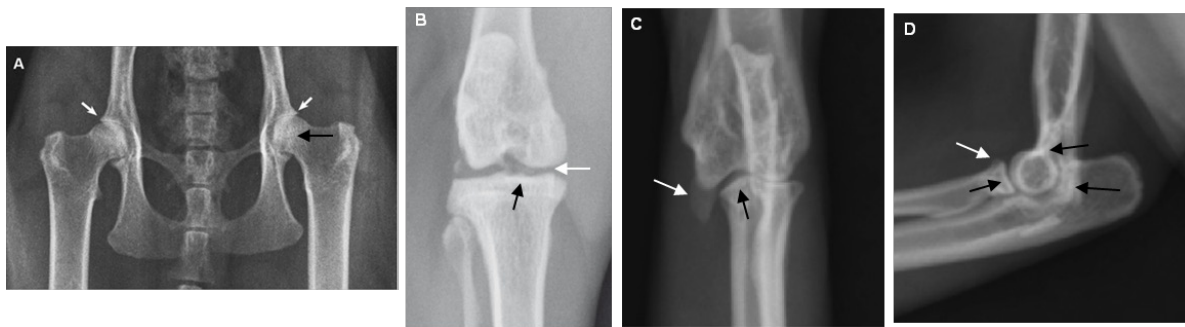
articulation appendiculaire, 48 % dans une et plus (soit 78 % des chats arthrosiques) et 75 % des chats arthrosiques présentaient une atteinte bilatérale d'au moins un type d'articulation (33 % d'entre eux présentaient une atteinte bilatérale multiple). L'arthrose était plus présente dans les articulations coxo-fémorales (80 %), des épaules (61 %), et des coudes (44 %). Pour les chats âgés de 14 ans et plus, la prévalence observée était de 82 %.

Aucune de ces études ne permet d'établir une prévalence exacte et précise de l'arthrose féline, mais il est possible de conclure que l'arthrose est une maladie très fréquente chez le chat, particulièrement chez les chats âgés. L'arthrose se développe le plus souvent dans plusieurs articulations d'un même individu, particulièrement dans les articulations du coude, coxo-fémorale, du tarse et de l'épaule.

1.2.2 Les limites de l'examen radiographique

Les études précédentes (Clarke et al., 2005; Godfrey, 2005; Hardie et al., 2002; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011) utilisent la radiographie comme examen de détection des lésions dégénératives de l'articulation. Les lésions radiographiques principales de l'arthrose féline sont les ostéophytes et la sclérose de l'os sous-chondral (Bennett et al., 2012a). Peuvent y être associés dans certaines articulations l'épanchement articulaire (par exemple, même si présent macroscopiquement, l'épanchement articulaire n'est pas détectable radiographiquement dans l'articulation coxo-fémorale du chat), les kystes sous-chondraux, les enthesiophytes et les minéralisations tissulaires intra et périarticulaires. La présence d'enthesiophytes et de minéralisations tissulaires intra et périarticulaires posent souvent problème dans la caractérisation de l'arthrose radiographique (Clarke et al., 2005). En effet, ces lésions peuvent être présentes de manière indépendante à la présence des lésions d'arthrose. Notamment, lors de la présence d'autres maladies articulaires dégénératives telles les spondyloses déformantes des disques intervertébraux qui ne sont pas des articulations synoviales (Freire et al., 2010). Ainsi ces dernières lésions devraient être classifiées et rapportées indépendamment des lésions arthrosiques. De même, la présence d'arthrose et de maladies articulaires dégénératives devraient être distinguées l'une des autres (Bennett et al., 2012a; Clarke et al., 2005).

Figure 1.2-1 Exemples de radiographies



Projections radiographiques ventro-dorsales des articulations coxo-fémorales (A), du genou (B) et du coude (C) et projection médio-latérale d'une articulation du coude (D) présentant des signes d'arthrose. Les flèches indiquent la présence d'ostéophytes. La sclérose de l'os sous-chondral légère à modérée (coude) est indiquée par les flèches noires. A noter que la minéralisation visible en partie latérale de l'articulation du genou se situe dans le ménisque latéral et n'est pas considérée comme un signe d'arthrose, mais de maladies dégénératives articulaires. D'après Kerwin, 2010 et Lascelles et al., 2010b.

Lors de l'évaluation radiographique de l'arthrose chez le chat, plusieurs auteurs ont remarqué qu'il semblait y avoir une discordance entre arthrose radiographique et expression clinique de la maladie. Ainsi, dans une étude préliminaire (Clarke and Bennett, 2006), 34 % des articulations douloureuses ne présentaient aucun signe d'arthrose radiographique. Dans un autre échantillon de chats arthrosiques seules 33 % des articulations arthrosiques radiographiquement présentaient de la douleur lors de l'examen orthopédique (Lascelles et al., 2007b). De manière rétrospective, seuls 33 % des chats arthrosiques radiographiquement présentaient des problèmes de mobilité (Godfrey, 2005), et peu d'animaux étaient rapportés avec des signes cliniques dans deux autres études avec 4 % et 16,7 % des chats arthrosiques présentant une boiterie (Clarke et al., 2005; Hardie et al., 2002). Bien que les informations d'études rétrospectives puissent être manquantes, biaisées ou erronées, l'idée a été ensuite véhiculée que l'arthrose n'induisait que peu de boiterie chez le chat (Bennett et al., 2012a). Récemment, une étude s'est attardée à évaluer systématiquement la relation entre l'examen orthopédique et les signes de maladies articulaires dégénératives (Lascelles et al., 2012). Les résultats de l'examen orthopédique montraient une bonne à très bonne spécificité pour la présence d'arthrose radiographique (entre 62 et 100 %). De manière intéressante, la présence de crépitements, d'épanchement articulaire et d'épaississement de la capsule articulaire montraient des valeurs prédictives négatives presque toujours plus élevées que leurs valeurs

prédictives positives pour la présence de dégénérescence radiographique des articulations du genou, de l'épaule, du coude et du carpe. Seules les articulations coxo-fémorales et du tarse présentaient de très bonnes valeurs prédictives positives comprises entre 75 et 90 % qui était supérieures à leurs valeurs prédictives négatives (comprises entre 20 et 65 %). La présence subjective de douleur lors de l'examen orthopédique avait quant à elle de bonnes à très bonnes valeurs prédictives négatives comprises entre 60 et 91 % à part pour les articulations coxo-fémorales (environ 40 %). Ces résultats sont plutôt en accord avec les observations de Slingerland *et al* (2011) qui suggéraient que seule la manipulation des articulations coxo-fémorales et des coudes présentaient une bonne sensibilité envers la présence d'arthrose radiographique (90 et 71 %, respectivement) et que les examens orthopédiques de toutes les articulations appendiculaires présentaient une très bonne spécificité (entre 87 et 100 %). Ainsi l'examen orthopédique ne permet pas de détecter correctement les chats présentant des lésions radiographiques (sauf peut être au niveau des articulations coxo-fémorales), mais l'absence de toute anomalie, particulièrement l'absence de douleur est très prédictive de radiographies normales.

Pour essayer de comprendre la possible inadéquation entre la présence de lésions radiographiques et les résultats de l'examen clinique, une étude s'est penchée sur la problématique du lien entre la présence d'arthrose radiographique (en fait de maladies dégénératives articulaires des membres) et la présence réelle de dégénérescence des composantes de l'articulation (Freire et al., 2011). Cette étude non randomisée a utilisé 15 chats euthanasiés présentant des lésions dégénératives des articulations du coude, du tarse, du genou et coxo-fémorales et 15 chats présentant des radiographies normales, globalement d'âge moyen de 12 (\pm 4) ans. L'évaluation radiographique a alors été comparée à une évaluation macroscopique de l'articulation. Une corrélation significative a été détectée entre la présence radiographique d'ostéophytes et le score radiographique ou la présence de lésions cartilagineuses (Tau de Kendall = 0,3 et 0,35 respectivement). Individuellement, les articulations du coude (0,52 et 0,5, respectivement) et coxo-fémorale (0,43 et 0,42, respectivement) présentaient les meilleures corrélations. De nombreuses articulations normales radiographiquement présentaient des lésions cartilagineuses : celle du genou (71 %), coxo-fémorale (57 %), du coude (57 %) et du tarse (46 %). Il est regrettable que cette étude

n'ait pas utilisé un échantillon aléatoire de chats dans la population normale. Les résultats ont alors un fort risque de biais dû au pourcentage anormalement haut de chats sans arthrose radiographique. Il aurait donc été intéressant d'exposer les résultats en différenciant les 2 groupes d'études et aussi en fonction du nombre de chats, plutôt que de regrouper les résultats en fonction de l'articulation car les pourcentages sont alors difficiles à interpréter et à généraliser. Bien qu'imparfaite, cette étude indique que la détection radiographique de l'arthrose chez le chat semble manquer de sensibilité et que l'évaluation radiographique n'est pas suffisante pour écarter l'absence d'arthrose chez le chat.

Chez l'humain, la radiographie est traditionnellement utilisée pour diagnostiquer la présence d'arthrose et grader sa sévérité. Cependant, la radiographie est peu spécifique (Guermazi et al., 2011a) et incapable de détecter les changements précoces secondaires à l'arthrose (Kraus, 2010). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est maintenant considérée comme l'outil de référence, plus puissant que la radiographie pour détecter précocement l'ensemble des changements articulaires et suivre leur progression (Ding et al., 2013; Guermazi et al., 2011b). Aucune étude d'IRM n'est rapportée pour l'évaluation de l'arthrose chez le chat et son utilisation sera discutée dans la section Discussion de la présente thèse.

1.3 La douleur d'origine arthrosique est-elle pathologique ?

1.3.1 Un résumé des bases essentielles en physiologie de la douleur

1.3.1.1 Définir la douleur animale

Le concept de douleur chez l'animal a été longtemps une source de débat et de controverse. Aidé du fait que les animaux possèdent des bases neuro-anatomiques et neurophysiologiques similaires à l'humain, il est maintenant bien établi que les animaux sont capables de ressentir une expérience douloureuse semblable à celle décrite chez l'humain. Chez l'humain, la douleur est définie par l'*International Association for the Study of Pain* comme « *An unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage, or described in terms of such damage.* » (www.iasp-pain.org/Education; Une

expérience sensorielle et émotionnelle déplaisante associée à la présence d'une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en ces termes.). Comme les animaux ne sont pas capables de décrire leurs expériences émotionnelles, la douleur a été définie comme une expérience sensorielle causée par une blessure réelle ou potentielle qui entraîne des réactions protectrices et végétatives, qui conduit à un apprentissage et qui peut modifier les comportements spécifiques à l'espèce (Zimmerman, 1986). Cette définition a été amendée dans le contexte d'une douleur nociceptive en proposant qu'un animal en douleur devait apprendre rapidement à éviter le stimulus nociceptif et démontrer des changements marqués de comportement qui ont une fonction protectrice permettant de diminuer l'apparition de nouvelles blessures ou de douleur et qui favorise la guérison (Sneddon, 2009).

La douleur peut être classée en deux grandes catégories : la douleur nociceptive et la douleur neuropathique. La douleur nociceptive peut être d'origine somatique, viscérale ou inflammatoire. Elle est en principe passagère et protectrice pour favoriser la guérison. La douleur neuropathique peut être neurogénique ou fonctionnelle. Elle est secondaire à des lésions du système nerveux ou de dysfonctions du système nerveux central. Quand la douleur nociceptive se chronicise, elle perd sa fonction protectrice, devient pathologique et se rapproche des caractéristiques des douleurs neuropathiques (Marchand, 2008; Woolf, 2004).

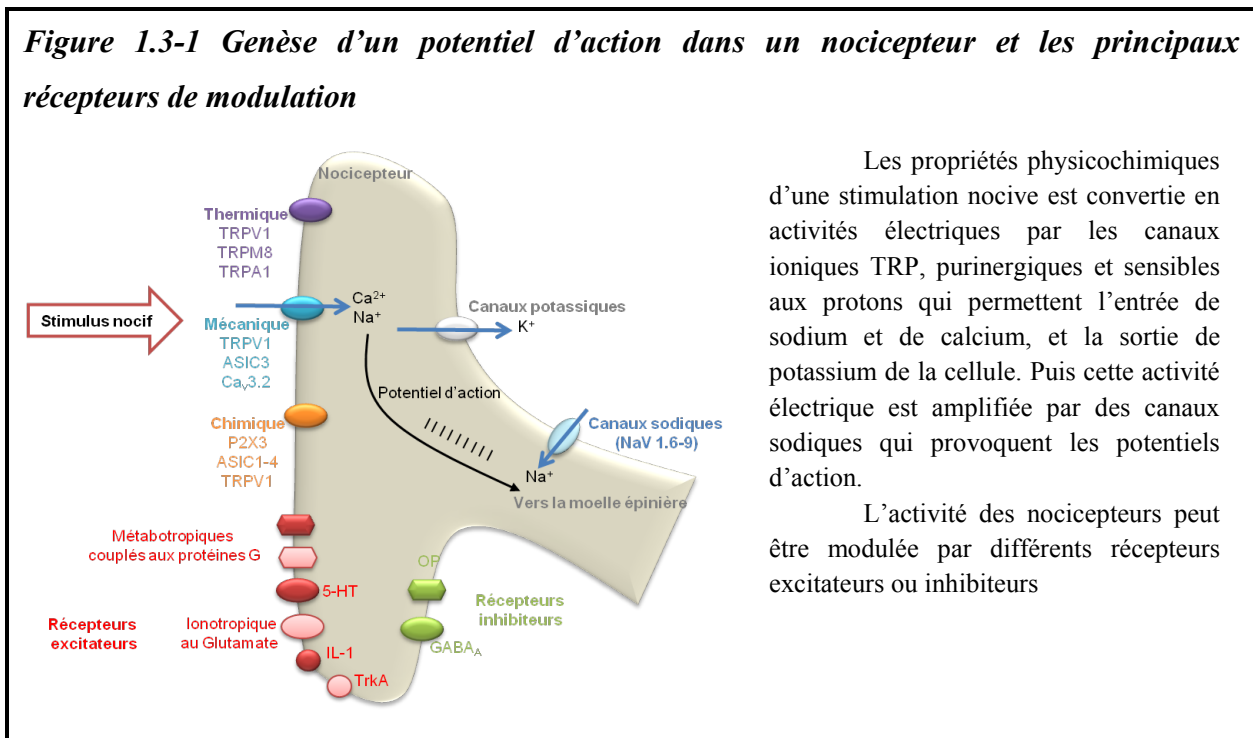
1.3.1.2 Les voies de la douleur nociceptive

1.3.1.2.1 Réception et conduction périphérique du signal nociceptif

Une stimulation nociceptive ayant un risque potentiel pour l'organisme est perçue par la terminaison libre de nerfs spécialisés présents dans la peau, les muscles, les articulations ou les viscères : les nocicepteurs. Les nocicepteurs sont distincts des autres senseurs du fait qu'ils sont les seuls à coder les stimulations dans l'intervalle d'intensité nocive, *i.e* ils possèdent un haut seuil d'activation (Gold and Gebhart, 2010). Les nocicepteurs peuvent être classés en fonction du profil de réponse afférent. Il est alors possible de distinguer i) les nocicepteurs polymodaux qui répondent aux stimulations mécaniques, thermiques et chimiques ; ii) les nocicepteurs mécano-froids qui répondent aux stimulations mécaniques et intensément froides ; iii) les nocicepteurs insensibles aux stimulations mécaniques (Gold and Gebhart, 2010). Les propriétés physicochimiques des stimulations sont converties en activités électriques par les

canaux ioniques TRP (*Transient Receptor Potential* ; e.g. TRPV1, TRPM8 et TRPA1), purinergiques (e.g. P2X3) et sensibles aux protons (e.g. ASIC1-4) qui permettent l'entrée de sodium et de calcium, et la sortie de potassium de la cellule. Puis cette activité électrique est amplifiée par des canaux sodiques (e.g. NaV1.6-9) qui provoquent les potentiels d'action (Gold and Gebhart, 2010). Les nocicepteurs excités conduisent le signal nociceptif vers la moelle épinière par des fibres nerveuses spécialisées regroupant les fibres A δ myélinisées et les fibres C non myélinisée.² Les corps neuronaux de ces fibres nerveuses sont regroupés dans les ganglions dorsaux de la moelle épinière.

Figure 1.3-1 Genèse d'un potentiel d'action dans un nocicepteur et les principaux récepteurs de modulation



Les propriétés physicochimiques d'une stimulation nocive est convertie en activités électriques par les canaux ioniques TRP, purinergiques et sensibles aux protons qui permettent l'entrée de sodium et de calcium, et la sortie de potassium de la cellule. Puis cette activité électrique est amplifiée par des canaux sodiques qui provoquent les potentiels d'action.

L'activité des nocicepteurs peut être modulée par différents récepteurs excitateurs ou inhibiteurs

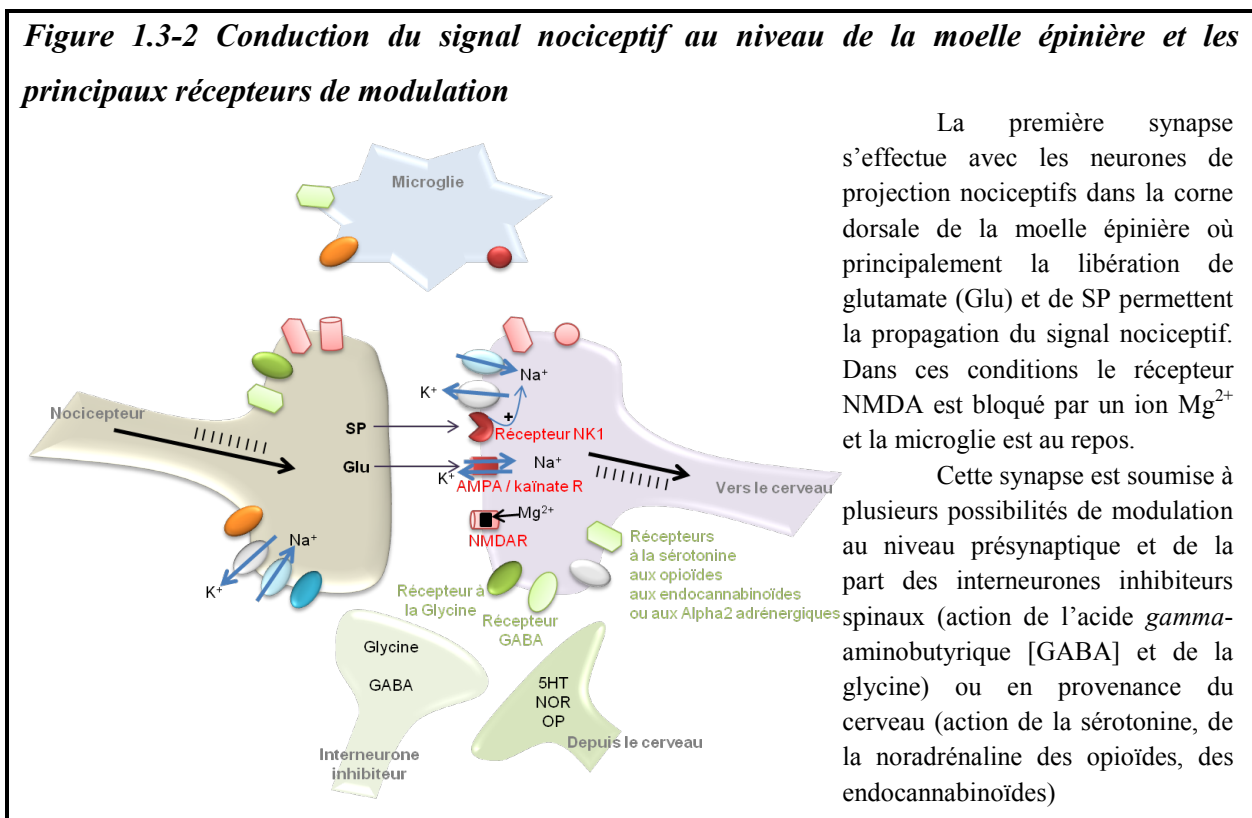
1.3.1.2.2 Les neurones de projection nociceptifs

La première synapse s'effectue avec les neurones de projection nociceptifs dans la corne dorsale de la moelle épinière (Marchand, 2008; Millan, 1999). Le neurotransmetteur excitateur principal de cette synapse est le glutamate qui est libéré lors de la propagation du potentiel d'action. Il se lie à différents récepteurs postsynaptiques dont les récepteur

² Les fibres A δ sont responsables de la douleur aiguë localisée et rapidement transmise du fait de leur diamètre relativement grand et de la présence de myéline. Les fibres C sont responsables de la sensation de brûlure diffuse caractéristique de la douleur secondaire. Leur conduction plus lente de l'information est due à l'absence de myéline et au petit diamètre de ces fibres.

ionotropiques amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionate (AMPA), N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et kaïnate, ainsi que plusieurs récepteurs métabotropiques du glutamate couplés aux protéines G (mGluR) (Kuner, 2010; Millan, 1999). Dans les conditions physiologiques, la participation du calcium à la dépolarisation postsynaptique est minimale et l'échange sodium/potassium est prépondérant. En effet, le récepteurs NMDA (qui une fois activé laisse toujours rentrer le calcium) est bloqué par un ion magnésium, alors que les récepteurs AMPA régulent l'entrée de calcium dans les neurones (et donc leur potentiel de dépolarisation) induite par le glutamate (Kuner, 2010).

Figure 1.3-2 Conduction du signal nociceptif au niveau de la moelle épinière et les principaux récepteurs de modulation



Les neurones de projection nociceptifs peuvent être divisés en deux classes (Marchand, 2008) : i) les neurones de projection nociceptifs spécifiques qui reçoivent des afférences nociceptives des fibres A δ ou d'une combinaisons des fibres A δ et C ; ii) les neurones de projection nociceptifs non spécifiques ou à large gamme dynamique (WDR pour *wide dynamic range*) qui répondent graduellement à des stimulations allant d'une intensité non nociceptive à nociceptive. Les neurones WDR reçoivent des afférences des fibres A δ et C, mais aussi des fibres A β (myélinisées et de larges diamètres qui conduisent généralement les

signaux non nociceptifs à grande vitesse). Les afférences nociceptives et non nociceptives possèdent un important réseau d'interneurones inhibiteurs et excitateurs qui peuvent moduler le signal nociceptif avant que les neurones secondaires ne se projettent vers les centres supérieurs (Kuner, 2010; Meintjes, 2012; Millan, 1999).

1.3.1.2.3 La perception du signal nociceptif

Après avoir été intégré et traité dans la corne dorsale de la moelle épinière, le signal nociceptif se dirige vers les centres supérieurs par deux chemins principaux qui reflètent le fait que la douleur peut être caractérisée comme une expérience multidimensionnelle possédant une dimension sensorielle et émotionnelle/cognitive (Breivik et al., 2008). Deux systèmes sont alors différenciés : i) un système spinothalamique latéral associé à la composante sensori-discriminative (projections aux noyaux latéraux du thalamus ventro-basal, puis aux cortex somatosensoriel primaire et secondaire, et pariétal postérieur) ; ii) un système médial ou spinoréticulaire associé aux composantes motivationnelles-affectives (émotionnelles) et cognitivo-évaluatives de la douleur. Ce système regroupe les *tracti* spinothalamique médial (projection aux noyaux médiaux du thalamus, au cortex cingulaire antérieur et au cortex préfrontal) et spinomésencéphalique (projections dans la substance grise périaqueducule et les noyaux du *raphe magnus* de la médulla), (Almeida et al., 2004; Price, 2002; Willis and Westlund, 1997). L'expérience douloureuse est intégrée par le cerveau. Un signal est alors envoyé à la moelle épinière pour permettre un retrait de la stimulation nociceptive. *Via* les centres du système médial, la douleur est aussi une perception complexe avec une part émotive et cognitive qui aura un effet sur la douleur perçue (Marchand, 2008; Meintjes, 2012).

1.3.1.3 Les modulations du signal nociceptif

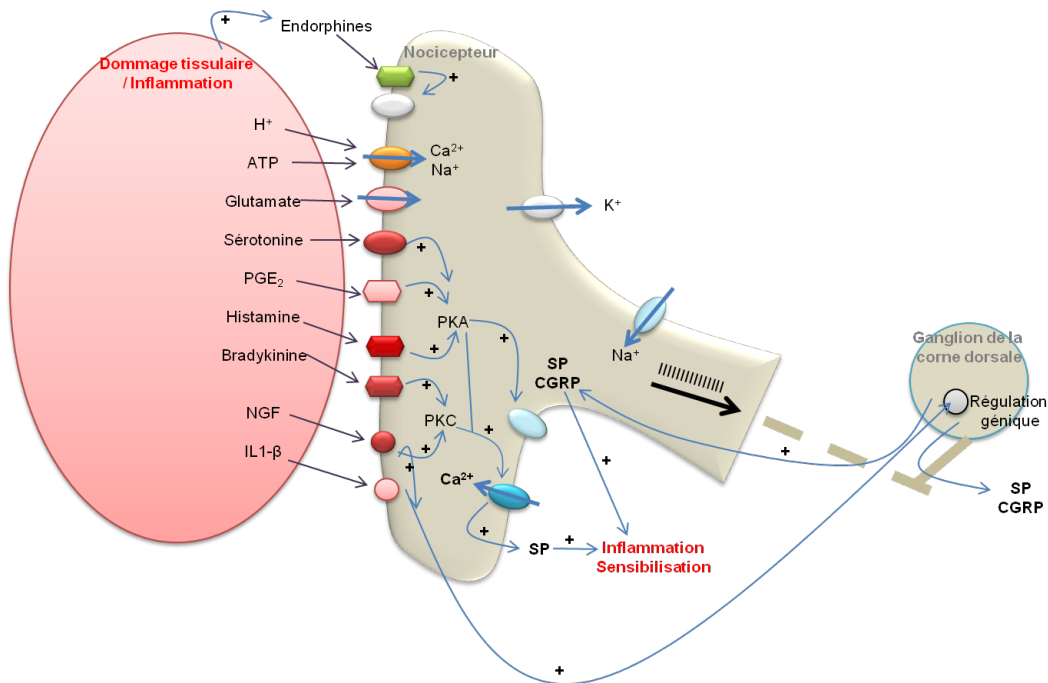
La douleur est un phénomène dynamique. De la périphérie au cerveau, le signal nociceptif peut être modulé. La notion de plasticité du système nerveux qui y est rattachée est fondamentale pour comprendre le passage d'une douleur nociceptive à une douleur chronique.

1.3.1.3.1 Les modulations périphériques

À la périphérie, les nocicepteurs peuvent être modulés par différents récepteurs (Figure 1.3-1) (Gold and Gebhart, 2010; Ren and Dubner, 2010). Certains récepteurs induisent un

effet excitateur comme les récepteurs ionotropes à la sérotonine (5-HT₃), au glutamate (e.g. GluR1-5), de nombreux autres récepteurs métabotropiques couplés aux protéines G (e.g. des récepteurs à la bradykinine, ceux sensibles aux protéases et ceux aux PGE₂), des récepteurs aux chimiokines et cytokines, et des récepteurs à la neurotrophine (e.g. récepteur TrkA notamment activés par le NGF). D'autres peuvent induire un effet inhibiteur comme certains récepteurs métabotropiques couplés aux protéines G (e.g. les récepteurs opioïdiques).

Figure 1.3-3 Les principales molécules impliquées dans la sensibilisation d'un nocicepteur



La relâche de différentes molécules lors d'inflammation (principalement synthétisées par les plaquettes, les macrophages et les mastocytes activés par les protéases, les cytokines et les chimiokines pro-inflammatoires), ou lors de dommages tissulaires conduit à la sensibilisation des nocicepteurs localement. Ces nocicepteurs présentent alors un seuil de réponse diminué caractéristique du phénomène d'hyperalgésie primaire. Certaines molécules comme les protons agissent via des canaux cationiques TRP, d'autres comme la PGE₂ par des récepteurs métabotropiques couplés aux protéines G. Ces récepteurs activent la phosphokinase A (PKA) ou C (PKC). Ces phosphokinases permettent l'activation de canaux ioniques comme les canaux sodiques voltages dépendants résistant à la tétrotoxine et les TRPV1. Ces derniers permettent une entrée massive de Ca²⁺ (dépoliarisation plus facile) et favorisent la relâche de SP. Les phosphokinases et le calcium activent plusieurs voies de signalisation cellulaire aboutissant à la fabrication de SP et de CGRP. Ces neuropeptides sont exportés en périphérie où ils contribuent au phénomène inflammatoire local. Ils sont aussi exportés centralement où ils faciliteront la dépoliarisation des neurones de projection. L'inflammation active aussi la synthèse de récepteurs opioïdiques qui sont activés par des endorphines produites localement par les kératinocytes et les éosinophiles. Ces endorphines tentent de freiner la dépoliarisation des nocicepteurs et donc d'inhiber le signal nociceptif.

Lors d'une stimulation nociceptive, différentes molécules pronociceptives sont relâchées en périphérie (Marchand, 2008). Ces molécules proviennent i) des cellules sanguines comme les bradykinines, les prostaglandines, l'histamine, la sérotonine, l'adénosine triphosphate (ATP); ii) des cellules du système immunitaire comme les cytokines pro-inflammatoires et le TNF- α ; iii) des tissus endommagés comme le potassium, les protons, les prostaglandines, et les bradykinines ; iv) des corps neuronaux des fibres nerveuses comme la SP et le CGRP (peptide relié au gène de la calcitonine) qui sont relâchées en périphérie et agissent comme des molécules pro-inflammatoires amplifiant ainsi le phénomène (Gold and Gebhart, 2010; Marchand, 2008; Ren and Dubner, 2010). Suite à la relâche des ces différentes molécules, les nocicepteurs au niveau de la blessure et aux alentours sont sensibilisés et leur réactivité est augmentée (seuil de réponse diminué), **ce qui définit le phénomène d'hyperalgésie primaire** (Gold and Gebhart, 2010; Marchand, 2008; Meintjes, 2012).

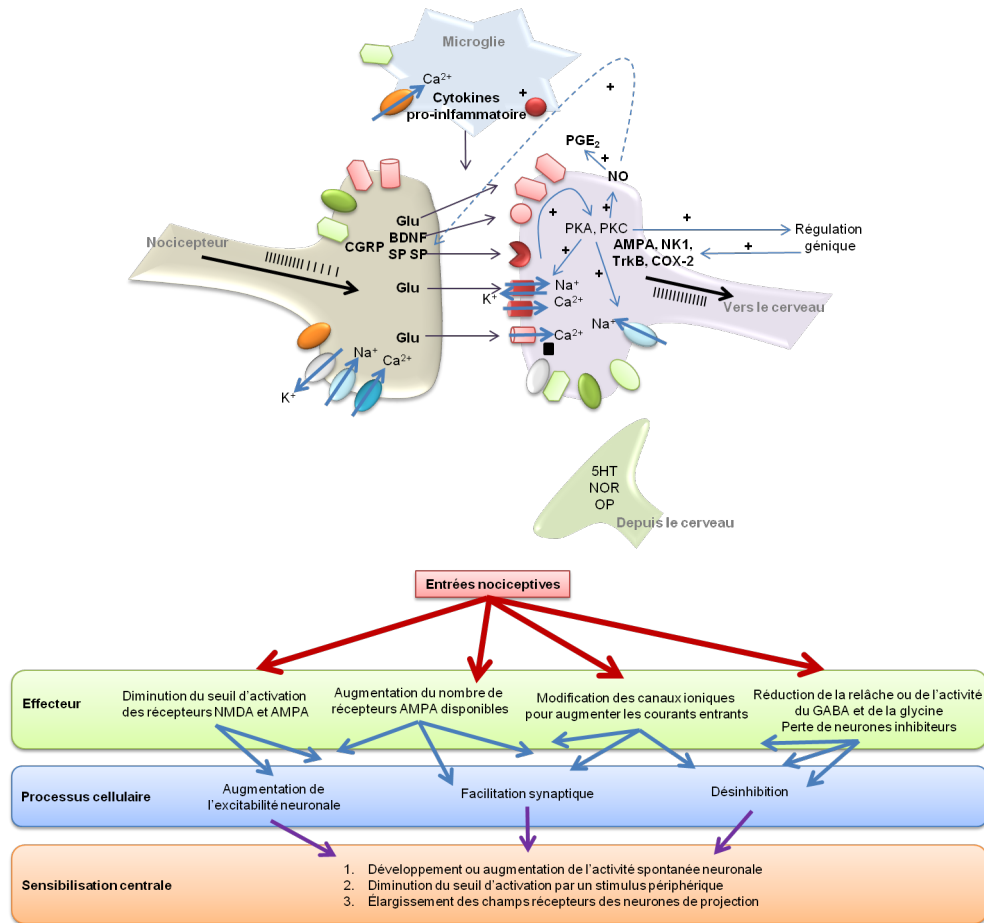
1.3.1.3.2 *Les modulations centrales excitatrices*

Dans le système nerveux central, deux voies excitatrices peuvent être différenciées :

i) La première voie est spinale où différents mécanismes peuvent induire le phénomène de sensibilisation centrale. La sensibilisation centrale est une altération du statut fonctionnel des neurones secondaires qui montrent l'une ou toutes les caractéristiques suivantes : 1) le développement ou une augmentation de leur activité spontanée ; 2) une diminution de leur seuil d'activation ; 3) l'élargissement de leur champ récepteur : conversions de neurones nociceptifs spécifiques en des neurones WDR qui répondent à des stimulations nociceptives et non nociceptives (Kuner, 2010; Latremoliere and Woolf, 2009). La sensibilisation centrale s'exprime par une hypersensibilité à la douleur, particulièrement **l'hyperalgésie secondaire** (lorsque les neurones de projection nociceptifs répondent de manière exagérée et prolongée à une afférence nociceptive), **l'allodynie** (lorsque les neurones de projection nociceptifs répondent à une afférence non nociceptive), la facilitation de la sommation temporelle³, et le prolongement de la sensation douloureuse (Kuner, 2010)

³ La sommation temporelle de la douleur est l'augmentation de la perception de l'intensité de la douleur secondaire suite à la sommation de l'activité des fibres C soumises à des stimulations répétées à haute fréquence. Cette accumulation d'activité nociceptive produit une augmentation transitoire de l'excitabilité des neurones nociceptifs secondaires (*windup*).

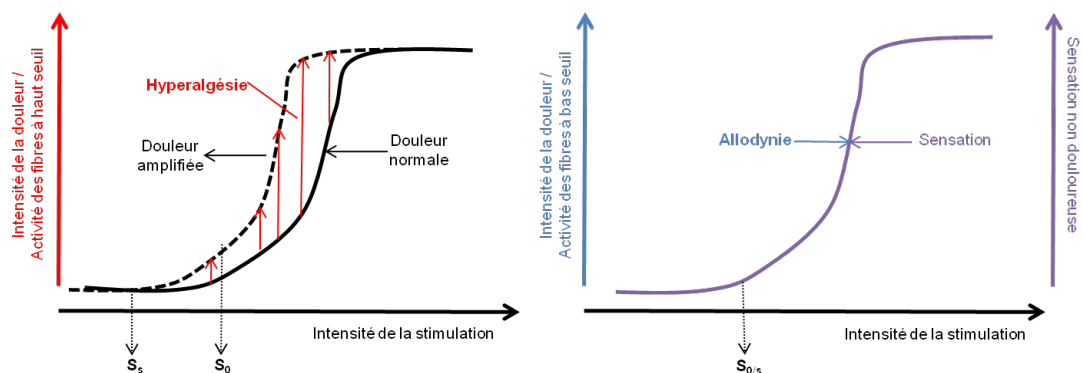
Figure 1.3-4 Les mécanismes du phénomène de sensibilisation centrale



La sensibilisation centrale est due à plusieurs processus cellulaires comme l'augmentation de l'excitabilité membranaire, la facilitation de la conduction synaptique et la diminution des voies inhibitrices (la désinhibition). Ces mécanismes sont induits par différentes voies moléculaires dont les voies des PKA et PKC et des kinases ERK1/2 (Kuner, 2010; Latremoliere and Woolf, 2009). Ces kinases sont activées par différentes molécules (*e.g.* le CGRP, la sérotonine [5HT] *via* le récepteur 5-HT₃ et la bradykinine). Elles peuvent 1) diminuer le seuil d'activation des récepteurs NMDA et AMPA ; 2) augmenter le nombre de récepteurs AMPA disponibles dans la synapse ; 3) altérer les canaux ioniques favorisant une hyperpolarisation membranaire ; 4) diminuer la relâche ou l'activité des neuromédiateurs inhibiteurs (la glycine et le GABA) (Latremoliere and Woolf, 2009). L'activation des récepteurs NMDA est essentielle pour le déclenchement et le maintien de la sensibilisation centrale. Une relâche soutenue par les nocicepteurs de glutamate et des neuropeptides SP et CGRP induit une dépolarisation suffisante pour déloger l'ion magnésium. Le glutamate lié au récepteur NMDA induit alors une importante entrée de calcium dans le neurone, ce qui augmente fortement son excitabilité (Kuner, 2010). L'entrée de calcium dans la cellule est aussi favorisée par l'association des récepteurs AMPA aux récepteurs GluR1 les rendant plus perméables aux ions calcium (Latremoliere and Woolf, 2009). La SP et le CGRP participent aussi activement à la sensibilisation centrale. La SP par son action sur les récepteurs NK1 induit une dépolarisation de longue durée (Afrah et al., 2002; Khasabov et al., 2002). Le CGRP favorise la sécrétion du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF)(Buldyrev et al., 2006). Le BDNF a une haute affinité pour les récepteurs à la tyrosine kinase de type B, il augmente la réponse des récepteurs NMDA, et active la phosphokinase C et les kinases ERK.

En plus de ces voies moléculaires, des changements structuraux sont induits par l'augmentation de l'activité nociceptive favorisant l'excitabilité spinale (e.g. l'augmentation de la taille et de la densité des épines synaptiques, l'hypertrophie, la croissance ou la dégénérescence des axones, et la prolifération et l'augmentation de l'activité de la microglie) (Kuner, 2010; Ren and Dubner, 2010). Les modifications gliales sont importantes puisqu'au cœur des relations entre le système immunitaire et nerveux. L'activation gliale est induite par une combinaison des influx nerveux centraux, des signaux du système immunitaire et des cytokines circulantes. Cette activation participe activement au phénomène de sensibilisation centrale principalement du fait de la production gliale de BDNF, d'IL1- β , d'IL-18 et de l'activation de voie de signalisation du facteur de transcription nucléaire NF- κ B (conduisant à la production de CCL2) (Ren and Dubner, 2010).

Figure 1.3-5 Hyperalgésie et allodynie



Toutes formes d'amplification douloureuse (augmentation de la sensibilité douloureuse), dont la diminution du seuil d'activation, sont incluses sous le terme hyperalgésie (S_0 et S_s réfèrent au seuil de douleur normale et au seuil de douleur après sensibilisation, respectivement). Si et seulement si la douleur est induite clairement par des fibres à bas seuil (non nociceptives), alors le terme allodynie peut être utilisé ($S_{0/s}$ réfère au seuil du toucher qui est similaire ou presque au seuil d'allodynie) (Sandkuhler, 2009).

ii) La deuxième voie excitatrice est supraspinale. La réponse nociceptive peut être amplifiée par la voie substance grise périaqueducale – médulla rostrale ventromédiane (les noyaux du *raphe magnus*) – *tegmentum* pontique dorsolatéral *via* l'action des cellules 'ON' présentes dans la médulla rostrale ventromédiane (Marchand, 2008). Ces cellules sont excités suite à un signal nociceptif durable et amplifie alors le signal douloureux (Fields et al., 1995). Cette voie est la cible directe des opioïdes dont l'action inhibitrice des cellules 'ON' est nécessaire pour produire leur action analgésique par désinhibition des cellules 'OFF'

(Heinricher et al., 1992; Morgan et al., 1992). Par contre, lors de l'arrêt des opioïdes, une excitation rebond des cellules 'ON' est possible conduisant à un état hyperalgésique (Yaksh, 2005).

1.3.1.3.3 Les modulations centrales inhibitrices

En parallèle des voies ascendantes excitatrices, trois voies centrales inhibitrices sont présentes (Figure 1.3-6) :

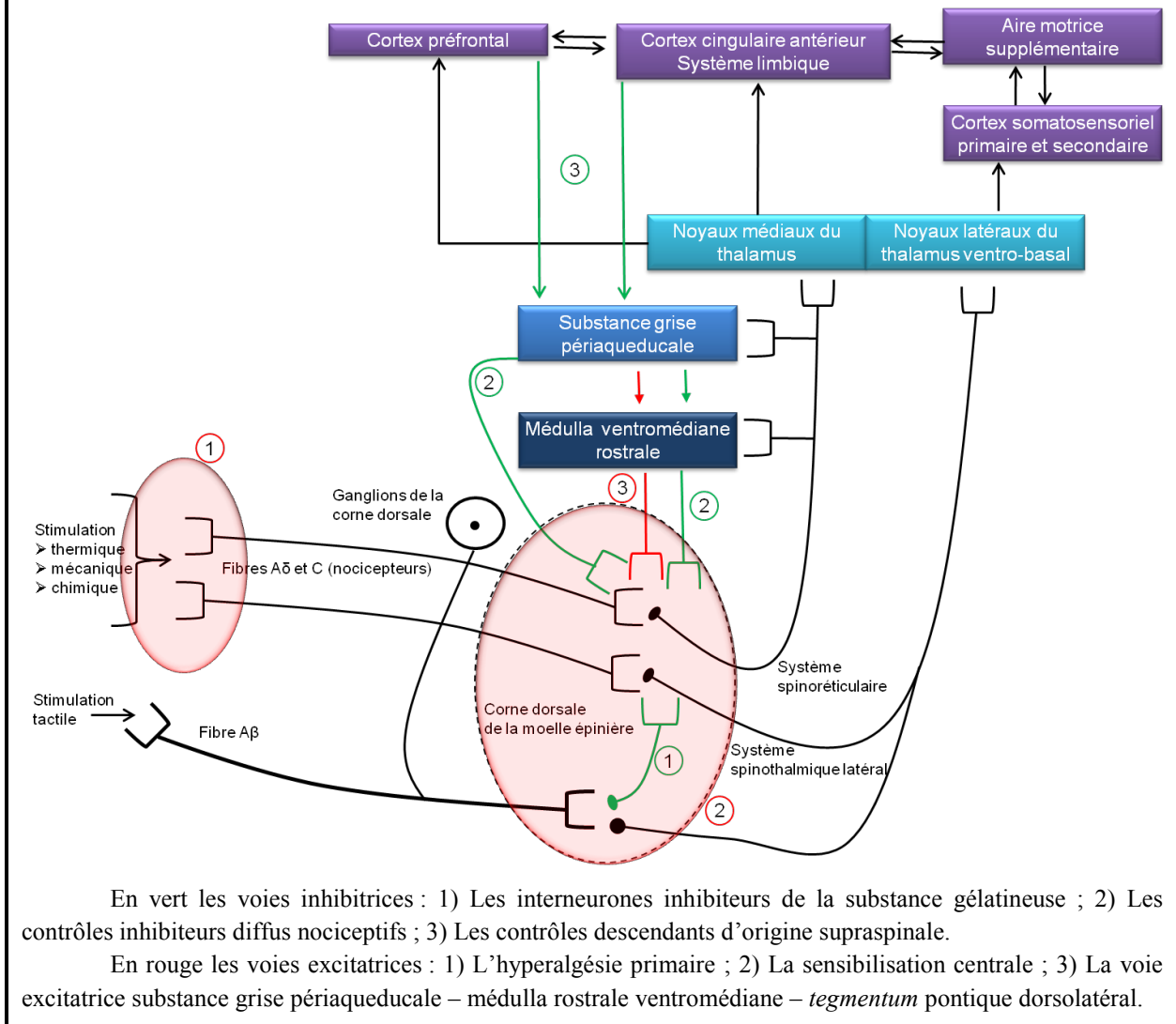
i) Au niveau spinal, la stimulation des fibres A β recrute des interneurons inhibiteurs dans la substance gélatineuse de la corne dorsale de la moelle épinière. Ces interneurons inhibent les afférences nociceptives, de telle sorte qu'une stimulation non nociceptive d'une région diminue les entrées nociceptives de cette même région (théorie du portillon ou *gate control theory*; (Melzack and Wall, 1965))

ii) Les contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs sont induits par les stimulations nociceptives. Ils proviennent des voies descendantes de la substance grise périaqueducule qui projettent à la médulla rostrale ventromédiane (les noyaux du *raphe magnus*) via l'implication des cellules 'OFF' (voie principalement sérotoninergique) et au *tegmentum* pontique dorsolatéral (voie principalement noradrénergique). Les contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs proviennent aussi des voies noradrénaline/sérotonine originant de la formation réticulée qui activent les interneurons inhibiteurs (enképhalinergiques ou gabaergiques) des neurones secondaires nociceptifs (Benarroch, 2008; Marchand, 2008; Millan, 2002; Willis and Westlund, 1997).

iii) Les contrôles descendants d'origine supraspinale qui sont associés à l'influence psychologique peuvent inhiber la perception douloureuse (*e.g.* l'effet placebo). Ces contrôles originent principalement du cortex préfrontal dorsolatéral, du cortex cingulaire antérieur et du cortex insulaire. Ils agissent *via* la substance grise périaqueducule (Marchand, 2008).

Au vu des différents systèmes de modulation de la douleur nociceptive, il apparaît que le développement des douleurs chroniques n'est pas seulement secondaire à une activité nociceptive périphérique continue et accrue, mais dépend aussi des changements qui se produisent dans le système nerveux central par le biais d'une augmentation des voies excitatrices et/ou d'une diminution des voies inhibitrices.

Figure 1.3-6 Schéma simplifié des voies de la douleur nociceptive et de ses modulations



1.3.2 Les preuves d'un développement douloureux local et central

1.3.2.1 Les origines de la douleur arthrosique et le rôle de l'inflammation

Chez l'humain arthrosique, la douleur est le problème clinique le plus important. Cependant, le point de départ de la douleur arthrosique dans l'évolution de la maladie n'est pas encore connu. L'expérience douloureuse la mieux décrite est celle associée à l'arthrose du genou. Elle est décrite comme étant d'abord transitoire à intermittente lors de la mise en charge, puis évoluant vers une douleur persistante et chronique (Creamer, 2009; Neogi, 2013; Schaible et al., 2009). Les articulations sont très densément innervées principalement pour

assurer les fonctions de proprioception et de nociception. Les articulations sont innervées par des fibres A β , A δ et C. Toutes les structures de l'articulation, sauf le cartilage sain, contiennent des terminaisons nerveuses libres. Lorsqu'une stimulation nociceptive est appliquée sur ces terminaisons, de la douleur peut alors être induite (Kidd, 2006; Malfait and Schnitzer, 2013; Schaible et al., 2009).

De très nombreuses études ont exploré la relation entre le niveau de douleur et les changements structuraux articulaires liés à l'arthrose. Lorsque les changements structuraux sont évalués radiographiquement, il existe une grande discordance entre la présence d'arthrose radiographique et la présence de douleur (Hunter et al., 2013; Wenham and Conaghan, 2009). Il a été évalué que jusqu'à 50% des patients arthrosiques ne présentaient pas de douleur (Hannan et al., 2000). Cependant, lorsque les différences interindividuelles (*e.g.* l'âge, l'indice de masse corporelle et le niveau psychologique) sont correctement prises en compte, il existe globalement une forte corrélation positive entre la gravité de l'atteinte structurelle et l'atteinte douloureuse (Neogi et al., 2009). La discordance entre douleur et lésions radiographiques est aussi probablement secondaire au fait que la radiographie n'est pas en mesure de détecter tous les changements secondaires à l'arthrose. Ainsi, d'autres études ont exploré le lien entre l'atteinte douloureuse et le niveau d'atteinte structurelle évalué par IRM. Bien que les résultats de ces études soient parfois discordants, il se dégage des associations plus fortes et des associations peu probables (Table 1.3-I). Les lésions de moelle osseuse (surtout quand elles sont grandes), la synovite et l'épanchement articulaire sont fortement associés à la présence de douleur, suivis des lésions cartilagineuses (Conaghan, 2009; Hunter et al., 2013; Wenham and Conaghan, 2009). Il est important de noter qu'il est difficile de bien comparer les différentes études du fait qu'en plus que la douleur est un phénomène subjectif, son évaluation n'est pas standardisée. Ainsi, certaines études tiennent compte de l'importance des facteurs psychosociaux associés, alors que d'autres utilisent une simple échelle visuelle analogique. De plus, de très nombreux outils de mesure de la douleur sont disponibles pour les investigateurs (Wenham and Conaghan, 2009). Il est intéressant de noter que de telles relations structure (IRM) – fonction (douleur évaluée indirectement par la fonction cinétique) ont été établies récemment dans l'arthrose canine (Moreau et al., 2013) mettant en exergue les lésions de la

moelle osseuse, la synovite, l'épanchement articulaire ainsi que les lésions cartilagineuses dans la genèse et le maintien de l'atteinte douloureuse.

Table 1.3-I Études de l'association entre douleur et changements structuraux secondaires à l'arthrose détectés à l'IRM (Hunter et al., 2013).

Lésions	Nombre d'études	
	Association positive significative	Absence d'association
Lésions de moelle osseuse	5	2
Synovite	3	2
Épanchement articulaire	3	0
Cartilage articulaire	3	1
Sclérose de l'os sous-chondral	1	1
Ostéophytes	1	1
Lésions péri-articulaires	1	1

L'os sous-chondral et la membrane synoviale apparaissent donc comme les tissus les plus importants pour l'origine de la douleur arthrosique. Cette idée est renforcée par la détection chez des patients arthrosiques de SP, de COX-2 et de TNF- α dans l'os sous-chondral (Ogino et al., 2009). Elle est aussi appuyée par l'augmentation de l'expression de SP et du récepteur NK1, de COX-2 et d'IL-6 par des cultures de ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière en contact avec du tissu synovial (Li et al., 2011). L'os sous-chondral et la membrane synoviale sont aussi fortement impliqués dans les phénomènes inflammatoires qui se développent lors d'arthrose. Des modèles animaux ont démontré, que de nombreuses molécules pro-inflammatoires associées aux lésions arthrosiques sont aussi pronociceptives et peuvent conduire à la sensibilisation des nocicepteurs de l'articulation (Table 1.3-II). Ceci est secondaire à une action dans l'articulation ou dans les ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière (Berenbaum, 2013; Kapoor et al., 2011; Kidd, 2006; Kidd and McDougall, 2009; Malfait and Schnitzer, 2013; Schaible et al., 2009; Sofat et al., 2011; Sutton et al., 2009; Zhang et al., 2013).

Ainsi, l'inflammation est une actrice majeure de la sensibilisation des nocicepteurs et de l'induction de la douleur associée à l'arthrose.

Table 1.3-II Implication des molécules pro-inflammatoires dans la douleur arthrosique

Molécules	Action
Cytokines	
TNF- α et IL-1 β	Sensibilisation des terminaisons nerveuses et excitation des cellules des ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière. Hypersensibilité mécanique. Stimulation de la production de lipides bioactifs (<i>e.g.</i> PGE ₂ et LTB ₄), NO, kinines, ATP, et de neurotrophes (<i>e.g.</i> NGF et BDNF).
IL-6	Augmentation du calcium intracellulaire des neurones des ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière. Sensibilisation des terminaisons nerveuses. Hypersensibilité mécanique.
IL-17	Hypersensibilité mécanique. Synthèse de TNF- α , d'IL-1 β de NO, de PGE ₂ et de COX-2
Chimiokines	L'expression de la CCL2 et de son récepteur s'accompagnent d'une infiltration de macrophages dans les ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière qui est positivement corrélée au niveau de douleur.
MMP	Sensibilisation des terminaisons nerveuses par les collagénases (MMP-8 et -12), les gélatinases (MMP-2 et -9) et la stromélysine-1 (MMP-3).
Neuropeptides	
VIP	La membrane synoviale produit du VIP qui activent les décharges nociceptives des terminaisons nerveuses.
SP	Libérée par les fibres C lors d'inflammation et de stimulation des neurones sensoriels primaires, elle est une molécule clef de la sensibilisation primaire. Vasodilatation. Stimule la production d'IL-1 β , TNF- α , d'IL-6, de PGE ₂ , de collagénase et d'ostéoclastes.
CGRP	La production par les terminaisons nerveuses est stimulée par la présence d'inflammation. Production d'IL-1 β et d'IL-6.
Autres	
NGF	L'augmentation de la production locale de NGF est un contributeur majeur de l'hypersensibilité périphérique par son action sur les récepteurs à la tyrosine et TRPV1. Dans les ganglions de la corne dorsale de la moelle épinière, il stimule la production de SP, de TRPV1 et de canaux sodiques pro nociceptifs.
Ostéoclastes	Stimulation de la production de NO, de protons et de protéases.
Prostaglandines, bradykinine	Stimulent les neurones sensoriels primaires par l'activation de récepteurs liés à des canaux ioniques.

1.3.2.2 La chronicisation de la douleur et les preuves croissantes du rôle majeur de la sensibilisation centrale

Les influx nociceptifs continus et intenses provenant des articulations arthrosiques peuvent conduire à la mise en place et au maintien de modifications du système nerveux centrale. Au niveau spinal, ces modifications sont liées au phénomène de sensibilisation central. Au niveau supra-spinal, ces modifications concernent les voies excitatrices ascendantes ou les voies modulatrices descendantes (Allen, 2011; Arendt-Nielsen et al., 2010; Lee et al., 2011; Malfait and Schnitzer, 2013; Schaible et al., 2009; Staud, 2011; Woolf, 2011).

Le phénomène de sensibilisation centrale contribue au manque de corrélation directe entre l'activation des nocicepteurs et l'expérience douloureuse (donc à l'apparente discordance possible entre les lésions structurales et le niveau de douleur ressenti), et est caractéristique des douleurs chroniques (Malfait and Schnitzer, 2013; Woolf, 2011). De plus en plus d'études indiquent que le phénomène de sensibilisation centrale est partie intégrante de la douleur arthrosique. Une méta-analyse récente indique que les patients arthrosiques ont un seuil de douleur mécanique plus bas que les patients sains d'après l'utilisation de tests sensoriels quantitatifs sur des sites plus larges ou éloignés du site de douleur primaire (Suokas et al., 2012). Les patients arthrosiques montrent une hyperalgésie mécanique soutenue et diffuse (Arendt-Nielsen et al., 2010; Bajaj et al., 2001; Imamura et al., 2008). Également, deux études ont montré que les individus arthrosiques les plus symptomatiques présentaient aussi des seuils de douleur plus bas lors de tests sensoriels quantitatifs mécaniques et thermiques (Harden et al., 2013; King et al., 2013). Ces études indiquent donc que des changements centraux pourraient être favorisés par la sévérité lésionnelle. Les modifications sensorielles ressenties lors d'arthrose du genou et de la hanche semblent réversibles après les chirurgies de remplacement de l'articulation (Finan et al., 2013; Graven-Nielsen et al., 2012). Cela indique que la sensibilisation centrale pourrait être maintenue par les influx nociceptifs provenant de l'articulation (Malfait and Schnitzer, 2013). Cependant, une étude rapporte une indépendance entre l'intensité douloureuse et les changements centraux et lésionnels indiquant que plusieurs mécanismes pourraient être impliqués dans l'induction et le maintien de la sensibilisation centrale (Murphy et al., 2011). Les études sur modèles animaux indiquent aussi le développement du phénomène de sensibilisation centrale lors d'arthrose avec la présence d'inflammation gliale, d'augmentation de l'activité spinale des récepteurs TRPV1, et l'apparition graduelle d'une douleur de type neuropathique (Kelly et al., 2013; Zhang et al., 2013).

Au niveau supraspinal, différents changements détectés par imagerie fonctionnelle indiquent une plasticité du système nerveux central secondaire à la présence de douleur chronique. Ces changements conduisent à une facilitation du signal nociceptif (Gwilym et al., 2009) et à une modulation plus importante de la douleur par le système médial associé à la dimension affective de la sensation douloureuse (Kulkarni et al., 2007; Parks et al., 2011). De

plus, plusieurs études indiquent une défaillance des contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs conduisant aussi à une facilitation des influx nociceptifs lors de douleur arthrosique chez l'humain (Arendt-Nielsen et al., 2010; Kosek and Ordeberg, 2000; Staud, 2011) et dans un modèle de douleur (Rahman et al., 2009).

1.3.3 Mesurer la douleur chronique chez l'animal : avez vous dit défis ?

1.3.3.1 L'absence d'outils de mesure validés chez le chat

L'expérience douloureuse est subjective et implique en général chez l'humain une communication verbale. L'absence d'une telle communication chez l'animal oblige l'utilisation de stratégies appropriées et d'outils parfois propres à une espèce donnée pour évaluer la douleur. Chez le chat, il n'existe actuellement aucune méthode validée pour évaluer la douleur chronique, dont la douleur chronique secondaire à l'arthrose (Bennett et al., 2012a; Lascelles and Robertson, 2010). Chez cette espèce, une telle évaluation est particulièrement difficile à cause de son comportement général, et de l'absence de caractérisation adéquate des atteintes douloureuses chroniques (Pelligand and Lees, 2013). Nous illustrerons donc nos propos avec des méthodes en cours de validation ou à l'aide de méthodes d'intérêt développées chez d'autres espèces (principalement le chien) arthrosiques qui pourraient être appliquées (et validées) chez le chat.

1.3.3.2 Les mesures physiologiques

L'arthrose étant une maladie chronique, il se peut que le niveau de stress de l'animal soit augmenté. Différentes hormones de stress ont été dosées chez le chien arthrosique : endorphine, cortisol, vasopressine, adrénaline et autres catécholamines. Une diminution de la concentration plasmatique d'endorphine et une augmentation de la concentration plasmatique pour les autres hormones de stress étaient présentes (Hielm-Bjorkman et al., 2003). Cependant, la grande variabilité inter individuelle était telle qu'une limite entre animal sain et douloureux ne pouvait être estimée. De plus la variabilité intra individuelle n'a pas été évaluée, ne permettant pas de tenir compte de la variabilité circadienne de telles hormones (Hielm-Bjorkman et al., 2003). L'intérêt de ces mesures est l'obtention de mesures objectives

facilement quantifiables. Mais, leur utilisation est limitée car elles présentent toujours une très faible spécificité et souvent une pauvre sensibilité (Younger et al., 2009).

1.3.3.3 L'évaluation des comportements associés à la douleur

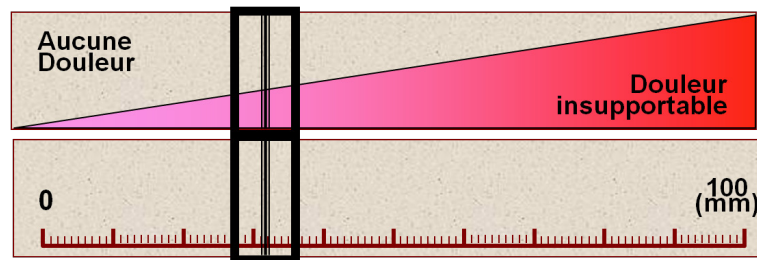
La douleur peut entraîner des modifications du comportement habituel chez l'animal. Ces changements de comportement seront donc recherchés pour permettre d'évaluer l'atteinte douloureuse soit lors de la réponse d'un animal à une stimulation, soit dans l'expression naturelle du comportement (Junot et al., 2007). Lorsqu'un vétérinaire provoque l'extension forcée de la hanche d'un chat arthrosique, ce dernier peut essayer de retirer son membre, vocaliser et peut-être montrer des signes d'agressivité (Livingston, 2010; Mathews, 2000). Le même examen sur un autre chat arthrosique pourrait avoir une toute autre tournure. L'animal pourrait figer, montrer des changements de mimiques faciales, ou simplement tenter de fuir (Mathews, 2000; Robertson, 2008). Il est ici décrit plusieurs comportements associés à la douleur déclenchée lors d'une stimulation douloureuse. Ces comportements sont en partie communs aux espèces mais aussi différents pour un même type de stimulation. Aussi, bien que la même évaluation soit faite, divers mécanismes permettent leur interprétation. Le simple fait de retirer son membre lors d'une confrontation à un stimulus nociceptif est de l'ordre du réflexe spinal (comportement de retrait). Le fait de vocaliser ou de rester figé sont plutôt des comportements innés qui peuvent s'exprimer même chez des animaux décérébrés (Le Bars et al., 2001; Mogil, 2009). Par contre, les signes d'agressivité et les tentatives de se soustraire à la stimulation désagréable (comportement de protection) sont reliés à une intégration corticale du stimulus nociceptif. Ces derniers comportements reflètent donc une expérience émotionnelle et sont susceptibles d'apprentissage afin d'éviter une répétition du stimulus douloureux (Le Bars et al., 2001; Mogil, 2009).

L'étude de l'expression naturelle des comportements associés à la douleur chronique est d'une grande utilité pour diagnostiquer et évaluer les changements naturels ou induits par cette douleur. Les changements de comportements sont souvent propres à une espèce donnée. Ils sont aussi parfois propres à un type de douleur et lors de douleurs chroniques les signes sont souvent plus frustrés que lors de douleurs aiguës. Les comportements et les modifications comportementales que l'on pense associés à la douleur arthrosique chez le chat ont fait l'objet

de plusieurs études (Clarke and Bennett, 2006; Klinck et al., 2012; Lascelles et al., 2007b; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011; Zamprogno et al., 2010) et ont déjà été synthétisés et présentés dans la Table 1.2-I.

Alors, en se basant sur l'observation de l'animal, le niveau de douleur d'un animal peut être attribué subjectivement. Pour cela, il existe des échelles dérivées directement de l'évaluation subjective chez l'humain. L'échelle descriptive simple, la plus subjective, cote la douleur d'absente, légère, inconfortable, modérée, intense ou intenable à l'aide de signes comme l'apparence externe de l'animal (l'allure qu'il dégage) et son expression faciale. L'échelle visuelle analogique cote la douleur d'absente (à la gauche de l'échelle), à la douleur la plus insupportable (à la droite de l'échelle). Cette cotation est numérisée de 0 à 100 de l'autre bord de l'outil pour permettre une estimation de l'intensité douloureuse (Figure 1.3-7).

Figure 1.3-7 Un exemple d'échelle visuelle analogique



La partie supérieure est la face utilisée par l'évaluateur pour coté l'intensité de douleur perçue ; la partie inférieure est la face graduée sur laquelle l'intensité douloureuse est estimée en mm.

Ces échelles sont faciles d'utilisation mais très affectées par l'observateur et souvent peu répétables. Elles sont alors relativement peu sensibles et peu spécifiques (Livingston, 2010; Moreau et al., 2007; Younger et al., 2009).

Il a aussi été récemment mis en lumière que l'échelle visuelle analogique nécessitait une bonne connaissance des comportements (ou des changements de comportements) associés à la douleur de l'animal évalué. Ce type d'échelle appliqué par des propriétaires de chiens arthrosiques a démontré une mauvaise validité lors de l'évaluation initiale. Celle-ci s'est améliorée lorsque les animaux démontraient des changements secondaires à un traitement analgésique, suggérant que ce type d'échelle nécessite un entraînement pour être valide (Hielm-Bjorkman et al., 2011).

Les comportements et les modifications de comportement associés à la douleur chronique mettent aussi en avant les conséquences psychologiques et sociales de la douleur et/ou de l'inconfort induits par la condition douloureuse. Référencer spécifiquement ces différents comportements permet de détecter la présence de douleur et la qualifier au sein de grilles comportementales. Ce type de grille, en plus d'être spécifique à une espèce donnée, est aussi relativement spécifique à une maladie ou une condition donnée. Elles peuvent être remplies par les propriétaires ou par les vétérinaires. Les champs d'application doivent donc être bien pensés et décrits avant la création de la grille. Les comportements ciblés doivent être précis, facilement et complètement décrits pour améliorer leur détection et ainsi faciliter la reproductibilité des mesures. Ainsi, chez le chien arthrosique, des questionnaires ont été développés et validés pour permettre aux propriétaires de détecter les changements de comportement et les atteintes physiques ou à la qualité de vie associés à la douleur arthrosique (Brown et al., 2007; Brown et al., 2008; Gingerich and Strobel, 2003; Hielm-Bjorkman et al., 2003; Lascelles et al., 2008a). Pour les chats, ces grilles sont, soit des adaptations non validées des outils utilisés chez le chien comme l'outil d'évaluation des mesures spécifiques aux propriétaires ou CSOM (Figure 1.3-8), soit en cours de développement (Lascelles et al., 2007b).

Actuellement, le travail le plus complet est basé sur une étude des changements de comportement pouvant être reliés à la douleur arthrosique chez le chat (Zamprogno et al., 2010). À partir de ces comportements a été proposé un indice de douleur musculosquelettique félin ou FMPI rempli par les propriétaires (Benito et al., 2013a). Cette grille compte 21 questions pour un score maximal de 81. Les questions sont séparées en trois catégories : i) les changements de comportement relatifs à l'activité du chat (18 questions suivies d'une échelle d'évaluation descriptive à sept descripteurs traduits par la suite en un score de -1 à 4) ; ii) la douleur estimée (deux questions suivies d'une échelle d'évaluation descriptive à cinq descripteurs traduits par la suite en un score de 0 à 4) ; iii) l'atteinte globale de la qualité de vie de l'animal (cotée excellente; bonne; moyenne; mauvaise, et traduite par un score de 0 à 3).

Figure 1.3-8 Utilisation du système de gradation CSOM chez le chat arthrosique

L'évaluation initiale consiste en trois parties : (A) Les activités modifiées sont discutées avec les propriétaires en utilisant les changements de comportement ciblés comme pouvant être secondaires à la douleur arthrosique ; (B) Les activités qui sont les plus pertinentes et qui sont les plus faciles à évaluer sont décrites dans le tableau ci-dessous en gardant les trois à cinq plus fréquentes ; (C) Les activités sont enregistrées dans le formulaire CSOM et les propriétaires scorent les atteintes de leur chat en cochant la case appropriée pour chaque comportement suivi. Une notation est alors établie en traduisant l'évaluation de 0 à 4 (aucun problème à impossible) et le score total est calculé en additionnant la note de chaque activité. La même évaluation peut ensuite être répétée dans le temps et lors de la mise en place d'un traitement pour suivre son efficacité.

(A) Quelles activités semblent être difficiles pour votre chat, ou quels sont les changements suite à l'atteinte arthrosique ?

.....

(B) Maintenant écrire ci-dessous ces activités en indiquant le temps et l'endroit où vous les observez le plus fréquemment

Activités compromises suite au développement de l'arthrose chez votre chat	
	Endroit Temps
1	
2	
3	
4	
5	

(C) Indiquez à quel point ces activités sont problématiques comparées au moment où votre chat était sans arthrose, ou comparées à l'idée que vous vous faites d'un chat sain.

Activités compromises suite au développement de l'arthrose chez votre chat				
	Aucun	Un peu	Assez	Très
	problème	difficile	difficile	difficile
	Impossible			
1				
2				
3				
4				
5				

D'après (Lascelles and Robertson, 2010)

La grille FMPI est bien construite, répétable et sensible à la présence d'arthrose (Benito et al., 2013a). Cependant, dans une étude stratifiée, randomisée, en double aveugle et contrôlée par l'utilisation d'un placebo avec un échantillon de 25 chats arthrosiques, aucun des critères de la grille n'a montré de sensibilité à la sévérité clinique de l'arthrose. De plus, cette étude n'a pu montrer une amélioration significative suite à l'administration d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS; (Benito et al., 2013b). Ainsi, aucun outil validé n'est actuellement disponible pour évaluer les changements comportementaux et l'atteinte de la qualité de vie des chats arthrosiques.

1.3.3.4 Les mesures objectives de douleur chronique

Ces dernières années, il y a une claire augmentation de l'intérêt des mesures objectives comme marqueur de douleur chronique. Parmi ces mesures, quatre catégories présentent un intérêt majeur dont trois seront abordées ici : l'évaluation objective des handicaps fonctionnels, les tests sensoriels quantitatifs et l'imagerie fonctionnelle du système nerveux central. La quantification des neuropeptides, bien que présentant un fort intérêt, sort du cadre de cette thèse et ne sera donc pas abordée.

1.3.3.4.1 L'évaluation des handicaps fonctionnels

L'évaluation des handicaps fonctionnels permet de caractériser objectivement les atteintes sur la fonctionnalité liée à la présence ou au développement de la douleur chronique arthrosique. Chez le chien, l'arthrose est une des causes majeures de boiterie (Beale, 2005). L'analyse visuelle peut fournir une analyse qualitative de la démarche. Mais cette analyse n'est pas toujours évidente et ne permet pas de caractériser quantitativement l'atteinte induite par la condition arthrosique. Par contre, différentes mesures permettent d'évaluer de façon objective l'atteinte de la démarche chez l'animal. Chez le chien arthrosique, l'évaluation objective de la démarche lors d'une analyse cinétique (principalement la mesure du pic vertical de force d'appui au sol et l'impulsion verticale) a montré une diminution fonctionnelle chez les individus arthrosiques en douleur (McLaughlin, 2001). Ces paramètres montrent une amélioration suite à différents traitements analgésiques (Aragon et al., 2007; Moreau et al., 2011; Rialland et al., 2013). Ainsi l'analyse de la démarche chez l'animal apparaît comme un outil objectif et quantitatif de l'incapacité motrice induite par la douleur arthrosique. Cet outil

objectif est même considéré comme le standard de l'évaluation de la douleur associée à l'arthrose chez le chien (Rialland et al., 2012). Chez le chien et le chat, l'arthrose est associée à une diminution de l'activité physique. Cette activité est quantifiable et peut être suivie dans le temps grâce à une puce d'actimétrie. Ces puces, en général de la taille d'une montre, sont constituées d'un accéléromètre omnidirectionnel qui mesure en continu l'intensité, la fréquence et la durée du mouvement. La mesure est ajustée pour l'accélération gravitationnelle en comparant une mesure de base avec une mesure prise sur une certaine période de temps (en principe entre 15 s et 2 minutes d'intervalle). La mesure enregistrée est convertie lors de sa lecture en comptes d'activité qui sont sans unité car un compte d'activité est un mélange d'une intensité et d'une durée de mouvement. Ces puces sont la plupart du temps attachées au collier de l'animal et permettent donc de suivre l'activité des animaux dans différents environnements (Hansen et al., 2007; Lascelles et al., 2008b; Rialland et al., 2012). Dans des études cliniques chez des chiens et des chats arthrosiques, une amélioration de l'activité motrice a été reportée suite à des traitements à base d'AINS (Brown et al., 2010; Lascelles et al., 2007b) et d'une nourriture enrichie complémentée en extrait de moule verte (Lascelles et al., 2010a; Rialland et al., 2013). Ces observations indiquent que le suivi de l'activité motrice par actimétrie est très prometteur pour la quantification des incapacités motrices secondaires à la douleur arthrosique chez le chien et le chat.

1.3.3.4.2 Les tests sensoriels quantitatifs

Les tests sensoriels quantitatifs permettent de caractériser et de quantifier les sensations anormales chez les humains ou les animaux, soit l'hyperalgésie (primaire ou secondaire) et l'allodynie (Arendt-Nielsen and Graven-Nielsen, 2011; Briley et al., 2013; Lascelles, 2013). Ces tests regroupent un large éventail de méthodes utilisant la réponse à une stimulation (mécanique, acoustique, thermique, chimique ou électrique) contrôlée unique, tonique ou phasique au niveau d'un dermatome et évaluant de manière quantitative la réponse à cette stimulation (*e.g.* la force nécessaire pour obtenir un comportement de retrait suite à l'application d'un embout rigide de von Frey sous une patte) (Lascelles, 2013; Walk et al., 2009). La quasi totalité de la littérature disponible réfère à des modèles d'arthrose chez les rongeurs ou aux humains. Plusieurs études chez l'humain suggèrent d'ailleurs que l'évaluation à l'aide de tests sensoriels quantitatifs de l'allodynie et de l'hyperalgésie (particulièrement

mécanique) soit partie intégrante de l'évaluation de la douleur secondaire à l'arthrose (Arendt-Nielsen et al., 2010; Hochman et al., 2013; Mease et al., 2011; Suokas et al., 2012). Chez le chien arthrosique, une seule étude rapporte l'utilisation de tests sensoriels quantitatifs mécaniques et thermiques de type réflexe et indique la présence d'hyperalgésie secondaire à la douleur chronique (Brydges et al., 2012). Les réponses réflexes suite à l'application d'un stimulus douloureux de nature mécanique, thermique, électrique ou chimique ont été pendant longtemps les piliers de l'évaluation quantitative de la douleur animale. Mais ces mesures, comme l'application d'un palpomètre et le seuil de retrait de la patte au filament de von Frey ne sont liées qu'à la composante sensorielle discriminante de la douleur (Boyce-Rustay et al., 2010). Le développement de mesures comportementales rattachées à la composante cognitive et émotionnelle de la douleur seront nécessaires pour tenir compte du fait que la douleur est une sensation complexe, comprenant une composante sensorielle, biologique, émotionnelle et cognitive (Navratilova et al., 2013).

1.3.3.4.3 L'imagerie fonctionnelle du cerveau

L'utilisation de l'imagerie fonctionnelle du système nerveux central comme marqueur de douleur chez les animaux a connu une importante progression ces 15 dernières années passant d'un article par année au début des années 2000 à plusieurs dizaines depuis 2008 (Borsook and Becerra, 2011). Cette spécialité n'est cependant encore qu'au début de son développement en comparaison à son utilisation importante chez l'humain. Les données disponibles lors de douleurs chroniques sont principalement limitées aux rongeurs et aux primates non humains (Thompson and Bushnell, 2012). Les objectifs d'utiliser une technique d'imagerie fonctionnelle cérébrale sont i) l'obtention d'une mesure objective de la présence de douleur ; ii) la possibilité de faire la translation des données obtenues à différentes espèces ; iii) de cibler les mécanismes centraux et parfois des voies moléculaires (par l'utilisation de ligands spécifiques) ; iv) d'utiliser des données répétées dans le temps (Borsook and Becerra, 2011; Borsook et al., 2010; Davis and Moayedi, 2012; Wartolowska and Tracey, 2009). Les techniques les plus couramment utilisées sont la tomographie d'émission par positrons (TEP) et l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) (Thompson and Bushnell, 2012). Ces techniques permettent différentes mesures présentant leurs avantages et inconvénients

(Table 1.3-III) (Borsook and Becerra, 2011; Clarke and Lawrence, 2013; Kupers and Kehlet, 2006; Thompson and Bushnell, 2012).

Table 1.3-III Les différentes techniques d'imagerie fonctionnelle cérébrale

Techniques	Mesures	Avantages	Inconvénients
IRMf	1) Estimation de la réponse hémodynamique associée à une stimulation grâce au signal dépendant du niveau d'oxygénation sanguin (BOLD). La mesure BOLD peut aussi être utilisée sans stimulation pour mesurer les interconnexions de différentes régions à leur état de « repos »..	Bonne répétabilité à court terme Très bonne résolution spatiale Bonne résolution temporelle.	Mesure indirecte du niveau d'activité neuronale (les mesures directes sont l'électroencéphalographie et la magnétoencéphalographie) Mesure relative du flux cérébral.
	2) Estimation de la réponse hémodynamique associée à une stimulation grâce à la mesure du flux régional sanguin par imagerie de perfusion ou par marquage de spins.	Mesure quantitative du flux sanguin cérébral régional.	Besoin d'une activation.
	3) Mesure de l'activité cérébrale et des connexions neuronales par IRM contrasté au manganèse.	Accumulation du manganèse lorsque l'animal est éveillé permettant de comparer un état pré et post injection et ainsi de souligner les régions cérébrales actives.	Possible toxicité. Inhibition neuronale. Difficultés techniques importantes.
TEP	1) Estimation de la réponse hémodynamique associée à une stimulation grâce à la mesure de l'extraction d'oxygène en utilisant de l'eau marquée à l' ¹⁵ O	Mesure quantitative du flux sanguin cérébral régional	Radioactivité. Nécessite de longues stimulations. Pauvre résolution spatiale et temporelle.
	2) Niveau d'activation du cerveau associé ou non à une stimulation par la mesure du métabolisme glucidique cérébral suivi au ¹⁸ FDG	Ne nécessite pas de stimulations. Mesure quantitative. L'accumulation peut se faire lorsque l'animal est éveillé.	Développement de marqueurs parfois nécessaire. Doit être combiné avec une évaluation anatomique.
	3) Mesure du potentiel de liaison de différents récepteurs (e.g. récepteurs de la dopamine, des opioïdes, de la sérotonine)	Mesure spécifique.	

Les études reliées à la douleur chronique sont encore rares comparées aux études impliquant des douleurs aiguës. En effet, les techniques les plus courantes nécessitent une

activation du signal par une stimulation ce qui favorise l'étude des douleurs aiguës (Borsook and Becerra, 2011; Thompson and Bushnell, 2012). Lors de douleur chronique, il est difficile de différencier les changements relatifs à la présence de la douleur, des phénomènes de modulations cognitives ou reliées au stress (Jones et al., 2012). Dans les différentes études disponibles évaluant un état de douleur chronique chez l'animal, les zones cérébrales montrant une activation significative sont la substance grise périaqueducale, l'amygdale, le thalamus, le cortex somatosensoriel primaire et secondaire, et le cortex cingulaire (Borsook and Becerra, 2011; Thompson and Bushnell, 2012).

L'utilisation du ^{18}F FDG (*cf.* Annexe 1 pour une description détaillée de cette modalité) pourrait remplacer l'utilisation de l'eau marquée au ^{15}O , avec la prémisse que l'utilisation de glucose représente une plus grande spécificité que le flux sanguin comme substitut de l'activité neuronale. Étant donné que le métabolisme énergétique cérébral est intimement couplé à la fonction cérébrale, le ^{18}F FDG est un excellent indice de la fonction cérébrale et peut être utilisé pour mettre en évidence de tels patrons (Kessler, 2003). Il serait aussi idéal pour déterminer les patrons d'hyper ou d'hypo métabolisme lors de la présence d'une douleur chronique, ce qui est très difficile actuellement avec les techniques d'IRMf (Clarke and Lawrence, 2013; Thompson and Bushnell, 2012). Toutes ces techniques chez l'animal nécessitent une immobilisation de l'animal soit par l'application d'une anesthésie générale, soit par une contrainte physique (Borsook and Becerra, 2011; Thompson and Bushnell, 2012). La première solution pouvant interférer sur le signal que l'on veut obtenir et la deuxième risquant d'engendrer un niveau de stress délétère à l'interprétation des données obtenues.

1.3.4 L'arthrose féline est une maladie douloureuse invalidante

Plusieurs études rétrospectives n'indiquent pas clairement que l'arthrose puisse induire des conséquences délétères chez le chat. Une première étude (Hardie et al., 2002) rapporte que seuls 4 % des animaux de leur population d'étude ont été identifiés avec des troubles de mobilité. Dans les études de Godfrey (2005) et de Clarke *et al.* (2005), environ 33 % et 17 % des chats arthrosiques, respectivement, présentaient des troubles de mobilité ou de boiterie.

Cependant, différentes études prospectives ont essayé de déterminer quels pouvaient être les comportements (ou les changements de comportement) reliés à la présence d'arthrose

(Table 1.3-IV). La première étude (Clarke and Bennett, 2006), utilisa une cohorte de chats répondant à l'administration d'un AINS, le méloxicam. Cette étude détermina des comportements qui s'amélioraient significativement suite au traitement analgésique : la capacité à sauter (habilité et hauteur ; 71 % des chats) et le niveau d'activité (61 % des chats). Dans une seconde étude le même groupe détermina des comportements pouvant être associés à la présence de douleur chronique. Cette étude utilisa un questionnaire soumis à des propriétaires de chats avec des douleurs myoarthrosquelettiques assumées être secondaire à l'arthrose et un traitement de 28 jours de méloxicam (Bennett and Morton, 2009). Avant la mise en place du traitement, les propriétaires notaient l'importance de l'atteinte de l'appréciation générale de leur animal. Ils notaient aussi des comportements, regroupés en quatre domaines (le niveau de mobilité, le niveau d'activité, les habitudes de toilettage et le tempérament), pouvant avoir changé depuis la jeunesse de leur animal. Puis, le même exercice était reproduit suite au traitement. L'ensemble des domaines comportementaux présentait des changements qui se sont significativement améliorés suite au traitement, particulièrement le niveau d'activité et le niveau de mobilité.

Une large étude prospective randomisée utilisa 50 chats parmi 100 qui ont été différenciés en faiblement ou fortement arthrosiques sur la base d'une évaluation radiographique et orthopédique (Zamprogno et al., 2010). Le niveau de douleur des chats était aussi déterminé de manière subjective. Les propriétaires étaient soumis à un questionnaire comprenant 28 questions se rapportant à différents comportements. Des différences significatives entre les deux groupes de chats ont été détectées pour 17 des 28 questions proposées. Particulièrement, les comportements relatifs au niveau d'activité et de mobilité (marche, course, saut, montée et descente des escaliers, se lever, s'étirer, les jeux), ainsi que le niveau global de qualité de vie et le sommeil, étaient mieux notés chez les animaux du groupe faiblement atteint par rapport aux animaux du groupe fortement atteint.

Une autre étude prospective d'envergure sur 100 chats essaya de déterminer à l'aide d'un questionnaire les changements de comportements et de mode de vie pouvant être associés à l'arthrose féline (Slingerland et al., 2011). Cette étude rapporte que l'arthrose était associée à une diminution de la mobilité (quantité et hauteur du saut, raideur, et difficultés à la montée et descente des escaliers) et du toilettage. Mais ces changements de comportements étaient aussi

fortement associés au vieillissement. Cette étude rapporte aussi que l'arthrose était associée de manière indépendante à une mauvaise utilisation de la litière (augmentation des déjections à côté des bords du bac de litière).

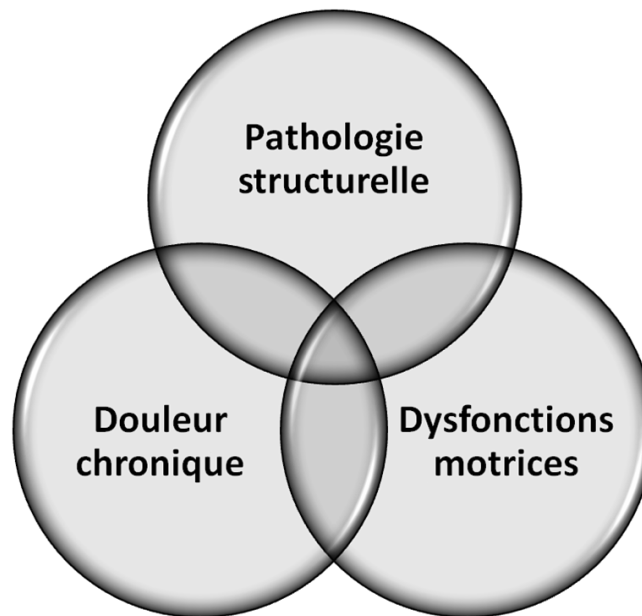
Table 1.3-IV Les principaux comportements indicatifs de douleur chronique chez le chat arthrosique

Domaine	Type	Exemples
Mobilité	Saut	Diminution du nombre, de la hauteur et de l'agilité des sauts.
	Déplacement	Raideur, difficulté de se lever, difficultés lors de la montée ou de la descente des escaliers, diminution des étirements.
	Litière	Hausse de la fréquence ou apparition de déjections à côté des bords du bac à litière.
Activité	Jeux	Diminution des jeux avec les propriétaires ou les autres animaux.
	Sommeil	Augmentation des périodes de sommeil ou de repos.
Toilettage		Diminution du temps et de la qualité du toilettage
Tempérament	Contact social	Diminution des contacts avec les propriétaires et les autres animaux, tendance à s'isoler.
	Attitude générale	Baisse de la qualité de vie, chat plus grognon.

Finalement, un questionnaire a aussi été utilisé pour déterminer les signes perçus d'arthrose par 50 propriétaires de chats au Québec (Klinck et al., 2012). Les signes les plus fréquents et qui semblaient répondre (évaluation subjective des propriétaires) à un traitement analgésique étaient une diminution de la mobilité (la démarche, le saut et la montée et descente des escaliers), du niveau d'activité, une augmentation du temps de repos, et des modifications de la posture.

L'arthrose induit donc une douleur chronique qui s'exprime par une diminution de la qualité de vie des chats atteints et des modifications comportementales. De plus, en combinant les divergences entre les signes cliniques et la présence ou la sévérité des lésions radiographiques d'arthrose et la physiopathologie de l'arthrose, il apparaît une interrelation forte entre le développement de la pathologie structurelle, la douleur chronique et les dysfonctions motrices (Figure 1.3-9).

Figure 1.3-9 Schéma de l'interrelation entre atteintes structurelles, dysfonctions motrices et douleur chronique dans l'arthrose féline



L'arthrose engendre des changements mécaniques s'exprimant par des problèmes de mobilité et de la douleur. Les changements pathologiques liés à l'arthrose peuvent s'accompagner d'une faible composante motrice mais d'une forte composante douloureuse ou inversement. De plus, la composante motrice possède une composante purement mécanique (difficultés à effectuer un mouvement), mais est aussi une composante de l'expression douloureuse (diminution de la mobilité et de l'activité). Finalement, chacune des composantes peut s'aggraver de manière indépendante l'une de l'autre et être la principale expression de la maladie.

1.3.5 L'absence de traitement validé

Actuellement, il n'y a aucun traitement validé pour le traitement de la douleur chronique associée à l'arthrose féline (Bennett et al., 2012b; Lascelles and Robertson, 2010). Les seules évidences d'une éventuelle efficacité sont rapportées pour une nourriture thérapeutique et un AINS, le méloxicam.

Une étude a évalué l'efficacité d'une nourriture riche en oméga-3 (particulièrement en acides docosahexaénoïque et eicosapentaénoïque) et complémentée en extrait de moule verte, d'hydrochlorate de glucosamine et de sulfate de chondroïtine (Lascelles et al., 2010a). Cette étude contrôlée, randomisée, à l'aveugle a suivi pendant 70 jours 40 chats arthrosiques soumis soit à la nourriture test soit à une nourriture contrôle (identique sauf pour les ingrédients actifs). L'activité motrice était mesurée objectivement à l'aide d'un accéléromètre et de

manière subjective à l'aide de questionnaires clients. De plus, le niveau de qualité de vie et le niveau de douleur étaient évalués subjectivement par les propriétaires et un vétérinaire, respectivement. Les animaux soumis à la nourriture-test ont augmenté significativement leur niveau d'activité mesurée par accélérométrie entre 18 :00 et 24 :00, alors que les animaux de la nourriture contrôle présentaient une diminution de leur niveau d'activité motrice. Par contre, une amélioration était présente pour les deux nourritures selon les évaluations subjectives.

Le méloxicam est un AINS anti-COX-2 préférentiel qui est métabolisé principalement par oxydation, ce qui peut présenter un avantage pour le chat qui possède une déficience relative en glucuronyltransférase, l'enzyme permettant l'élimination des xénobiotiques par glucuronidation (Lascelles et al., 2007a). Il est le seul AINS autorisé pour une utilisation à long terme chez le chat dans l'Union Européenne, la Suisse, l'Australie et la Nouvelle-zélande, à la dose de 0,05 mg/kg/d par voie orale après une dose de charge de 0,1 mg/kg (Sparkes et al., 2010). Il est recommandé pour le traitement de l'inflammation et de la douleur chronique associée aux douleurs musculo-squelettiques. Son utilisation à long terme est bien acceptée. La molécule a démontré très peu d'effets secondaires lors d'une étude à long terme avec des doses comprises entre 0,01 et 0,03mg/kg/d pendant environ 6 mois en moyenne et jusqu'à un an pour certains chats (Gunew et al., 2008). Dans cette étude, seuls deux chats sur 46 ont présenté des problèmes gastro-intestinaux et aucun n'a présenté de problèmes de fonction rénale. De même, une étude rétrospective sur des chats âgés arthrosiques traités avec du méloxicam par voie orale (dose quotidienne médiane de 0,02 mg/kg intervalle de 0,015-0,033 mg/kg/d) sur une longue durée (médiane de 467 et de 327 jours pour le groupe rénal et non rénal, respectivement) n'a pas trouvé d'atteinte de la fonction rénale (Gowan et al., 2011). Récemment, une étude rétrospective évaluant l'effet du méloxicam (dose médiane journalière de 0,02 mg/kg, intervalle de 0,01-0,05 mg/kg/d) sur la longévité des chats avec et sans problèmes rénaux chroniques indique que la durée de vie des chats traités n'était pas affectée (Gowan et al., 2012). Cette observation était même valable pour les animaux présentant des maladies rénales modérées à sévères préexistantes au traitement. Ces études indiquent que l'utilisation du méloxicam chez le chat âgé est sécuritaire du moment que le statut clinique de l'animal est stable et qu'il est suivi avec précaution. Les auteurs recommandent alors que la prise en charge de la douleur des vieux chats ne devrait pas être restreinte.

Le méloxicam semble améliorer le niveau de mobilité et diminuer le niveau de douleur perçu subjectivement. Cependant, le niveau de certitude de l'effet est assez faible puisque les études ne ciblent pas spécifiquement l'arthrose, sont le plus souvent non contrôlées, utilisent des évaluations subjectives ou utilisent un faible nombre d'animaux. Dans une étude non contrôlée sur 34 chats présentant des douleurs musculo-squelettiques chroniques (douleurs assumées d'être secondaires à la présence d'arthrose) utilisant des évaluations subjectives de la douleur, du tempérament et de la démarche, une amélioration significative est reportée après cinq jours de traitement oral à 0,1 mg/kg suite à une dose de charge de 0,3 mg/kg (Lascelles et al., 2001). Une autre étude non contrôlée (Clarke and Bennett, 2006), non à l'aveugle sur 28 chats rapporte une amélioration subjective de la mobilité (saut, boiterie et démarche) suite à l'administration par voie orale pendant 23 jours de 0,05 mg/kg/d après une dose de charge de 0,3 puis 0,1 mg/kg. La même équipe a effectuée une seconde étude non contrôlée, non randomisée, non à l'aveugle, sur 33 chats présentant des douleurs musculo-squelettiques (douleurs probablement secondaires à la présence d'arthrose). L'évaluation globale subjective par les propriétaires et par un vétérinaire indiquent une amélioration suite à l'administration de 0,05 mg/kg/d de méloxicam par voie orale pendant 28 jours (Bennett and Morton, 2009). Finalement, une étude pilote croisée, contrôlée, randomisée et à l'aveugle sur 14 chats arthrosiques a suivi de manière subjective le niveau de qualité de vie des chats pendant trois semaines (Lascelles et al., 2007b). De plus, l'activité motrice était suivie objectivement par un accéléromètre et subjectivement par une grille d'évaluation des propriétaires. Les chats sous traitement AINS par voie orale de 0,05 mg/kg/d ont significativement augmenté leur niveau d'activité motrice selon les mesures objective et subjective. Les propriétaires ont aussi noté une amélioration significative de la qualité de vie de leur chat. Cependant, les chats sous placebo se sont aussi significativement améliorés selon les deux évaluations subjectives. Ainsi, de manière plus convaincante, cette étude indique que l'administration de 0,05 mg/kg/d de méloxicam pourrait améliorer l'activité motrice.

De manière anecdotique (Bennett et al., 2012b; Kerwin, 2010; Lascelles and Robertson, 2010), la physiothérapie et l'utilisation de nutraceutiques (principalement des préparations à base de glucosamine, de chondroïtine ou un mélange des deux) semblent bénéfiques. De même, l'usage d'une thérapie multimodale en compléments aux AINS utilisant

divers analgésiques non approuvés chez le chat tels que l'amantadine (un antagoniste aux récepteurs NMDA), l'amitriptyline (un antidépresseur tricyclique), la gabapentine (un modulateur des canaux calciques voltage dépendant) et le tramadol (un analgésique mixte inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, et agoniste faible mu-opioïdérique) est recommandé sans preuves d'efficacité et d'innocuité (Bennett et al., 2012b; Lascelles and Robertson, 2010).

1.4 Résumé et énoncé de l'hypothèse de recherche

Cette revue de littérature nous a permis de comprendre que l'arthrose est une défaillance de l'ensemble de l'articulation (le cartilage articulaire, la membrane synoviale, l'os sous-chondral et les structures de support de l'articulation). Lors de son développement un déplacement d'équilibre est induit entre activités anaboliques et cataboliques des enzymes normalement impliquées dans la formation, le remodelage et la réparation des tissus connectifs. L'arthrose peut être initiée par une lésion cartilagineuse secondaire à un stress mécanique, une atteinte inflammatoire, ou une combinaison de ces événements. Elle conduit toujours à la déstabilisation de l'articulation et à la dégradation du cartilage articulaire. Parallèlement, le tissu synovial et l'os sous-chondral sont soumis à des modifications localisées mais importantes, secondaires à l'activité inflammatoire qui s'y développe.

Chez le chat, l'arthrose est une maladie très fréquente, particulièrement chez les chats âgés puisque probablement environ 80 % des chats âgés de plus de 11 ans sont atteints d'arthrose. L'arthrose se développe le plus souvent dans plusieurs articulations d'un même individu, particulièrement dans les articulations du coude, coxo-fémorales, du tarse et de l'épaule. Elle induit le plus souvent une douleur chronique qui s'exprime par une diminution de la qualité de vie des chats atteints et des modifications comportementales. Les principaux comportements modifiés sont des comportements liés à la mobilité (*e.g.* la diminution des sauts et les difficultés d'utilisation des escaliers) et à l'activité (*e.g.* la diminution des jeux et l'augmentation des périodes de repos) indiquant un handicap locomoteur important.

L'origine de la douleur arthrosique n'est pas bien comprise actuellement, car les mécanismes fondamentaux qui y sont reliés ne sont pas encore bien identifiés. Les recherches

sur l'animal (animaux de compagnie et rongeurs) et chez l'humain convergent toutes pour l'instant vers le fait que la douleur secondaire à l'arthrose pourrait être principalement expliquée par les phénomènes de sensibilisation primaire et centrale, ainsi que par un déficit du contrôle endogène de la douleur. Les nocicepteurs périphériques sont sensibilisés par l'inflammation présente dans la membrane synoviale articulaire et l'os sous-chondral. Ces lésions apparaissent précocement dans le développement de l'arthrose et perdurent tout au long du processus pathologique. Ainsi, les influx nociceptifs continus et intenses provenant des articulations arthrosiques et l'activation des molécules pro-inflammatoires dans les ganglions de la corne dorsale et la moelle épinière pourraient conduire à la mise en place et au maintien de la sensibilisation centrale. Cette dernière pourrait expliquer les inconsistances observées entre l'intensité douloureuse et la gravité lésionnelle. En effet, la sensibilisation centrale a comme importante conséquence la présence d'un état d'hypersensibilité. Cet état pouvant s'exprimer sous forme d'allodynie, d'hyperalgésie secondaire et d'une facilitation du phénomène de sommation temporelle. Les neurones nociceptifs de la moelle épinière sont aussi modulés par un système de contrôle. Une inefficacité des contrôles inhibiteurs peut aussi conduire à une facilitation du signal nociceptif. Il en résulte donc une amplification du signal douloureux qui peut favoriser le phénomène d'hypersensibilité.

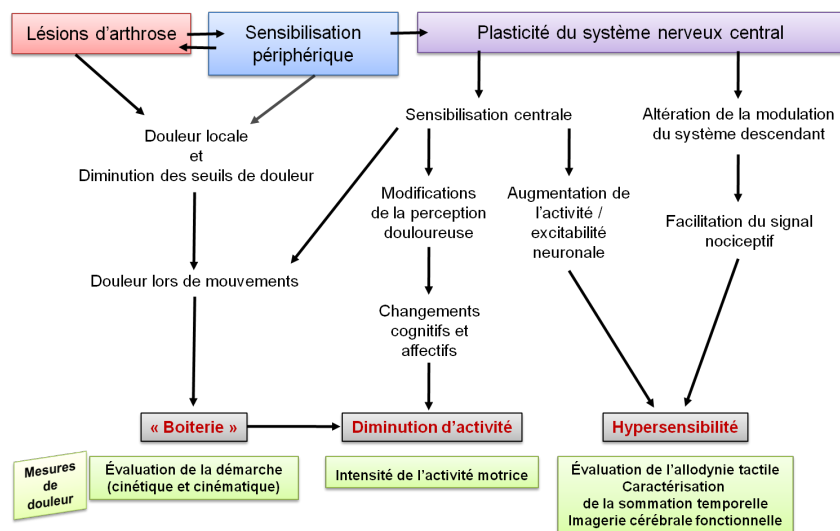
Il n'existe actuellement aucun outil validé pour l'évaluation de la douleur arthrosique chez le chat. Conséquemment, aucun traitement ciblant cette douleur n'a pu être validé. L'absence de communication chez l'animal oblige de l'utilisation de stratégies appropriées et d'outils parfois propres à une espèce donnée pour évaluer la douleur. Les mesures objectives comme marqueur de douleur chronique sont d'un grand intérêt, car elles sont quantitatives et permettent de valider par la suite les mesures subjectives. Les mesures qui ont le plus de potentiel pour évaluer la douleur arthrosique sont l'évaluation objective des handicaps fonctionnels (évaluation de la démarche et de l'activité motrice) et les tests sensoriels quantitatifs comme l'évaluation de l'allodynie tactile pour permettre de mettre en valeur les changements neurophysiologiques. Aussi le développement de techniques permettant de mieux caractériser la composante cognitive et émotionnelle de la douleur sera nécessaire. Ainsi ressort l'importance de développer des tests comportementaux permettant de mesurer l'état d'hypersensibilité comme l'évaluation de la sommation temporelle et d'utiliser

l'imagerie fonctionnelle du système nerveux central par TEP comme marqueur des changements supraspinaux, secondaires à la présence de douleurs chroniques.

Notre hypothèse de recherche (Figure 1.4-1) est que la douleur arthrosique chez le chat induit des handicaps fonctionnels, des changements neurophysiologiques et un état d'hypersensibilité qu'il faut évaluer pour quantifier de manière fiable cette douleur et ses répercussions sur la qualité de vie de l'animal.

Nos objectifs étaient 1) de développer des outils adaptés aux chats mesurant les handicaps fonctionnels grâce à des outils cinématiques, cinétiques et de suivi de l'activité motrice; 2) de caractériser les changements fonctionnels et neurophysiologiques secondaires à la douleur arthrosique et de tester avec ces outils un traitement analgésique à base d'AINS ; 3) de développer une technique adaptée aux chats pouvant caractériser la présence du phénomène de sensibilisation centrale à l'aide d'une évaluation de la sommation temporelle mécanique ; 4) de tester la possibilité de mesurer le métabolisme cérébral par TEP au ¹⁸FDG comme marqueur des changements supraspinaux, secondaires à la chronicisation de la douleur arthrosique.

Figure 1.4-1 Schématisation de l'hypothèse de recherche



La douleur arthrosique chez le chat induit des handicaps fonctionnels, des changements neurophysiologiques et un état d'hypersensibilité qu'il faut évaluer pour quantifier de manière fiable cette douleur. Nous souhaitons valider l'utilisation d'outils cinématiques et cinétiques, l'intensité de l'évaluation motrice et différentes mesures d'hypersensibilité pour mesurer objectivement la douleur chronique secondaire à l'arthrose chez le chat.

1.5 Sources documentaires

- Adamopoulos IE, Sabokbar A, Wordsworth BP, et al. (2006) Synovial fluid macrophages are capable of osteoclast formation and resorption. *J Pathol* 208: 35-43.
- Afrah AW, Fiska A, Gjerstad J, et al. (2002) Spinal substance P release *in vivo* during the induction of long-term potentiation in dorsal horn neurons. *Pain* 96: 49-55.
- Allen K. (2011) Central pain contributions in osteoarthritis: next steps for improving recognition and treatment? *Arthritis Res Ther* 13: 133.
- Almeida TF, Roizenblatt S and Tufik S. (2004) Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000: 40-56.
- Aragon CL, Hofmeister EH and Budsberg SC. (2007) Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 230: 514-521.
- Arendt-Nielsen L and Graven-Nielsen T. (2011) Translational musculoskeletal pain research. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 25: 209-226.
- Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, et al. (2010) Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 149: 573-581.
- Ayral X, Pickering EH, Woodworth TG, et al. (2005) Synovitis: a potential predictive factor of structural progression of medial tibiofemoral knee osteoarthritis -- results of a 1 year longitudinal arthroscopic study in 422 patients. *Osteoarthritis Cartilage* 13: 361-367.
- Bajaj P, Bajaj P, Graven-Nielsen T, et al. (2001) Osteoarthritis and its association with muscle hyperalgesia: an experimental controlled study. *Pain* 93: 107-114.
- Baker-LePain JC and Lane NE. (2012) Role of bone architecture and anatomy in osteoarthritis. *Bone* 51: 197-203.
- Bancroft LW, Peterson JJ and Kransdorf MJ. (2004) Cysts, geodes, and erosions. *Radiol Clin North Am* 42: 73-87.
- Beadman R, Smith RN and King AS. (1964) Vertebral osteophytes in the cat. *Vet Rec* 76: 1005-1007.
- Beale BS. (2005) Orthopedic problems in geriatric dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 655-674.
- Benarroch EE. (2008) Descending monoaminergic pain modulation: bidirectional control and clinical relevance. *Neurology* 71: 217-221.

- Benito J, Depuy V, Hardie E, et al. (2013a) Reliability and discriminatory testing of a client-based metrology instrument, feline musculoskeletal pain index (FMPI) for the evaluation of degenerative joint disease-associated pain in cats. *Vet J* 196: 368-373.
- Benito J, Hansen B, Depuy V, et al. (2013b) Feline musculoskeletal pain index: responsiveness and testing of criterion validity. *J Vet Intern Med* 27: 474-482.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012a) Osteoarthritis in the cat: 1. how common is it and how easy to recognise? *J Feline Med Surg* 14: 65-75.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012b) Osteoarthritis in the cat: 2. how should it be managed and treated? *J Feline Med Surg* 14: 76-84.
- Berenbaum F. (2013) Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthritis Cartilage* 21: 16-21.
- Berenbaum F, Eymard F and Houard X. (2013) Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Curr Opin Rheumatol* 25: 114-118.
- Berenbaum F and Sellam J. (2008) Obesity and osteoarthritis: what are the links? *Joint Bone Spine* 75: 667-668.
- Bertrand J, Cromme C, Umlauf D, et al. (2010) Molecular mechanisms of cartilage remodelling in osteoarthritis. *Int J Biochem Cell Biol* 42: 1594-1601.
- Bianco P, Fisher LW, Young MF, et al. (1990) Expression and localization of the two small proteoglycans biglycan and decorin in developing human skeletal and non-skeletal tissues. *J Histochem Cytochem* 38: 1549-1563.
- Blom AB, van Lent PL, Holthuysen AE, et al. (2004) Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 12: 627-635.
- Boileau C, Amiable N, Martel-Pelletier J, et al. (2007) Activation of proteinase-activated receptor 2 in human osteoarthritic cartilage upregulates catabolic and proinflammatory pathways capable of inducing cartilage degradation: a basic science study. *Arthritis Res Ther* 9: R121.

- Bondeson J, Wainwright SD, Lauder S, et al. (2006) The role of synovial macrophages and macrophage-produced cytokines in driving aggrecanases, matrix metalloproteinases, and other destructive and inflammatory responses in osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 8: R187.
- Bonnet CS and Walsh DA. (2005) Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford)* 44: 7-16.
- Borsook D and Becerra L. (2011) CNS animal fMRI in pain and analgesia. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 1125-1143.
- Borsook D, Sava S and Becerra L. (2010) The pain imaging revolution: advancing pain into the 21st century. *Neuroscientist* 16: 171-185.
- Boyce-Rustay JM, Zhong C, Kohnken R, et al. (2010) Comparison of mechanical allodynia and the affective component of inflammatory pain in rats. *Neuropharmacology* 58: 537-543.
- Boyd SK, Muller R, Leonard T, et al. (2005) Long-term periarticular bone adaptation in a feline knee injury model for post-traumatic experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 13: 235-242.
- Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM, et al. (2008) Assessment of pain. *Br J Anaesth* 101: 17-24.
- Briley JD, Williams MD, Freire M, et al. (2013) Feasibility and repeatability of cold and mechanical quantitative sensory testing in normal dogs. *Vet J* <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.025>.
- Brown DC, Boston RC, Coyne JC, et al. (2007) Development and psychometric testing of an instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res* 68: 631-637.
- Brown DC, Boston RC, Coyne JC, et al. (2008) Ability of the canine brief pain inventory to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 233: 1278-1283.
- Brown DC, Boston RC and Farrar JT. (2010) Use of an activity monitor to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 237: 66-70.
- Brydges NM, Argyle DJ, Mosley JR, et al. (2012) Clinical assessments of increased sensory sensitivity in dogs with cranial cruciate ligament rupture. *Vet J* 193: 545-550.

- Buldyrev I, Tanner NM, Hsieh HY, et al. (2006) Calcitonin gene-related peptide enhances release of native brain-derived neurotrophic factor from trigeminal ganglion neurons. *J Neurochem* 99: 1338-1350.
- Cailotto F, Sebillaud S, Netter P, et al. (2010) The inorganic pyrophosphate transporter ANK preserves the differentiated phenotype of articular chondrocyte. *J Biol Chem* 285: 10572-10582.
- Chapman K and Valdes AM. (2012) Genetic factors in OA pathogenesis. *Bone* 51: 258-264.
- Clarke CF and Lawrence KS. (2013) Functional imaging for interpretation of pain pathways: current clinical application/relevance and future initiatives. *Curr Pain Headache Rep* 17: 311.
- Clarke SP and Bennett D. (2006) Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *J Small Anim Pract* 47: 439-445.
- Clarke SP, Mellor D, Clements DN, et al. (2005) Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Vet Rec* 157: 793-799.
- Conaghan PG. (2009) Structural correlates of osteoarthritis pain: lessons from magnetic resonance imaging. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 185-198.
- Cox LG, van Donkelaar CC, van Rietbergen B, et al. (2013) Alterations to the subchondral bone architecture during osteoarthritis: bone adaptation vs endochondral bone formation. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 331-338.
- Creamer P. (2009) Current perspectives on the clinical presentation of joint pain in human osteoarthritis. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 211-228.
- Davis KD and Moayed M. (2012) Central Mechanisms of Pain Revealed Through Functional and Structural MRI. *J Neuroimmune Pharmacol*.
- de Klerk BM, Schiphof D, Groeneveld FP, et al. (2009) No clear association between female hormonal aspects and osteoarthritis of the hand, hip and knee: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)* 48: 1160-1165.
- Ding C, Zhang Y and Hunter D. (2013) Use of imaging techniques to predict progression in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 25: 127-135.

- Dodd AW, Rodriguez-Fontenla C, Calaza M, et al. (2011) Deep sequencing of GDF5 reveals the absence of rare variants at this important osteoarthritis susceptibility locus. *Osteoarthritis Cartilage* 19: 430-434.
- Echtermeyer F, Bertrand J, Dreier R, et al. (2009) Syndecan-4 regulates ADAMTS-5 activation and cartilage breakdown in osteoarthritis. *Nat Med* 15: 1072-1076.
- Eckstein F, Wirth W and Nevitt MC. (2012) Recent advances in osteoarthritis imaging--the osteoarthritis initiative. *Nat Rev Rheumatol* 8: 622-630.
- Egli RJ, Southam L, Wilkins JM, et al. (2009) Functional analysis of the osteoarthritis susceptibility-associated GDF5 regulatory polymorphism. *Arthritis Rheum* 60: 2055-2064.
- Eyre DR. (1991) The collagens of articular cartilage. *Semin Arthritis Rheum* 21: 2-11.
- Eyre DR, Weis MA and Wu JJ. (2006) Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework? *Eur Cell Mater* 12: 57-63.
- Fan Z, Soder S, Oehler S, et al. (2007) Activation of interleukin-1 signaling cascades in normal and osteoarthritic articular cartilage. *Am J Pathol* 171: 938-946.
- Felson DT. (2013) Osteoarthritis as a disease of mechanics. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 10-15.
- Fields HL, Malick A and Burstein R. (1995) Dorsal horn projection targets of ON and OFF cells in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol* 74: 1742-1759.
- Finan PH, Buenaver LF, Bounds SC, et al. (2013) Discordance between pain and radiographic severity in knee osteoarthritis: findings from quantitative sensory testing of central sensitization. *Arthritis Rheum* 65: 363-372.
- Finsson KW, Chi Y, Bou-Gharios G, et al. (2012) TGF- β signaling in cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Front Biosci (Schol Ed)* 4: 251-268.
- Fortier LA, Barker JU, Strauss EJ, et al. (2011) The role of growth factors in cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res* 469: 2706-2715.
- Freire M, Brown J, Robertson ID, et al. (2010) Meniscal mineralization in domestic cats. *Vet Surg* 39: 545-552.
- Freire M, Robertson I, Bondell HD, et al. (2011) Radiographic evaluation of feline appendicular degenerative joint disease vs. macroscopic appearance of articular cartilage. *Vet Radiol Ultrasound* 52: 239-247.

- Gahunia HK and Pritzker KP. (2012) Effect of exercise on articular cartilage. *Orthop Clin North Am* 43: 187-199, v.
- Gao X, Lee J, Malladi S, et al. (2013) Feline degenerative joint disease: a genomic and proteomic approach. *J Feline Med Surg* 15: 466-477.
- Gingerich DA and Strobel JD. (2003) Use of client-specific outcome measures to assess treatment effects in geriatric, arthritic dogs: controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther* 4: 376-386.
- Godfrey DR. (2005) Osteoarthritis in cats: a retrospective radiological study. *J Small Anim Pract* 46: 425-429.
- Gold MS and Gebhart GF. (2010) Nociceptor sensitization in pain pathogenesis. *Nat Med* 16: 1248-1257.
- Goldring MB and Goldring SR. (2007) Osteoarthritis. *J Cell Physiol* 213: 626-634.
- Goldring MB and Goldring SR. (2010) Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci* 1192: 230-237.
- Goldring MB and Marcu KB. (2009) Cartilage homeostasis in health and rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* 11: 224.
- Goldring MB, Otero M, Tsuchimochi K, et al. (2008) Defining the roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism. *Ann Rheum Dis* 67 Suppl 3: iii75-82.
- Goldring SR. (2008) The role of bone in osteoarthritis pathogenesis. *Rheum Dis Clin North Am* 34: 561-571.
- Goldring SR. (2009) Role of bone in osteoarthritis pathogenesis. *Med Clin North Am* 93: 25-35, xv.
- Gowan RA, Baral RM, Lingard AE, et al. (2012) A retrospective analysis of the effects of meloxicam on the longevity of aged cats with and without overt chronic kidney disease. *J Feline Med Surg* 14: 876-881.
- Gowan RA, Lingard AE, Johnston L, et al. (2011) Retrospective case-control study of the effects of long-term dosing with meloxicam on renal function in aged cats with degenerative joint disease. *J Feline Med Surg* 13: 752-761.
- Graven-Nielsen T, Wodehouse T, Langford RM, et al. (2012) Normalization of widespread hyperesthesia and facilitated spatial summation of deep-tissue pain in knee osteoarthritis patients after knee replacement. *Arthritis Rheum* 64: 2907-2916.

- Guermazi A, Roemer FW, Burstein D, et al. (2011a) Why radiography should no longer be considered a surrogate outcome measure for longitudinal assessment of cartilage in knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 13: 247.
- Guermazi A, Roemer FW and Hayashi D. (2011b) Imaging of osteoarthritis: update from a radiological perspective. *Curr Opin Rheumatol* 23: 484-491.
- Guilak F. (2011) Biomechanical factors in osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 25: 815-823.
- Gunew MN, Menrath VH and Marshall RD. (2008) Long-term safety, efficacy and palatability of oral meloxicam at 0.01-0.03 mg/kg for treatment of osteoarthritic pain in cats. *J Feline Med Surg* 10: 235-241.
- Gwilym SE, Keltner JR, Warnaby CE, et al. (2009) Psychophysical and functional imaging evidence supporting the presence of central sensitization in a cohort of osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum* 61: 1226-1234.
- Halasz K, Kassner A, Morgelin M, et al. (2007) COMP acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis. *J Biol Chem* 282: 31166-31173.
- Hannan MT, Felson DT and Pincus T. (2000) Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol* 27: 1513-1517.
- Hansen BD, Lascelles BD, Keene BW, et al. (2007) Evaluation of an accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *Am J Vet Res* 68: 468-475.
- Harden RN, Wallach G, Gagnon CM, et al. (2013) The osteoarthritis knee model: psychophysical characteristics and putative outcomes. *J Pain* 14: 281-289.
- Hardie EM, Roe SC and Martin FR. (2002) Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *J Am Vet Med Assoc* 220: 628-632.
- Hardingham TE. (2010) Fell-Muir lecture: cartilage 2010 - the known unknowns. *Int J Exp Pathol* 91: 203-209.
- Haseeb A and Haqqi TM. (2013) Immunopathogenesis of osteoarthritis. *Clin Immunol* 146: 185-196.
- Heinricher MM, Morgan MM and Fields HL. (1992) Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* 48: 533-543.

- Herzog W, Adams ME, Matyas JR, et al. (1993) Hindlimb loading, morphology and biochemistry of articular cartilage in the ACL-deficient cat knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1: 243-251.
- Hielm-Bjorkman AK, Kapatkin AS and Rita HJ. (2011) Reliability and validity of a visual analogue scale used by owners to measure chronic pain attributable to osteoarthritis in their dogs. *Am J Vet Res* 72: 601-607.
- Hielm-Bjorkman AK, Kuusela E, Liman A, et al. (2003) Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 222: 1552-1558.
- Hochman JR, Davis AM, Elkayam J, et al. (2013) Neuropathic pain symptoms on the modified painDETECT correlate with signs of central sensitization in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1236-1242.
- Hu PF, Bao JP and Wu LD. (2011) The emerging role of adipokines in osteoarthritis: a narrative review. *Mol Biol Rep* 38: 873-878.
- Huang K and Wu LD. (2008) Aggrecanase and aggrecan degradation in osteoarthritis: a review. *J Int Med Res* 36: 1149-1160.
- Hui AY, McCarty WJ, Masuda K, et al. (2012) A systems biology approach to synovial joint lubrication in health, injury, and disease. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 4: 15-37.
- Hunter DJ, Gerstenfeld L, Bishop G, et al. (2009) Bone marrow lesions from osteoarthritis knees are characterized by sclerotic bone that is less well mineralized. *Arthritis Res Ther* 11: R11.
- Hunter DJ, Guermazi A, Roemer F, et al. (2013) Structural correlates of pain in joints with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1170-1178.
- Hunter DJ, Zhang Y, Niu J, et al. (2006) Increase in bone marrow lesions associated with cartilage loss: a longitudinal magnetic resonance imaging study of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 54: 1529-1535.
- IASP, IASP taxonomy [en ligne], <http://www.iasp-pain.org/Education> (page consultée le 2 mars 2014).
- Imamura M, Imamura ST, Kaziyama HH, et al. (2008) Impact of nervous system hyperalgesia on pain, disability, and quality of life in patients with knee osteoarthritis: a controlled analysis. *Arthritis Rheum* 59: 1424-1431.

- Jones AK, Huneke NT, Lloyd DM, et al. (2012) Role of functional brain imaging in understanding rheumatic pain. *Curr Rheumatol Rep* 14: 557-567.
- Junot S, Troncy E and Frank D. (2007) Comment diagnostiquer la douleur. *Le médecin vétérinaire du Québec* 36: 9-16.
- Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, et al. (2011) Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7: 33-42.
- Keller GG, Reed AL, Lattimer JC, et al. (1999) Hip dysplasia: a feline population study. *Vet Radiol Ultrasound* 40: 460-464.
- Kelly S, Dobson KL and Harris J. (2013) Spinal nociceptive reflexes are sensitized in the monosodium iodoacetate model of osteoarthritis pain in the rat. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1327-1335.
- Kerkhof HJ, Lories RJ, Meulenbelt I, et al. (2010) A genome-wide association study identifies an osteoarthritis susceptibility locus on chromosome 7q22. *Arthritis Rheum* 62: 499-510.
- Kerwin SC. (2010) Osteoarthritis in cats. *Top Companion Anim Med* 25: 218-223.
- Kessler RM. (2003) Imaging methods for evaluating brain function in man. *Neurobiol Aging* 24 Suppl 1: S21-35; discussion S37-29.
- Khasabov SG, Rogers SD, Ghilardi JR, et al. (2002) Spinal neurons that possess the substance P receptor are required for the development of central sensitization. *J Neurosci* 22: 9086-9098.
- Kidd BL. (2006) Osteoarthritis and joint pain. *Pain* 123: 6-9.
- Kidd BL and McDougall JJI. (2009) Inflammatory mediators and nociception in osteoarthritis. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 55-72.
- King CD, Sibille KT, Goodin BR, et al. (2013) Experimental pain sensitivity differs as a function of clinical pain severity in symptomatic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1243-1252.
- Klinck MP, Frank D, Guillot M, et al. (2012) Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Can Vet J* 53: 1181-1186.

- Koelling S, Clauditz TS, Kaste M, et al. (2006) Cartilage oligomeric matrix protein is involved in human limb development and in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 8: R56.
- Konde LJ, Thrall MA, Gasper P, et al. (1987) Radiographically visualized skeletal changes associated with mucopolysaccharidosis VI in cats. *Veterinary Radiology* 28: 223-228.
- Kosek E and Ordeberg G. (2000) Lack of pressure pain modulation by heterotopic noxious conditioning stimulation in patients with painful osteoarthritis before, but not following, surgical pain relief. *Pain* 88: 69-78.
- Kraus VB. (2010) Waiting for action on the osteoarthritis front. *Curr Drug Targets* 11: 518-520.
- Kulkarni B, Bentley DE, Elliott R, et al. (2007) Arthritic pain is processed in brain areas concerned with emotions and fear. *Arthritis Rheum* 56: 1345-1354.
- Kuner R. (2010) Central mechanisms of pathological pain. *Nat Med* 16: 1258-1266.
- Kupers R and Kehlet H. (2006) Brain imaging of clinical pain states: a critical review and strategies for future studies. *Lancet Neurol* 5: 1033-1044.
- Kwan Tat S, Lajeunesse D, Pelletier JP, et al. (2010) Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 24: 51-70.
- Lanyon P, Muir K, Doherty S, et al. (2000) Assessment of a genetic contribution to osteoarthritis of the hip: sibling study. *BMJ* 321: 1179-1183.
- Lascelles BD. (2010) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD. (2013) Getting a sense of sensations. *Vet J* 197: 115-117.
- Lascelles BD, Court MH, Hardie EM, et al. (2007a) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review. *Vet Anaesth Analg* 34: 228-250.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010a) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Dong YH, Marcellin-Little DJ, et al. (2012) Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BMC Vet Res* 8: 10.
- Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES, et al. (2008a) Amantadine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med* 22: 53-59.

- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007b) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.
- Lascelles BD, Hansen BD, Thomson A, et al. (2008b) Evaluation of a digitally integrated accelerometer-based activity monitor for the measurement of activity in cats. *Vet Anaesth Analg* 35: 173-183.
- Lascelles BD, Henderson AJ and Hackett IJ. (2001) Evaluation of the clinical efficacy of meloxicam in cats with painful locomotor disorders. *J Small Anim Pract* 42: 587-593.
- Lascelles BD, Henry JB, 3rd, Brown J, et al. (2010b) Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Vet Surg* 39: 535-544.
- Lascelles BD and Robertson SA. (2010) DJD-associated pain in cats: what can we do to promote patient comfort? *J Feline Med Surg* 12: 200-212.
- Latremoliere A and Woolf CJ. (2009) Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain* 10: 895-926.
- Le Bars D, Gozariu M and Cadden SW. (2001) Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 53: 597-652.
- Lee YC, Nassikas NJ and Clauw DJ. (2011) The role of the central nervous system in the generation and maintenance of chronic pain in rheumatoid arthritis, osteoarthritis and fibromyalgia. *Arthritis Res Ther* 13: 211.
- Li X, Kim JS, van Wijnen AJ, et al. (2011) Osteoarthritic tissues modulate functional properties of sensory neurons associated with symptomatic OA pain. *Mol Biol Rep* 38: 5335-5339.
- Lin AC, Seeto BL, Bartoszko JM, et al. (2009) Modulating hedgehog signaling can attenuate the severity of osteoarthritis. *Nat Med* 15: 1421-1425.
- Little CB, Barai A, Burkhardt D, et al. (2009) Matrix metalloproteinase 13-deficient mice are resistant to osteoarthritic cartilage erosion but not chondrocyte hypertrophy or osteophyte development. *Arthritis Rheum* 60: 3723-3733.
- Livingston A. (2010) Pain and analgesia in domestic animals. *Handb Exp Pharmacol*: 159-189.
- Loeser RF. (2008) Molecular mechanisms of cartilage destruction in osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 8: 303-306.

- Loeser RF. (2013) Aging processes and the development of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 25: 108-113.
- Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al. (2012) Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum* 64: 1697-1707.
- Lories RJ, Corr M and Lane NE. (2013) To Wnt or not to Wnt: the bone and joint health dilemma. *Nat Rev Rheumatol* 9: 328-339.
- Lories RJ and Luyten FP. (2005) Bone morphogenetic protein signaling in joint homeostasis and disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 16: 287-298.
- Loughin CA, Kerwin SC, Hosgood G, et al. (2006) Clinical signs and results of treatment in cats with patellar luxation: 42 cases (1992-2002). *J Am Vet Med Assoc* 228: 1370-1375.
- Lowitz T, Museyko O, Bousson V, et al. (2013) Bone marrow lesions identified by MRI in knee osteoarthritis are associated with locally increased bone mineral density measured by QCT. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 957-964.
- Luyten FP, Tylzanowski P and Lories RJ. (2009) Wnt signaling and osteoarthritis. *Bone* 44: 522-527.
- Malfait AM and Schnitzer TJ. (2013) Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 9: 654-64.
- Malik R, Allan GS, Howlett CR, et al. (1999) Osteochondrodysplasia in Scottish Fold cats. *Aust Vet J* 77: 85-92.
- Mapp PI and Walsh DA. (2012) Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 8: 390-398.
- Marchand S. (2008) The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. *Rheum Dis Clin North Am* 34: 285-309.
- Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier JP, et al. (2008) Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 22: 351-384.
- Mathews KA. (2000) Pain assessment and general approach to management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 30: 729-755, v.
- McLaughlin RM. (2001) Kinetic and kinematic gait analysis in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31: 193-201.

- Mease PJ, Hanna S, Frakes EP, et al. (2011) Pain mechanisms in osteoarthritis: understanding the role of central pain and current approaches to its treatment. *J Rheumatol* 38: 1546-1551.
- Meintjes RA. (2012) An overview of the physiology of pain for the veterinarian. *Vet J* 193: 344-348.
- Melzack R and Wall PD. (1965) Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150: 971-979.
- Messent EA, Ward RJ, Tonkin CJ, et al. (2007) Osteophytes, juxta-articular radiolucencies and cancellous bone changes in the proximal tibia of patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 15: 179-186.
- Millan MJ. (1999) The induction of pain: an integrative review. *Prog Neurobiol* 57: 1-164.
- Millan MJ. (2002) Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 66: 355-474.
- Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, et al. (2007) A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet* 39: 529-533.
- Mogil JS. (2009) Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci* 10: 283-294.
- Moreau M, Lussier B, Doucet M, et al. (2007) Efficacy of licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec* 160: 584-588.
- Moreau M, Pelletier JP, Lussier B, et al. (2013) *A posteriori* comparison of natural and surgical destabilization models of canine osteoarthritis. *Biomed Res Int* 2013: 180453.
- Moreau M, Rialland P, Pelletier JP, et al. (2011) Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Res Ther* 13: R98.
- Morgan MM, Heinricher MM and Fields HL. (1992) Circuitry linking opioid-sensitive nociceptive modulatory systems in periaqueductal gray and spinal cord with rostral ventromedial medulla. *Neuroscience* 47: 863-871.
- Murphy SL, Lyden AK, Phillips K, et al. (2011) Association between pain, radiographic severity, and centrally-mediated symptoms in women with knee osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 63: 1543-1549.
- Navratilova E, Xie JY, King T, et al. (2013) Evaluation of reward from pain relief. *Ann N Y Acad Sci* 1282: 1-11.

- Neogi T. (2013) The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1145-1153.
- Neogi T, Felson D, Niu J, et al. (2009) Association between radiographic features of knee osteoarthritis and pain: results from two cohort studies. *BMJ* 339: b2844.
- Norrdin RW, Simske SJ, Gaarde S, et al. (1995) Bone changes in mucopolysaccharidosis VI in cats and the effects of bone marrow transplantation: mechanical testing of long bones. *Bone* 17: 485-489.
- Notoya K, Jovanovic DV, Reboul P, et al. (2000) The induction of cell death in human osteoarthritis chondrocytes by nitric oxide is related to the production of prostaglandin E2 via the induction of cyclooxygenase-2. *J Immunol* 165: 3402-3410.
- Oda H, Igarashi M, Sase H, et al. (2008) Bone bruise in magnetic resonance imaging strongly correlates with the production of joint effusion and with knee osteoarthritis. *J Orthop Sci* 13: 7-15.
- Ogino S, Sasho T, Nakagawa K, et al. (2009) Detection of pain-related molecules in the subchondral bone of osteoarthritic knees. *Clin Rheumatol* 28: 1395-1402.
- Parks EL, Geha PY, Baliki MN, et al. (2011) Brain activity for chronic knee osteoarthritis: dissociating evoked pain from spontaneous pain. *Eur J Pain* 15: 843 e841-814.
- Pelligand L and Lees P. (2013) Monitoring and treating chronic pain in cats: bring on the challenge! *Vet J* 196: 275-276.
- Pereira D, Peleteiro B, Araujo J, et al. (2011) The effect of osteoarthritis definition on prevalence and incidence estimates: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage* 19: 1270-1285.
- Peterson ME. (2007) Acromegaly in cats: are we only diagnosing the tip of the iceberg? *J Vet Intern Med* 21: 889-891.
- Peterson ME, Taylor RS, Greco DS, et al. (1990) Acromegaly in 14 cats. *J Vet Intern Med* 4: 192-201.
- Piperno M, Reboul P, Hellio le Graverand MP, et al. (1998) Osteoarthritic cartilage fibrillation is associated with a decrease in chondrocyte adhesion to fibronectin. *Osteoarthritis Cartilage* 6: 393-399.

- Plumb DA, Dhir V, Mironov A, et al. (2007) Collagen XXVII is developmentally regulated and forms thin fibrillar structures distinct from those of classical vertebrate fibrillar collagens. *J Biol Chem* 282: 12791-12795.
- Poole AR, Rosenberg LC, Reiner A, et al. (1996) Contents and distributions of the proteoglycans decorin and biglycan in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *J Orthop Res* 14: 681-689.
- Price DD. (2002) Central neural mechanisms that interrelate sensory and affective dimensions of pain. *Mol Interv* 2: 392-403, 339.
- Prieto-Alhambra D, Judge A, Javaid MK, et al. (2013) Incidence and risk factors for clinically diagnosed knee, hip and hand osteoarthritis: influences of age, gender and osteoarthritis affecting other joints. *Ann Rheum Dis*.
- Rahman W, Bauer CS, Bannister K, et al. (2009) Descending serotonergic facilitation and the antinociceptive effects of pregabalin in a rat model of osteoarthritic pain. *Mol Pain* 5: 45.
- Rannou F, Sellam J and Berenbaum F. (2010) [Pathophysiology of osteoarthritis: updated concepts]. *Presse Med* 39: 1159-1163.
- Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Bias P, et al. (2009) Protective effects of licofelone, a 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor, versus naproxen on cartilage loss in knee osteoarthritis: a first multicentre clinical trial using quantitative MRI. *Ann Rheum Dis* 68: 938-947.
- Reginato AM and Olsen BR. (2002) The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis Res* 4: 337-345.
- Ren K and Dubner R. (2010) Interactions between the immune and nervous systems in pain. *Nat Med* 16: 1267-1276.
- Renberg WC. (2005) Pathophysiology and management of arthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 1073-1091, v.
- Reynard LN, Bui C, Canty-Laird EG, et al. (2011) Expression of the osteoarthritis-associated gene GDF5 is modulated epigenetically by DNA methylation. *Hum Mol Genet* 20: 3450-3460.

- Rialland P, Bichot S, Lussier B, et al. (2013) Effect of a diet enriched with green-lipped mussel on pain behavior and functioning in dogs with clinical osteoarthritis. *Can J Vet Res* 77: 66-74.
- Rialland P, Bichot S, Moreau M, et al. (2012) Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine osteoarthritis. *BMC Vet Res* 8: 162.
- Rigoglou S and Papavassiliou AG. (2013) The NF- κ B signalling pathway in osteoarthritis. *Int J Biochem Cell Biol* <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2013.08.018>.
- Robertson SA. (2008) Managing pain in feline patients. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 38: 1267-1290, vi.
- Roemer FW, Kassim Javaid M, Guermazi A, et al. (2010) Anatomical distribution of synovitis in knee osteoarthritis and its association with joint effusion assessed on non-enhanced and contrast-enhanced MRI. *Osteoarthritis Cartilage* 18: 1269-1274.
- Ryan JM, Lascelles BD, Benito J, et al. (2013) Histological and molecular characterisation of feline humeral condylar osteoarthritis. *BMC Vet Res* 9: 110.
- Sandkuhler J. (2009) Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol Rev* 89: 707-758.
- Scanzello CR and Goldring SR. (2012) The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone* 51: 249-257.
- Schaible HG, Richter F, Ebersberger A, et al. (2009) Joint pain. *Exp Brain Res* 196: 153-162.
- Scharstuhl A, Vitters EL, van der Kraan PM, et al. (2003) Reduction of osteophyte formation and synovial thickening by adenoviral overexpression of transforming growth factor beta/bone morphogenetic protein inhibitors during experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 48: 3442-3451.
- Scott JE and Stockwell RA. (2006) Cartilage elasticity resides in shape module decoran and aggrecan sumps of damping fluid: implications in osteoarthrosis. *J Physiol* 574: 643-650.
- Sellam J and Berenbaum F. (2010) The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 6: 625-635.
- Sellam J and Berenbaum F. (2013) Is osteoarthritis a metabolic disease? *Joint Bone Spine* 80: 568-73.

- Slingerland LI, Hazewinkel HA, Meij BP, et al. (2011) Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Vet J* 187: 304-309.
- Sneddon LU. (2009) Pain perception in fish: indicators and endpoints. *ILAR J* 50: 338-342.
- Sofat N, Ejindu V and Kiely P. (2011) What makes osteoarthritis painful? The evidence for local and central pain processing. *Rheumatology (Oxford)* 50: 2157-2165.
- Sparkes AH, Heiene R, Lascelles BD, et al. (2010) ISFM and AAFP consensus guidelines: long-term use of NSAIDs in cats. *J Feline Med Surg* 12: 521-538.
- Staud R. (2011) Evidence for shared pain mechanisms in osteoarthritis, low back pain, and fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep* 13: 513-520.
- Suokas AK, Walsh DA, McWilliams DF, et al. (2012) Quantitative sensory testing in painful osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 20: 1075-1085.
- Suri S and Walsh DA. (2012) Osteochondral alterations in osteoarthritis. *Bone* 51: 204-211.
- Sutton S, Clutterbuck A, Harris P, et al. (2009) The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet J* 179: 10-24.
- Taljanovic MS, Graham AR, Benjamin JB, et al. (2008) Bone marrow edema pattern in advanced hip osteoarthritis: quantitative assessment with magnetic resonance imaging and correlation with clinical examination, radiographic findings, and histopathology. *Skeletal Radiol* 37: 423-431.
- Thompson SJ and Bushnell MC. (2012) Rodent functional and anatomical imaging of pain. *Neurosci Lett* 520: 131-139.
- Troeberg L and Nagase H. (2012) Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta* 1824: 133-145.
- Valdes AM, Evangelou E, Kerkhof HJ, et al. (2011) The GDF5 rs143383 polymorphism is associated with osteoarthritis of the knee with genome-wide statistical significance. *Ann Rheum Dis* 70: 873-875.
- Valdes AM, McWilliams D, Arden NK, et al. (2010) Involvement of different risk factors in clinically severe large joint osteoarthritis according to the presence of hand interphalangeal nodes. *Arthritis Rheum* 62: 2688-2695.

- Valdes AM and Spector TD. (2010) The clinical relevance of genetic susceptibility to osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 24: 3-14.
- Valdes AM and Spector TD. (2011) Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7: 23-32.
- van der Kraan PM and van den Berg WB. (2007) Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis Cartilage* 15: 237-244.
- van Lent PL, Blom AB, van der Kraan P, et al. (2004) Crucial role of synovial lining macrophages in the promotion of transforming growth factor beta-mediated osteophyte formation. *Arthritis Rheum* 50: 103-111.
- van Meurs JB, Uitterlinden AG, Stolk L, et al. (2009) A functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene is associated with osteoarthritis-related pain. *Arthritis Rheum* 60: 628-629.
- Verma P and Dalal K. (2011) ADAMTS-4 and ADAMTS-5: key enzymes in osteoarthritis. *J Cell Biochem* 112: 3507-3514.
- Walk D, Sehgal N, Moeller-Bertram T, et al. (2009) Quantitative sensory testing and mapping: a review of nonautomated quantitative methods for examination of the patient with neuropathic pain. *Clin J Pain* 25: 632-640.
- Walsh DA, Bonnet CS, Turner EL, et al. (2007) Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 15: 743-751.
- Wang Q, Rozelle AL, Lepus CM, et al. (2011) Identification of a central role for complement in osteoarthritis. *Nat Med* 17: 1674-1679.
- Wartolowska K and Tracey I. (2009) Neuroimaging as a tool for pain diagnosis and analgesic development. *Neurotherapeutics* 6: 755-760.
- Weinans H, Siebelt M, Agricola R, et al. (2012) Pathophysiology of peri-articular bone changes in osteoarthritis. *Bone* 51: 190-196.
- Wenham CY and Conaghan PG. (2009) Imaging the painful osteoarthritic knee joint: what have we learned? *Nat Clin Pract Rheumatol* 5: 149-158.
- Willis WD and Westlund KN. (1997) Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. *J Clin Neurophysiol* 14: 2-31.
- Woolf CJ. (2004) Pain: moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med* 140: 441-451.

- Woolf CJ. (2011) Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152: S2-15.
- Yaksh TL. (2005) Opiate analgesia. In: Merskey H, Loeser JD and Dubner R (eds) *The paths of pain 1975-2005*. Seattle: IASP press, 209-228.
- Younger J, McCue R and Mackey S. (2009) Pain outcomes: a brief review of instruments and techniques. *Curr Pain Headache Rep* 13: 39-43.
- Zamprogno H, Hansen BD, Bondell HD, et al. (2010) Item generation and design testing of a questionnaire to assess degenerative joint disease-associated pain in cats. *Am J Vet Res* 71: 1417-1424.
- Zanetti M, Bruder E, Romero J, et al. (2000) Bone marrow edema pattern in osteoarthritic knees: correlation between MR imaging and histologic findings. *Radiology* 215: 835-840.
- Zhai G, Hart DJ, Kato BS, et al. (2007) Genetic influence on the progression of radiographic knee osteoarthritis: a longitudinal twin study. *Osteoarthritis Cartilage* 15: 222-225.
- Zhang RX, Ren K and Dubner R. (2013) Osteoarthritis pain mechanisms: basic studies in animal models. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1308-1315.
- Zimmerman M. (1986) Physiological mechanisms of pain and its treatment. *Klin Anasthesiol Intensivther* 32: 1-19.
- Zoran DL. (2010) Obesity in dogs and cats: a metabolic and endocrine disorder. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 40: 221-239.

2 PUBLICATIONS

Pour répondre au premier objectif, sont présentés les manuscrits de deux études pilotes. Le premier, « *Coxofemoral joint kinematics using video-fluoroscopic images of treadmill walking cats: development of a technique to assess osteoarthritis-associated disability* » (Guillot M, Gravel P, Gauthier M-L, Leblond H, Tremblay M, Rossignol S, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, de Guise JA, Troncy E) a été accepté dans le *Journal of Feline Medicine and Surgery* et est actuellement en correction. Ce manuscrit indique que l'amplitude de mouvement de l'articulation coxo-fémorale a le potentiel de servir de marqueur objectif d'incapacité secondaire à la douleur chronique d'origine arthrosique. Le deuxième, « *Evaluation of osteoarthritis in cats: novel information from a pilot study* » (Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, Troncy E.) est publié dans *Veterinary Surgery*, (2012, 41: 328-335). Ce manuscrit rapporte pour la première fois les lésions structurelles d'arthrose par IRM et indique que le suivi de l'activité motrice par accélérométrie et la mesure des forces d'appui au sol des membres lors du trot sur un tapis de pression ont aussi le potentiel de servir de marqueur objectif d'incapacité secondaire à la douleur chronique d'origine arthrosique.

Pour répondre au deuxième objectif est présenté le manuscrit d'une étude préclinique longitudinale randomisée, contrôlée et à l'aveugle « *Characterisation of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools* » (Guillot M, Moreau M, Heit M, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, Troncy E.) qui est publié dans *Veterinary Journal* (2013, 196: 360-367). Ce manuscrit confirme que le suivi de l'activité motrice et la mesure des forces d'appui au sol des membres sont des marqueurs sensibles de la douleur chronique d'origine arthrosique. Il rapporte que ces mesures sont fiables. Grâce à ces outils, l'efficacité analgésique du méloxicam est démontrée chez les chats arthrosiques. De plus, ce manuscrit rapporte un état d'hypersensibilité allodynique au toucher chez environ 30% des chats arthrosiques étudiés grâce à l'évaluation des seuils de retrait au von Frey. Cela représente la première description d'un état d'hypersensibilité secondaire à la douleur arthrosique chez le chat.

Pour répondre au troisième objectif est présenté le manuscrit d'une étude longitudinale randomisée à l'aveugle « *Evoked temporal summation in cats to highlight central sensitization related to osteoarthritis-associated chronic pain: A preliminary study* » (Guillot M, Taylor PM, Rialland P, Klinck MP, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, Troncy E.) soumis à PLoS-One. Ce manuscrit rapporte pour la première fois l'utilisation de la sommation temporelle mécanique sur chats vigiles. Il confirme les résultats obtenus avec l'évaluation des seuils de retrait au von Frey indiquant que la sensibilisation centrale se développe chez les chats arthrosiques.

Pour répondre au quatrième objectif est présenté le manuscrit d'une short communication d'une étude pilote « *[¹⁸F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography of the cat brain: feasibility study to investigate osteoarthritis-associated pain* » (Guillot M, Chartrand G, Chav R, Rousseau J, Beaudoin J-F, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, Lecomte R, de Guise JA, Troncy E) soumis à Veterinary Journal. Ce manuscrit grâce à l'utilisation d'imagerie cérébrale fonctionnelle rapporte une augmentation du métabolisme cérébrale dans différentes régions clés de la modulation douloureuse chez les chats arthrosiques en comparaison au chats non arthrosiques. Ces résultats sont en accord avec le développement du phénomène de sensibilisation centrale lors de douleur arthrosique et apportent une dimension supplémentaire à l'évaluation de la douleur arthrosique grâce à la mesure de l'activité des centres supérieurs.

2.1 Coxofemoral joint kinematics using video-fluoroscopic images of treadmill walking cats: development of a technique to assess osteoarthritis-associated disability

M. Guillot^{4,5}, P. Gravel⁶, M-L. Gauthier⁴, H. Leblond⁷, M. Tremblay⁷, S. Rossignol⁷, J. Martel-Pelletier⁵, J-P. Pelletier⁵, J.A. de Guise⁸, E. Troncy^{4,5}

2.1.1 Abstract

The objectives were, in a pilot study, to develop a method based on video-fluoroscopy kinematics of the coxofemoral joint in cats with and without osteoarthritis (OA)-associated disability changes. Two non-OA, and four cats affected by coxofemoral OA, were evaluated by video-fluoroscopy. Video-fluoroscopic images of the coxofemoral joints were captured at 120 frames/s while cats walked freely on a treadmill at a 0.4 m/s speed using a customized C-arm X-ray system equipped with a high-speed scan camera. The angle pattern overtime of the coxofemoral joints were extracted using a graphic user interfaces following four steps: (a) correction for image distortion, (b) image denoising, and contrast enhancement, (c) frame-to-frame anatomical marker identification, and (d) statistical gait analysis. A reliability analysis was performed. The OA cats presented more variability in the coxofemoral angle overtime and in gait cycle time. Three OA cats presented an asymmetry of the amplitude of the coxofemoral joint angle in the sagittal plane (two significantly and one as a clear tendency) matching with their painful OA joint, and a longer gait cycle duration. The reliability analysis revealed an absolute variation of the coxofemoral joint angle of 2 to 6°, and little movement out of the sagittal plane. The used 2D video-fluoroscopy technique provided reliable data. We recommend some improvement with the use of a larger field of view and a straight line along

⁴ Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ), Department of Veterinary Biomedical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, Qc, Canada.

⁵ Osteoarthritis Research Unit, CRCHUM, Department of Medicine, Faculty of Medicine, Notre-Dame Hospital, Université de Montréal, Qc, Canada.

⁶ Department of Radiology, Faculty of Medicine, Notre-Dame Hospital, Université de Montréal, Qc, Canada.

⁷ Groupe de recherche sur le système nerveux central, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Qc, Canada.

⁸ Laboratoire de recherche en imagerie et orthopédie (LIO), Research Center of the Université de Montréal Hospital Centre (CRCHUM), Notre-Dame Hospital; École de Technologie Supérieure, Université du Québec, Qc, Canada.

the femur from the femoral head. Amplitude of the coxofemoral joint has the potential to be an objective marker of OA-associated disability.

2.1.2 Key words

Chronic pain; motion tracking; feline; osteoarthritis; video-fluoroscopy.

2.1.3 Introduction

Osteoarthritis (OA) is the most important musculoskeletal disease in companion animals and leads to joint failure and chronic pain (Bennett et al., 2012a; Bennett et al., 2012b; Lascelles, 2010; Robertson and Lascelles, 2010). In cats, OA prevalence increases with age (Clarke et al., 2005; Godfrey, 2005; Hardie et al., 2002; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011) and OA affects their quality of life. Several studies suggest OA to be associated with pain expressing as a decrease in daily activity, a reluctance to jump and to go up stairs, and other altered behaviours (Bennett and Morton, 2009; Clarke and Bennett, 2006; Klinck et al., 2012; Slingerland et al., 2011). Currently, there is no validated technique to evaluate chronic pain in cats. This could be explained by a combination of the well-known propensity of cats to be poorly expressive of pain, and the complexity of chronic pain assessment related to the development of concurrent physical and cognitive-affective disability (Lascelles and Robertson, 2010; Robertson, 2008). The use of gait measurements may provide objective chronic pain outcomes. Telemetered motor activity assessment, which provides an objective quantification of activity limitations related to OA seems to be one of the most promising marker of OA chronic pain related disability in companion animals (Lascelles et al., 2007b; Lascelles et al., 2010a; Rialland et al., 2012). Objective quantification of limb impairment using kinetics to evaluate gait profile (mostly the peak of the vertical ground reaction force and the vertical impulse) has been, and remains, successfully used to evaluate the outcome of OA therapy in dogs (Aragon et al., 2007; McLaughlin, 2001; Rialland et al., 2012; Rialland et al., 2013). In cats, this technique appears to have a great potential to detect OA chronic pain related disability, but need further validation (Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013; Lascelles et al., 2007a; Moreau et al., 2013; Pantall et al., 2012; Verdugo et al., 2013).

Kinematics, the study of the motion of a body, can be used to determine complementary information to kinetics for the study of gait. Kinematics data provide fundamental motion attributes such as velocity, acceleration, and joint angles. Recently, a video-fluoroscopy technique using a high-speed digital camera and continuous X-rays emission to film rats walking on a treadmill was developed (Gravel et al., 2010). This technique provides direct, precise and fluid visualization of bone structures during movements. Extracting the gait pattern data from these sequences involves image pre-processing (image distortion correction, denoising and contrast enhancement), tracking of morphological markers in video frames and statistical gait analysis.

The objectives of this study were to evaluate the feasibility of video-fluoroscopic gait assessment of the coxofemoral joint in non-OA and OA cats, and to describe the changes associated to OA chronic pain related disability.

2.1.4 Material and method

2.1.4.1 Cats' selection and characteristics

The Institutional Animal Care and Use Committee approved the study protocol (# Rech-1482), and the Canadian Council on Animal Care guidelines were followed regarding the cats' care and manipulations. Six cats were selected from our cat colony based on their ability to walk consistently and comfortably on a motor-driven treadmill. The cats were housed in a dedicated room as described previously (Guillot et al., 2012).

The cats were healthy and presented a normal neurologic evaluation, CBC, blood chemistry, and urine analysis. They also had normal radiographs provided using computed radiographs (CRs) of mediolateral and caudocranial projections of the stifle, lumbosacral, and sacroiliac joints as well as mediolateral projections of the shoulders and elbows. All radiographs were performed under sedation with medetomidine (0.02 mg/kg; Domitor[®] 1 mg/mL, Pfizer Canada Animal Health, Kirkland, QC, Canada) and morphine (0.1-0.2 mg/kg; Morphine[®] Sulfate Injection 10 mg/mL, Sandoz, Boucherville, QC, Canada) given intramuscularly. The cats had not been administered anti-inflammatory or structuro-modulator

(*e.g.* glucosamine, chondroitin, or bisphosphonates) medications for at least 3 months before the start of the study.

The presence of OA was first evaluated using structural CR and magnetic resonance (MR) images assessment. Subjective presence of joint pain during the orthopaedic examination just prior the video-fluoroscopic examination completed the OA characterization. A joint was considered painful if the cat elicited consistently (similar response during two consecutive manipulations of the joint) at least one of the following behaviours during the manipulation of the joint: withdrawal, tenting to escape, hissing or biting, body tenses or marked freezing, and vocalisation. Non-OA cats (n=2; 1.5- and 2-years old) presented an absence of any sign of OA of both coxofemoral joints. Cats with OA (n=4; mean age, 9-years old; range, 5- to 11-years old) presented OA of at least one coxofemoral joint.

The detailed methodology for imaging modalities used to evaluate OA was already reported (Guillot et al., 2012). Briefly, the coxofemoral joints were imaged using medio-lateral and ventrodorsal CR projections (Agfa CR-DX[®] system, Toronto, ON, Canada), and using a 1.5 Tesla MRI (GE HDx[®], Mississauga, ON, Canada) and an 8-channel human-knee coil under general anaesthesia. The CR and MR images were evaluated under blinded conditions to assess structural changes (osteophytes, enthesiophytes, subchondral bone sclerosis [CR and MR images], joint effusion, bone marrow oedema-like lesions, and femoral head cartilage thinning [MR images]).

2.1.4.2 Video-fluoroscopic acquisition of the coxofemoral joints

First, the cats were progressively trained to walk on a motor-driven treadmill at a 0.4 m/s speed inside a transparent Plexiglas opened-top box during six weeks. After this training, the video-fluoroscopic sequences of the coxofemoral joints during locomotion were performed using a C-arm X-ray system (Coroskop, Siemens, Dorval, QC, Canada) equipped with an image intensifier having an operating field of view of 27 cm-diameter and a motor-driven treadmill mounted on a triaxial free moving table. The video-fluoroscopic sequences were recorded using a high-speed scan camera (DS-41-300K0262, Dalsa, Billerica, MA, USA) equipped with a C-mount zoom lens (Fujinon-tv H6X12.R, 1:1.2/12.5-75, Fujifilm North America Corporation, Newmarket, ON, Canada) fixed on the image intensifier. In addition, a

high-speed real-time imaging system software (VisonNow, Boulder Imaging Inc., Louisville, CO, USA) supported the camera controls, image-captures and streaming to disks. Video-fluoroscopic images were captured while a cat walked freely (but restrained in the Plexiglas opened-top box) at a 0.4 m/s speed imposed by the treadmill. The cat's coxofemoral joints were kept in the centre of the image intensifier by moving manually the table. Raw digital video-fluoroscopic images (512 x 512 pixels with 256 grey levels) were acquired at 120 frames/s using a shutter speed of 2 ms and a X-rays output setting of 90 kV/13 mAs. For each cat, two sessions of a maximum of 15-min duration were used to obtain a maximum of step cycles, but avoiding exercise-related stress and fatigue.

A single frame of a video of a known 27 x 27 cm calibration grid in place of the cat was acquired at the beginning of the session to allow further image correction. Because the distance from X-ray source to image intensifier, field of view, X-ray output settings and camera zooming were not modified between cats, this calibration frame was valid for the whole experiment. After the acquisition, each raw video-fluoroscopic sequence was visualized using the above real time imaging software and cut on shorter sequences of two or more successive steps for which the whole coxofemoral joint was present in all the images of the sequence. Then, those sequences (the addition of different sequences of two or more successive steps providing a total of 18 to 24 steps for each cat) were converted to AVI uncompressed file for analysis (see Figure 2.1-1(a)).

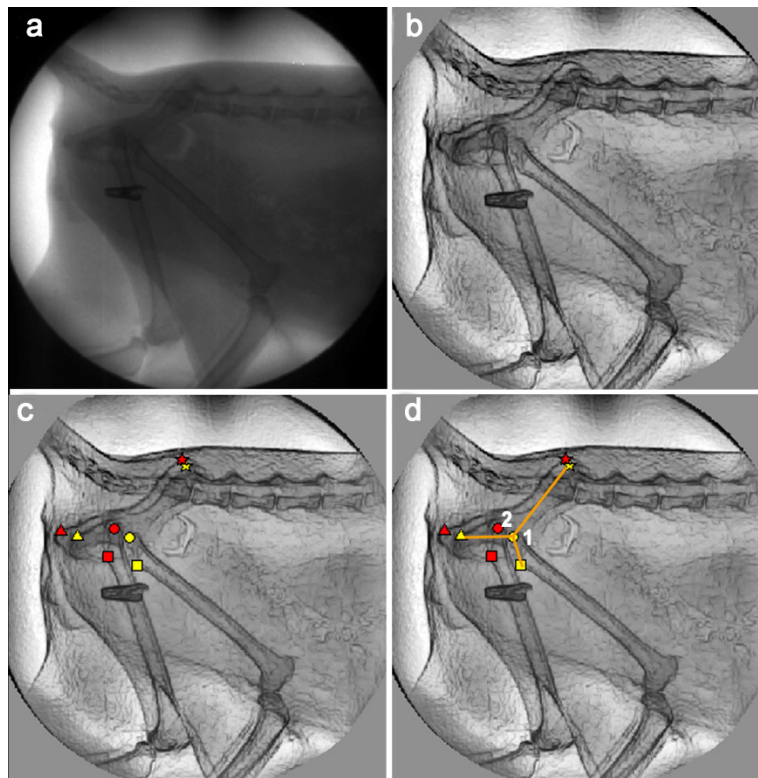
2.1.4.3 Video-fluoroscopic images pre-processing and providing of the kinematic data

All operations on video-fluoroscopic sequences were performed using a in-house graphic user interfaces (GUI). The GUI allowed four operations: (a) correction for image distortion, (b) image denoising and contrast enhancement, (c) frame-to-frame morphological marker identification, and (d) the statistical gait analysis.

First, geometric image distortions caused by the x-ray imaging chain (generally variation in magnification of 5 to 10 %) were measured using the rectilinear calibration grid, and corrected using a standard computer procedure of inverse transformation and image interpolation methods for 2D images (Gravel et al., 2010). Second, to obtain the best bone *versus* soft-tissues image contrast, each video frame was denoised and contrast enhanced using

wavelet-based denoising methods (see Figure 2.1-1(b); Misiti et al., 2009). Third, for each hind limb and each frame, a marker was placed on the lesser trochanter, the femoral head, the cranial dorsal iliac spine and the ischiatic tuberosity using a semi automated method (see Figure 2.1-1(c)). Briefly, using a computer mouse, for each limb separately, the user identified the markers on the frames with minimal superposition, and the GUI estimated their positions in the other frames. Most often, this approach allows the user to locate the markers in about one image out of six, but on one image out of three during the high acceleration phases of the movement. Then, the 2D anatomical markers trajectories across each video sequence were processed and analyzed to obtain joint angles over the gait cycle.

Figure 2.1-1 *Different steps of the video-fluoroscopic images pre-processing.*



(a) Raw frame; (b) Frame after correction for distortion, image denoising and contrast enhancement; (c) Frame with anatomic markers placed on the lesser trochanter (square markers), the femoral head (circle markers), the cranial dorsal iliac spine (star markers) and the ischiatic tuberosity (triangle markers) of the left (yellow markers), and the right (red markers) hind limbs; (d) Illustration of the left coxofemoral joint angle (angle #1) and coxofemoral bone angle (angle #2).

The coxofemoral joint angle pattern overtime analysis used the 2D trajectories of the lesser trochanter, femoral head and caudal dorsal iliac spine markers by time from which the projected 2D angles into the sagittal plane (coxofemoral joint angle; angle 1 depicted on Figure 2.1-1(d)) are computed, allowing to estimate the gait patterns (Gravel et al., 2010). The projected 2D angles associated with the cranial dorsal iliac spine, femoral head, and ischiatic tuberosity markers (coxofemoral bone angle; angle 2 depicted on Figure 2.1-1(d)) were also processed. This latter angle, as it should be constant over time into the sagittal plane for a done cat, provided a reliability estimator (see data analysis). For each hind limb, the 0 of the gait cycle was set when the coxofemoral joint angle reached its minimum.

2.1.4.4 Data analysis

For each hind limb 18 to 24 steps were analysed to compute angles over the percent of gait cycle for both angles previously defined. Then, angles were expressed using mean values. Kinematic data were extracted for each cycle consisting of the gait cycle duration (time to complete a whole gait cycle), the amplitude of movement of the coxofemoral joint angle (difference between the maximum and the minimum reached during a step), and the percentage of gait cycle value where the maximum angle was reached. The kinematic variables were expressed as mean and 95 % confidence interval (CI). A cat was classified as asymmetric for a variable when the 95 % CI were distinct between both hind limbs. Due to the nature of the study (preliminary study to generate hypotheses), no inferential statistics were performed.

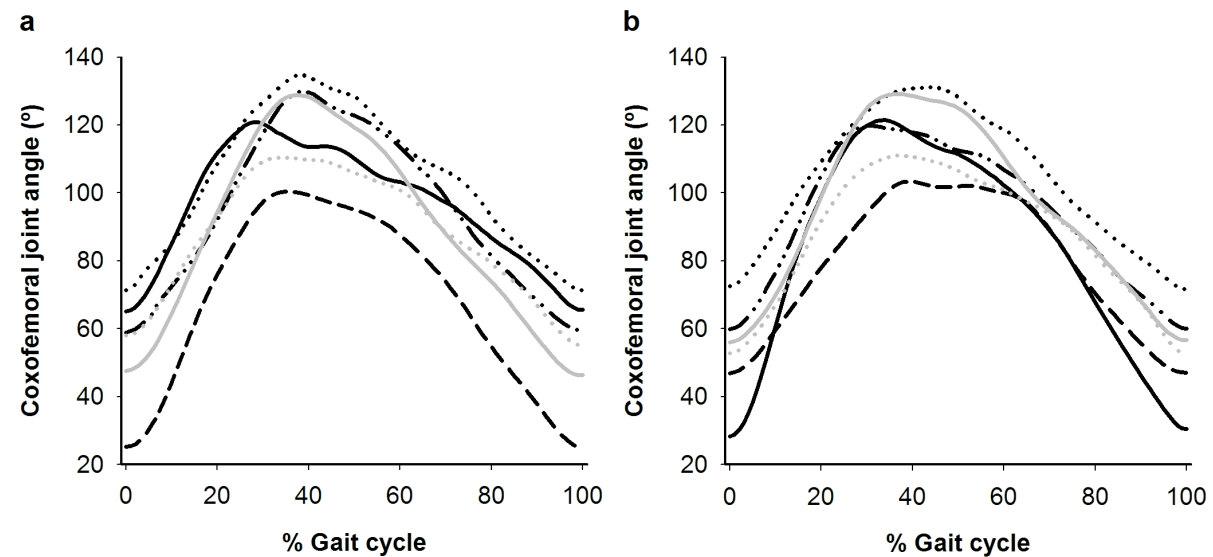
The absolute difference between the left and right coxofemoral joint angles in the sagittal plane was calculated for each cat using the mean value of the right and the left coxofemoral joint angle over the gait cycle. For each cat, a step (right or left hind limb) was randomly picked up, and provided data for a test-retest reliability analysis. For this analysis, coxofemoral joint angles were computed six times from the markers identification step (three times the same day and three times a week apart). The reliability of the coxofemoral joint angle was expressed for each cat across a gait cycle as SD (absolute variation) and coefficient of variation (relative variation). The coxofemoral bone angle, as it should be constant over time into the sagittal plane for a done cat, provided a reliability estimator expressed as

variation over time using SD of the measure along the gait cycle (absolute variation), and the associated coefficient of variation (relative variation).

2.1.5 Results

The mean coxofemoral joint angle in the sagittal plane across time expressed as percent of gait cycle presented a low-noise curve with a bell shape for all cats and a maximum reached at 31 to 49 % of the gait cycle. The global shape of the left (Figure 2(a)) compared to the right (Figure 2(b)) coxofemoral joint angle seemed less variable when both coxofemoral joints were structurally (and supposed functionally) similar (the two non OA cats and the OA cat with bilateral painful OA) compared to when coxofemoral joints were different (OA cats #1, #3 and #4 with unilateral painful OA).

Figure 2.1-2 Left (a) and right (b) coxofemoral joint angle in the sagittal plane by percent of gait cycle.

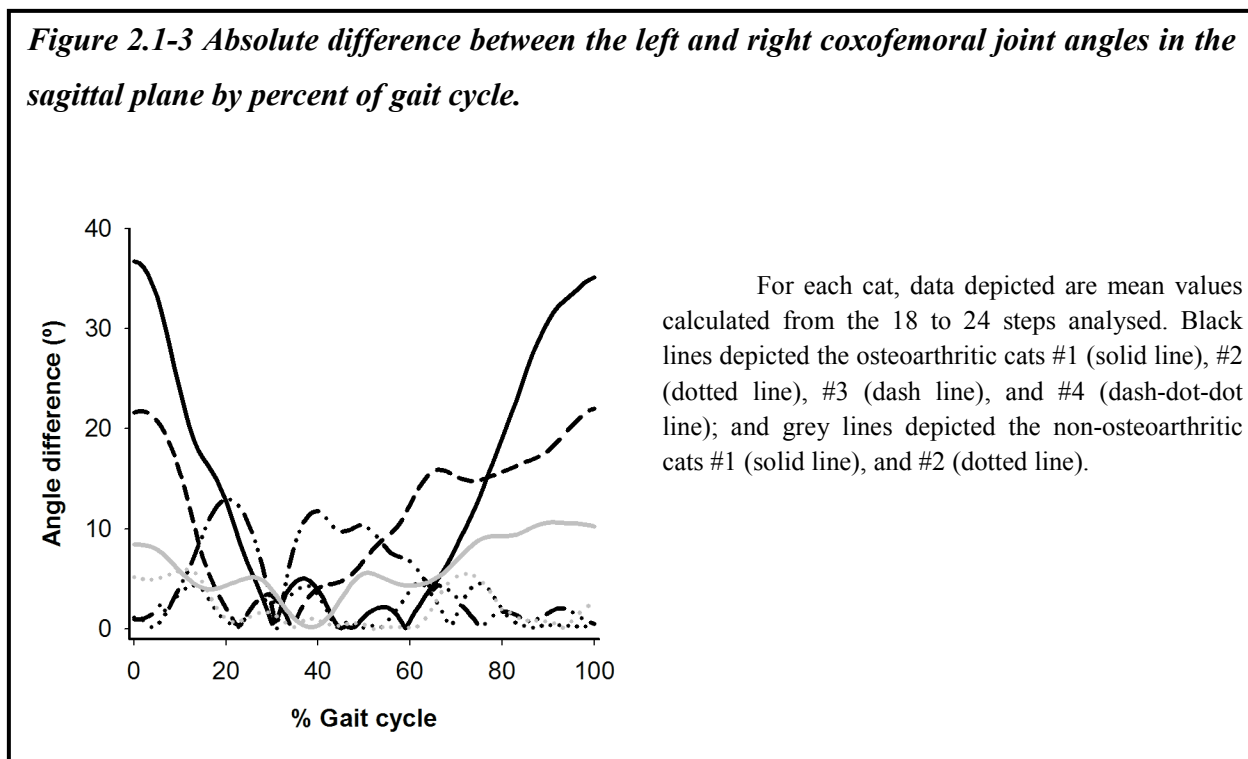


For each cat, data depicted are mean values calculated from the 18 to 24 steps analysed. Black lines depicted the osteoarthritic cats #1 (solid line), #2 (dotted line), #3 (dash line), and #4 (dash-dot-dot line); and grey lines depicted the non-osteoarthritic cats #1 (solid line), and #2 (dotted line).

This observation was confirmed by visualizing the absolute difference in the coxofemoral joint angle for which the OA cats #1, #3 and #4 presented clearly more asymmetry than non-OA cats and the OA cat #2 (Figure 3).

Two OA cats (cats #1 and #3) presented a significant asymmetry of the mean amplitude of the coxofemoral joint angle in the sagittal plane, such as the lower amplitude was matched with the painful joint. The cat #4 left hind limb was painful but there was only a tendency of asymmetry of the joint amplitude (there was only a little overlap of the two 95 % CI). For all cats, the mean gait cycle duration was similar for the right and the left coxofemoral joints, but the variability of this parameter was higher in the four OA cats compared to the two non-OA cats (Table 2.1-I). If no relationship could be established between the pain status and the gait cycle duration, the three unilateral OA cats (#1, #3 and #4) presented higher duration of the gait cycle duration than the non-OA cats (distinct 95 % CI).

Figure 2.1-3 Absolute difference between the left and right coxofemoral joint angles in the sagittal plane by percent of gait cycle.



Furthermore, the maximum coxofemoral joint angle reached in the sagittal plane was similar for the right and the left coxofemoral joints, but for the OA cats #1, #3 and #4 with no real influence on the time to reach this maximum, except for OA cat #1 who presented it at a shorter percentage of gait cycle (Table 2.1-I).

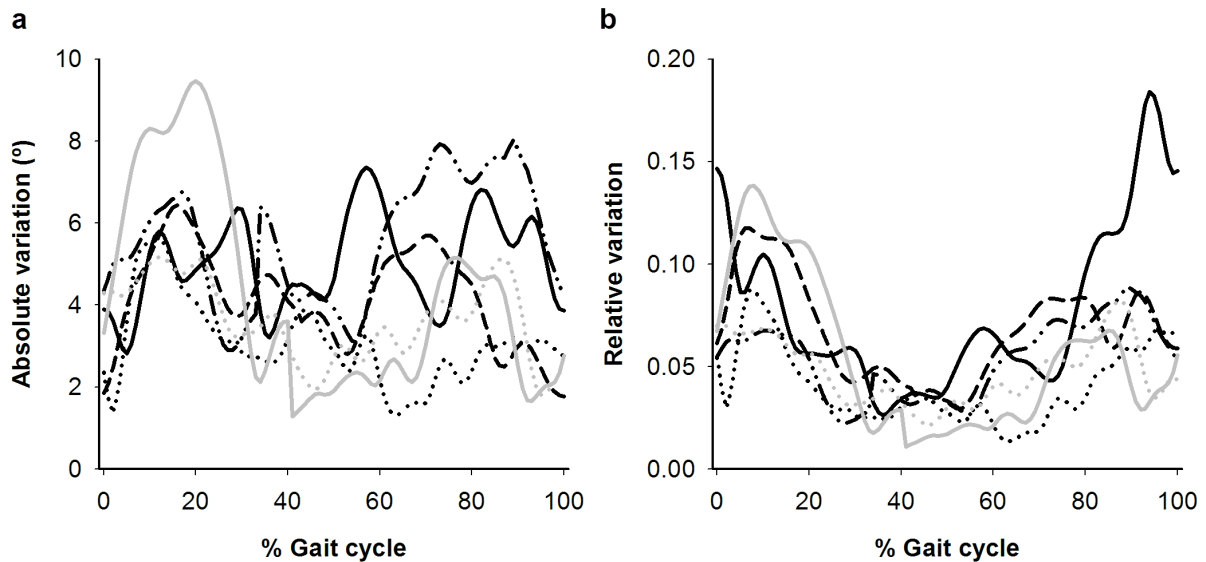
The test-retest analysis showed generally an absolute variation of the coxofemoral joint angle by 2 to 6° (Figure 2.1-4(a)), which represented most of the time a 2 to 10 % of relative variation (Figure 2.1-4(b)). Interestingly, there was a higher variation for all cats around 10 % and during the last 30 % of the gait cycle (see Figure 2.1-4(b)).

The coxofemoral bone angle presented a 5 to 15° variation along the gait cycle, and presented a general U-shape like curve with minima at about 50-55 % of the gait cycle (Figure 2.1-5(a)). This U-shape was particularly pronounced for the right coxofemoral bone angle of the OA-cat #1 and the left coxofemoral bone angle of the OA-cat #4 (Figure 2.1-5(b)).

Table 2.1-I Structural imaging scores, subjective pain, and kinematic variables of the left and right coxofemoral joints extracted from the video frames by cat.

		Non-OA cats		OA cats			
		# 1	# 2	# 1	# 2	# 3	# 4
Structural scores (Radiographic/MRI)	L	0/0	0/0	0/1	2/3	2/2	2/2
	R	0/0	0/0	0/2	2/5	2/3	0/1
Presence of joint pain	L	No	No	Yes	Yes	No	Yes
	R	No	No	No	Yes	Yes	No
Mean gait cycle duration [95% CI] (s)	L	0.88 [0.86-0.90]	0.83 [0.81-0.85]	1.17 [1.10-1.24]	0.93 [0.87-0.99]	1.06 [1.00-1.11]	1.0 [0.94-1.06]
	R	0.88 [0.86-0.89]	0.825 [0.80-0.85]	1.18 [1.12-1.23]	0.95 [0.89-1.01]	1.04 [1.00-1.07]	0.975 [0.94-1.01]
Mean maximum coxofemoral joint angle amplitude [95% CI] (°)	L	87.0 [82.6-91.4]	63.1 [59.0-67.2]	62.45 [57.1-67.8]	69.7 [64.5-74.9]	80.6 [77.9-83.3]	67.4 [64.0-70.8]
	R	79.8 [74.1-85.5]	65.2 [61.6-68.9]	98.6 [92.7-104.5]	67.5 [60.8-74.1]	61.1 [58.7-63.5]	72.3 [69.4-75.2]
Mean percentage of gait cycle reached at the maximum [95% CI] (%)	L	37.9 [36.4-39.3]	36.5 [33.8-39.2]	31.4 [28.6-34.2]	39.9 [37.4-42.3]	37.6 [35.4-39.7]	34.8 [32.1-37.5]
	R	39.1 [36.5-41.6]	37.6 [34.4-40.8]	34.2 [32.2-36.2]	41.6 [38.7-42.3]	48.8 [45.5-52.0]	42.1 [39.5-44.6]

Figure 2.1-4 Test-retest observed absolute (expressed as SD; a) and relative (expressed as coefficient of variation; b) variation of the coxofemoral joint angle in the sagittal plane by percent of the gait cycle.

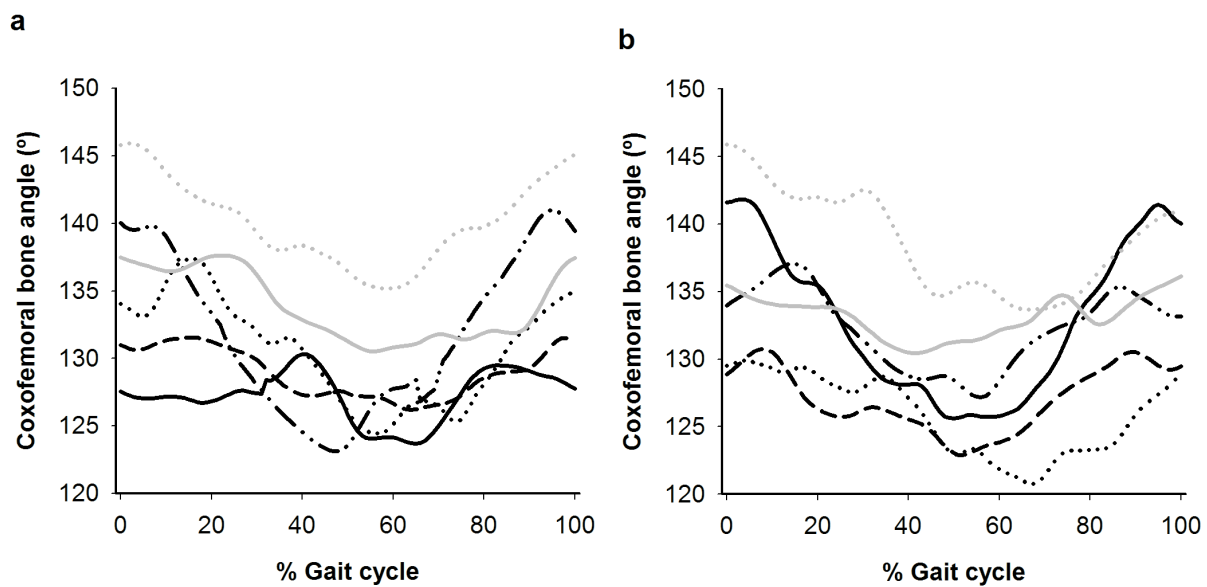


For each cat, data are from a step randomly picked up from which coxofemoral joint angles were computed six times. Black lines depicted the osteoarthritic cats #1 (solid line), #2 (dotted line), #3 (dash line), and #4 (dash-dot-dot line); and grey lines depicted the non-osteoarthritic cats #1 (solid line), and #2 (dotted line).

2.1.6 Discussion

This study is the first report of an evaluation of the 2D video-fluoroscopic coxofemoral joint motion in cats. A video-fluoroscopic method was implemented to obtain accurate and non-invasive *in vivo* joint kinematics. Bi-plane fluoroscopy, which provided dynamic measurements of the knee joints in dogs (Tashman and Anderst, 2003; You et al., 2001) and several joints in humans (Bey et al., 2006; Torry et al., 2011; Utter et al., 2010), is currently the state of the art in X-ray fluoroscopy (Ackland et al., 2011). Indeed, single-plane fluoroscopy accuracy is lower than bi-plane methods related to the out of the plane motion errors. Even if a up to ten-fold higher accuracy is reported for bi-plane methods, the single-plane fluoroscopy presents a good accuracy (*e.g.*, dynamic accuracy of the knee joint has been reported at around 2 mm and 2° for translations; (Acker et al., 2011; Fregly et al., 2005)).

Figure 2.1-5 Left (a) and right (b) coxofemoral bone angles in the sagittal plane by percent gait cycle.



For each cat, data depicted are mean values calculated from the 18 to 24 steps analysed. Black lines depicted the osteoarthritic cats #1 (solid line), #2 (dotted line), #3 (dash line), and #4 (dash-dot-dot line); and grey lines depicted the non-osteoarthritic cats #1 (solid line), and #2 (dotted line).

The quantification of 3D joint motion from bi-plane fluoroscopic frames is computationally intensive and challenging. This is most commonly performed by aligning a 3D geometric model of the target bones with the fluoroscopic images, and joint positions over time are obtained from the model using inverse kinematics (Ackland et al., 2011). Thus, we considered that using single plane fluoroscopy was easier to implement than bi-plane fluoroscopy methods, and presented appropriate accuracy for our clinical research-related objective. Video-based systems tracking markers attached to the surface of the skin was already successfully used to detect cats' disabilities associated to musculoskeletal injury (Pantall et al., 2012; Suter et al., 1998). However, we considered that using video-fluoroscopy was a better choice because video-based systems tracking markers attached to the surface of the skin suffer from marker-tracking errors and large skin-motion artefacts with errors reported in humans to be as large as 30 mm resulting in poor approximations of the kinematics of the underlying bones (Ackland et al., 2011; Sati et al., 1996).

Most of the commercial fluoroscopic units sample at a maximum frequency of 25 frames/s, which is insufficient to provide low noise and sharp images of a bone during movement. This limitation is in part due to pulse X-rays fluoroscopy, which has been developed to decrease the dose of radiation associated with fluoroscopic examinations (Holmes et al., 1990). With this method, X-rays are delivered in pulses that follow in rapid succession (generally 3 to 25) to reduce the amount of time during which radiation is released. To record adequately joint motion, the commercial C-arm fluoroscopic unit was customized to obtain an acquisition frequency of 120 frames/s interfacing high-speed camera coupled with a high-speed real-time imaging system software, and using continuous rather than pulse X-ray beams.

The coxofemoral joint angle trajectories obtained in this study presented low noise providing high quality data which may be used as quantitative marker of motor impairment. This result is due to the combination of a careful training of the cats, and the use of the GUI. A careful and progressive training of cats is important to avoid fear of the treadmill and obtain normal and constant walking pace. We trained 12 cats but only 50 % of them finished this training; from the excluded, three refused to walk and three walked with a non-constant speed (cyclic run and stop pattern). The GUI was fundamental to perform image pre-processing (correction for image distortion, image denoising and contrast enhancement), and also decreased the number of frames to process. Because of the trajectory interpolation, only 20 % of the marker positions need to be identified by the operator. Without the GUI, the marker positioning on each frame of one video sequence would require between three and four hours to complete (instead of 30 minutes). Furthermore, the GUI decreased the difficulty of marker placement in resolving many superposition problems.

In the present study, an asymmetry between the left and the right coxofemoral joint angles was present in three OA cats (for two of them the amplitude of movement was significantly different between the sides of the coxofemoral joint, but this was only a tendency for the other one) This lower amplitude of movement in the sagittal plane was present on the joint side detected painful during the orthopaedic examination. This result is in accordance with a recent study of experimental OA in rats using 2D fluoroscopy, which demonstrated a decreased range of motion in the sagittal plane of painful OA knee joints compared to the

contralateral control side (Boettger et al., 2011). A recent study suggests a tendency of certain joints afflicted by OA to present a decreased range of motion, except for the coxofemoral joint (Lascelles et al., 2012). However, in this study painful and non-painful joints were evaluated together, which could have decreased the ability to detect differences.

The observed decreased angle of the painful joints may be related to a protection of this joint during dynamic weight bearing. This could be associated with clinical gait abnormalities, which could be detected by owners, or veterinarians as already reported (Benito et al., 2013; Bennett and Morton, 2009; Klinck et al., 2012; Slingerland et al., 2011; Zamprogno et al., 2010). This gait modification is also in accordance with the decrease in peak of the vertical ground reaction force associated with painful OA cats (Guillot et al., 2013). In addition, there was more variability in OA cats' data compared to non-OA cats, particularly in the shape of the coxofemoral joint angle curve and there was an increase in gait cycle duration in three OA cats. Altogether, these observations may be related to a higher difficulty to walk consistently for OA cats due to muscle fatigue or pain. This is consistent with the frequent report of activity and mobility changes in cats afflicted with OA: e.g., the presence of lameness, stiffness, decreased ability to jump, decrease in motor activity, difficulties to go up or down stairs, diminished playing with toys, owners or other animals (Benito et al., 2012; Bennett and Morton, 2009; Guillot et al., 2013; Klinck et al., 2012; Slingerland et al., 2011). The only bilaterally-affected OA cat in this pilot study did not present a similar kinematic pattern than the three others (unilateral OA). This could be related to a bilateral decrease of coxofemoral joint angle amplitude leading to a less obvious alteration. However, to identify such alterations, we would need a larger sample of non-OA cats to determine what is the range of normal joint amplitude in cats.

There was good test-retest reliability. The higher variability observed at about 10 %, and in the last 30 % of the gait cycle may be related to the higher change in position during these periods, which would induce a more difficult follow up of the markers even with the interpolation method used. This could be associated too with a real higher variability of the coxofemoral bone angle variation. This variation is almost two fold higher than the test-retest observed absolute variation, and should be in part explained by the movement of the coxofemoral joint out of the sagittal plane. Hence, a better precision and accuracy of the

coxofemoral joint movement could be obtained using a 3D motion analysis methodology as expected by the literature (Ackland et al., 2011). Furthermore, a better precision of the coxofemoral joint angle could have been obtained using a femoral marker farther of the coxofemoral articulation than the lesser trochanter or using a straight line along the femur from the femoral head. However, the lesser trochanter was defined as the best anatomical landmark to use on the femur during the preliminary phase of the study because it was easier to detect and almost always present in the images, in contrary of the distal part of the femur. Unfortunately, the positioning of a straight line was not possible with the designed GUI.

Another limitation of this study was the impossibility to monitor either the foot location, or the maximum extension of the stifle and the tarsus because of the limited field of view. This led to incapacity to determine the stance and swing times, and the valuable stance and swing velocity and acceleration. Using a C-arm equipped with an image intensifier having an operating field of view of 40 cm-diameter would correct this limitation.

To conclude, we provide the first evaluation of the 2D video-fluoroscopic coxofemoral joint motion in non-OA and OA cats. The amplitude of the coxofemoral joint could be an objective marker of OA-associated pain in cats. This could be confirmed in a larger study comparing non-OA and (unilateral and bilateral, single or multiple joints affected) OA cats walking on a treadmill under video-fluoroscopy surveillance before and after an analgesic treatment. Because the majority of the coxofemoral joint movement occurs in the sagittal plane, a 2D method with the proposed GUI should be sufficient. However, according to the actual method limitations, we recommend some improvement in the present method with the use of a larger field of view and a straight line along the femur from the femoral head instead of the lesser trochanter marker.

2.1.7 Conflict of interest statement

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

2.1.8 Acknowledgements

Authors are grateful to Mr. Maxim Moreau, and Dr Marc-André d'Anjou for their expertise and scientific assistance.

This work was supported in part by an operating grant from ArthroLab Inc.; the Morris Animal Foundation (#D09FE-803A) Grant for the pilot study “TOP-CAT: Tracking Osteoarthritis Pain in the CAT” (Eric Troncy); a Discovery Grant (#327158-2008) from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (Eric Troncy); a Leader Opportunity Fund Grant (#24601) from the Canada Foundation for Innovation (Eric Troncy); and the Quebec Bio-Imaging Network (#5886) of the Fonds de Recherche en Santé du Québec – Program for pilot project grant (Eric Troncy). Martin Guillot is the recipient of an Alexander Graham Bell Canada Graduate Scholarship for doctorate research, and a Doctoral Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research – MENTOR Strategic Training Initiative in Health Research Program. The Coroskop, located at Université de Montréal, was acquired through a Canadian Foundation for Innovation grant and the associated personnel (M. Tremblay and H. Leblond) or research associate (P. Gravel) was partially funded by a Canada Research Chair on the Spinal Cord (#204102) to Serge Rossignol.

2.1.9 References

- Acker S, Li R, Murray H, et al. (2011) Accuracy of single-plane fluoroscopy in determining relative position and orientation of total knee replacement components. *J Biomech* 44: 784-787.
- Ackland DC, Keynejad F and Pandy MG. (2011) Future trends in the use of X-ray fluoroscopy for the measurement and modelling of joint motion. *Proc Inst Mech Eng H* 225: 1136-1148.
- Aragon CL, Hofmeister EH and Budsberg SC. (2007) Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 230: 514-521.
- Benito J, Depuy V, Hardie E, et al. (2013) Reliability and discriminatory testing of a client-based metrology instrument, feline musculoskeletal pain index (FMPI) for the evaluation of degenerative joint disease-associated pain in cats. *Vet J* 196: 368-373.

- Benito J, Gruen ME, Thomson A, et al. (2012) Owner-assessed indices of quality of life in cats and the relationship to the presence of degenerative joint disease. *J Feline Med Surg* 14: 863-870.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012a) Osteoarthritis in the cat: 1. How common is it and how easy to recognise? *J Feline Med Surg* 14: 65-75.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012b) Osteoarthritis in the cat: 2. How should it be managed and treated? *J Feline Med Surg* 14: 76-84.
- Bey MJ, Zael R, Brock SK, et al. (2006) Validation of a new model-based tracking technique for measuring three-dimensional, in vivo glenohumeral joint kinematics. *J Biomech Eng* 128: 604-609.
- Boettger MK, Leuchtweis J, Schaible HG, et al. (2011) Videoradiographic analysis of the range of motion in unilateral experimental knee joint arthritis in rats. *Arthritis Res Ther* 13: R79.
- Clarke SP and Bennett D. (2006) Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *J Small Anim Pract* 47: 439-445.
- Clarke SP, Mellor D, Clements DN, et al. (2005) Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Vet Rec* 157: 793-799.
- Fregly BJ, Rahman HA and Banks SA. (2005) Theoretical accuracy of model-based shape matching for measuring natural knee kinematics with single-plane fluoroscopy. *J Biomech Eng* 127: 692-699.
- Godfrey DR. (2005) Osteoarthritis in cats: a retrospective radiological study. *J Small Anim Pract* 46: 425-429.
- Gravel P, Tremblay M, Leblond H, et al. (2010) A semi-automated software tool to study treadmill locomotion in the rat: from experiment videos to statistical gait analysis. *J Neurosci Methods* 190: 279-288.
- Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, et al. (2012) Evaluation of Osteoarthritis in Cats: Novel Information from a Pilot Study. *Vet Surg* 41: 328-335.

- Guillot M, Moreau M, Heit M, et al. (2013) Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Vet J* 196: 360-367.
- Hardie EM, Roe SC and Martin FR. (2002) Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *J Am Vet Med Assoc* 220: 628-632.
- Holmes DR, Jr., Wondrow MA, Gray JE, et al. (1990) Effect of pulsed progressive fluoroscopy on reduction of radiation dose in the cardiac catheterization laboratory. *J Am Coll Cardiol* 15: 159-162.
- Klinck MP, Frank D, Guillot M, et al. (2012) Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Can Vet J* 53: 1181-1186.
- Lascelles BD. (2010) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010a) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Dong YH, Marcellin-Little DJ, et al. (2012) Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BMC Vet Res* 8: 10.
- Lascelles BD, Findley K, Correa M, et al. (2007a) Kinetic evaluation of normal walking and jumping in cats, using a pressure-sensitive walkway. *Vet Rec* 160: 512-516.
- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007b) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.
- Lascelles BD, Henry JB, 3rd, Brown J, et al. (2010b) Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Vet Surg* 39: 535-544.
- Lascelles BD and Robertson SA. (2010) DJD-associated pain in cats: what can we do to promote patient comfort? *J Feline Med Surg* 12: 200-212.
- McLaughlin RM. (2001) Kinetic and kinematic gait analysis in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31: 193-201.
- Misiti M, Misiti Y, Oppenheim G, et al. (2009) *Wavelet Toolbox for use with Matlab*, Natick, MA: The MathWorks Inc.
- Moreau M, Guillot M, Pelletier JP, et al. (2013) Kinetic peak vertical force measurement in cats afflicted by coxarthrosis: data management and acquisition protocols. *Res Vet Sci* 95: 219-224.

- Pantall A, Gregor RJ and Prilutsky BI. (2012) Stance and swing phase detection during level and slope walking in the cat: effects of slope, injury, subject and kinematic detection method. *J Biomech* 45: 1529-1533.
- Rialland P, Bichot S, Lussier B, et al. (2013) Effect of a diet enriched with green-lipped mussel on pain behavior and functioning in dogs with clinical osteoarthritis. *Can J Vet Res* 77: 66-74.
- Rialland P, Bichot S, Moreau M, et al. (2012) Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine osteoarthritis. *BMC Vet Res* 8: 162.
- Robertson SA. (2008) Managing pain in feline patients. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 38: 1267-1290, vi.
- Robertson SA and Lascelles BD. (2010) Long-term pain in cats: how much do we know about this important welfare issue? *J Feline Med Surg* 12: 188-199.
- Sati M, De Guise JA, Larouche S, et al. (1996) Quantitative assessment of skin-bone movement at the knee. *The Knee* 3: 121-138.
- Slingerland LI, Hazewinkel HA, Meij BP, et al. (2011) Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Vet J* 187: 304-309.
- Suter E, Herzog W, Leonard TR, et al. (1998) One-year changes in hind limb kinematics, ground reaction forces and knee stability in an experimental model of osteoarthritis. *J Biomech* 31: 511-517.
- Tashman S and Anderst W. (2003) In-vivo measurement of dynamic joint motion using high speed biplane radiography and CT: application to canine ACL deficiency. *J Biomech Eng* 125: 238-245.
- Torry MR, Myers C, Pennington WW, et al. (2011) Relationship of anterior knee laxity to knee translations during drop landings: a bi-plane fluoroscopy study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 19: 653-662.
- Utter A, Anderson ML, Cunniff JG, et al. (2010) Video fluoroscopic analysis of the effects of three commonly-prescribed off-the-shelf orthoses on vertebral motion. *Spine (Phila Pa 1976)* 35: E525-529.
- Verdugo MR, Rahal SC, Agostinho FS, et al. (2013) Kinetic and temporospatial parameters in male and female cats walking over a pressure sensing walkway. *BMC Vet Res* 9: 129.

You BM, Siy P, Anderst W, et al. (2001) In vivo measurement of 3-D skeletal kinematics from sequences of biplane radiographs: application to knee kinematics. *IEEE Trans Med Imaging* 20: 514-525.

Zamprogno H, Hansen BD, Bondell HD, et al. (2010) Item generation and design testing of a questionnaire to assess degenerative joint disease-associated pain in cats. *Am J Vet Res* 71: 1417-1424.

2.2 Evaluation of Osteoarthritis in Cats: Novel Information from a Pilot Study

Guillot M⁹, Moreau M⁹, d'Anjou M-A⁹, Martel-Pelletier J¹⁰, Pelletier J-P¹⁰, Troncy E^{9,10}.

2.2.1 Abstract

Objective: To describe structural changes associated with osteoarthritis (OA) in cats and to quantify OA-associated disability using functional evaluations.

Study Design: Cross-sectional pilot study with longitudinal data.

Animals: Normal cats (n = 2) and coxofemoral joint OA cats (n = 4) were evaluated by physical examination, radiography, and magnetic resonance imaging (MRI).

Methods: Structural changes related to OA were scored using computed radiographs (CR) and MRI. Functional evaluation consisted of podobarometric gait analyses performed using a pressure-sensitive mattress and motor activity assessments using collar-attached, accelerometer-based activity sensors.

Results: Structural scores for the coxofemoral joint OA-related lesions were lower in normal cats than OA cats for MRI ($P = 0.07$). Use of MRI allowed for whole-organ assessment of the coxofemoral joint. Pelvic limb peak vertical ground reaction force (PVF) was higher in normal cats than OA cats ($P = 0.10$). During the night, motor activity was greater in normal cats than OA cats ($P = 0.04$). PVF was positively correlated with mean motor activity (Spearman coefficient [Rho] = 0.89, $P = 0.04$) and negatively correlated with age and MRI structural score (Rho = -0.93 and -0.79, $P < 0.01$ and 0.06, respectively).

Conclusions: This study provides the first description of OA-related lesions in cats using MRI. Gait analysis and accelerometry should be considered as objective tools to characterize OA-associated disability, although these assessments were weakly correlated with structural changes.

⁹ Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ) and the Companion Animal Research Group, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

¹⁰ Osteoarthritis Research Unit, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôpital Notre-Dame, Montréal, Québec, Canada.

2.2.2 Key words

Chronic pain, Gait analysis, Motor activity, MRI, Osteoarthritis-associated disability.

2.2.3 Introduction

Osteoarthritis (OA) is the most common disabling condition of dogs and cats in North America (Beale, 2005). Complex mechanical and biological processes lead to articular tissue degeneration characterized by cartilage degradation, subchondral bone marrow lesions, synovial inflammation and chronic pain (Goldring and Goldring, 2007; Kidd, 2006). In cats, OA more frequently affects elbow, coxofemoral and stifle joints, and its prevalence increases dramatically with age (Clarke and Bennett, 2006; Clarke et al., 2005; Hardie et al., 2002; Lascelles et al., 2010b; Lascelles and Robertson, 2010). In dogs, horses, and people, magnetic resonance imaging (MRI) is more sensitive than radiography for assessing OA structural changes, and MRI provides better definition for observing major OA-related changes (cartilage lesions, osteophytosis, joint effusion and synovial thickening ; D'Anjou et al., 2008a; Olive et al., 2010; Peterfy et al., 2006). MRI can also be used to reliably assess progression of OA and should be increasingly used in animals to assess the effects of disease-modifying OA drugs (Boileau et al., 2008; d'Anjou et al., 2008b). We are unaware of MRI descriptions of coxofemoral joint OA lesions in cats or their relationship with radiographic findings.

In cats, joint pain leads to decreased daily activity, a reluctance to jump and other altered behaviors, such as difficulty finding a comfortable position, grooming and playing, which can be detected by owners (Beale, 2005; Bennett and Morton, 2009; Lascelles et al., 2007c). However, OA is less frequently reported in cats, possibly because of the poor behavioral expression of pain in cats or to the paucity of documented correlations between orthopedic evaluation and severity of the OA structural changes (Godfrey, 2005; Lascelles, 2010; Lascelles and Robertson, 2010). Moreover, this could also be because of inadequate pain assessment in cats due to a lack of validated, precise and sensitive techniques to measure clinical outcomes (Lascelles et al, 2007a; Lascelles, 2010; Lascelles and Robertson, 2010; Sparkes et al., 2010). Unfortunately, this has led to an absence of medications approved for the treatment of pain-related OA in cats in north America. In addition, species-specific differences

in pain management and pharmacology for cats further complicates translational research (Lascelles et al., 2007a; Papich, 2008; Sparkes et al., 2010).

Recently, the inclusion of physical disability in evaluation of chronic pain has been shown to be important. The gait kinetic profile, which provides an objective quantification of limb impairment, is a clinically meaningful tool used currently to non-invasively evaluate the outcome of OA therapy in dogs (Budsberg et al., 1999; Moreau et al., 2004; Moreau et al., 2007; Rialland et al. 2009). It is also considered the modality of choice for the validation of other methods of pain assessment in dogs. In cats, podobarometric gait analyses appears to have potential (Lascelles et al., 2007b; Romans et al., 2004). Accelerometry is a complementary approach that provides an objective assessment of motor activity and has been validated in healthy cats (Lascelles et al., 2008) and could be used as an objective and precise quantification of activity limitations related to OA (Lascelles et al., 2007c).

Our objectives were to describe structural changes associated with OA using computed radiographs (CR) and MRI and to quantify OA-associated disability using functional evaluations (podobarometric gait analysis and accelerometry) to evaluate their potential use in a larger validation study. Moreover, we investigated the relationship between functional and structural evaluations (MRI and CR, respectively) of OA lesions. Our hypothesis was that functional evaluation would be able to discriminate between the functional state of normal cats and OA cats, and we proposed that this evaluation could be used as an objective marker for OA-associated disability/ pain.

2.2.4 Materials and methods

2.2.4.1 Cat selection and housing

Owner consent was obtained before enrolling a cat in this study. Two normal cats (1.5 and 2 years old) and 4 OA cats (mean age, 9 years; range, 5 - 11 years) were selected based on a physical and neurologic evaluation, complete blood count (CBC), blood biochemical profile, urine analysis, CR and MRI structural scores. A complete orthopedic examination was performed, and cats were initially screened using CR that provided mediolateral and caudocranial projections of the stifle, coxofemoral, lumbosacral, and sacroiliac joints as well

as mediolateral projections of the shoulders and elbows. CR procedures were performed under sedation with medetomidine (0.02 mg/kg) and morphine (0.1-0.2 mg/kg) administered intramuscularly.

Final coxofemoral OA diagnoses were made based on various MRI criteria, including osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint surface remodeling, articular effusion, cartilage thickness, and/ or bone marrow edema-like lesions (BML). All other synovial joints needed to be declared normal by radiographic evaluation for inclusion in the study. Normal cats had normal orthopedic evaluations and absence of any radiographic and MRI signs of OA. Cats included had not been administered anti-inflammatory or structuro-modulator (e.g. glucosamine, chondroitin, or bisphosphanates) medications for at least 3 months before enrolment.

Cats were acclimated for 1 week and were then housed together in a single dedicated room. Room environment was controlled and recorded daily. Cats were fed once daily with a standard certified commercial cat food (Hill's Prescription Diet[®] w/d[®] Feline, Hill's Pet Nutrition, Inc[®], Mississauga, ON, Canada), according to the manufacturer's recommendations, and water was supplied free choice. Cats were allowed to move freely in the room at all times, suitable enrichment was provided, and quiet beds were also freely accessible.

2.2.4.2 Structural evaluation

Cats were anesthetized and the coxofemoral joints imaged using a 1.5 Tesla MRI (GE HDx[®], Mississauga, ON, Canada) and an 8-channel human knee coil with customized padding. All cats were premedicated with an intramuscular "kitty magic" injection that included ketamine (2.2 mg/kg), medetomidine (0.02 mg/kg), and morphine (0.2 mg/kg) and anesthesia induced with intravenous propofol (maximum, 5 mg/kg) and maintained with 0.5-1.5 % isoflurane in oxygen. Each cat was positioned in dorsal recumbency, and each pelvic limb was rotated medially at 15-20°.

The following image sets that included the entire pelvis were obtained: dorsal, fat-suppressed three-dimensional (3D) spoiled gradient-recalled acquisition at steady state (SPGR; slice thickness and gap [s/g] 1 mm/0 mm, time echo [TE] 8 ms, repetition time [TR] 42 ms, flip angle [FA] 20°, number of acquisition [NEX] = 3, field of view [FOV] 14 cm,

matrix 384×384); dorsal, T1-weighted 3D fast gradient recalled echo (T1-GRE; s/g 1 mm/0 mm, TE 3 ms, TR 24 ms, FA 15° , NEX = 2, FOV 14 cm, matrix 256×256); transverse, T2-weighted fast spin echo sequences with fat suppression (T2-FS; s/g 1 mm/0 mm, TE 81.5 ms, TR 5417 ms, FA 90° , NEX = 2, FOV 14 cm, matrix 384×256); dorsal T2-FS (s/g 1.5 mm/0 mm, TE 81.5 ms, TR 5417 ms, FA 90° , NEX = 4, FOV 14 cm, matrix 384×256) and transverse, 3D fast imaging employing steady-state acquisition (FIESTA; s/g 1 mm/0 mm, TE 3.3 ms, TR 9.5 ms, FA 55° , NEX = 2, FOV 14 cm, matrix 512×512). The total acquisition time was ~ 60 min.

Coxofemoral joints were imaged using mediolateral and ventrodorsal CR projections (Agfa CR-DX[®] system, Toronto, ON, Canada). MR and CR images were evaluated under blinded conditions by a board-certified veterinary radiologist (MAD) using a diagnostic viewing station (Agfa IMPAX 6.0[®], Toronto, ON, Canada). Bone structural changes (osteophytes, enthesiophytes and sclerosis) were evaluated globally for each coxofemoral joint by CR and according to the T1-GRE and SPGR MRI sequences. The scoring scheme was adapted from one used previously (D'Anjou et al., 2008a). Osteophytes and enthesiophytes were scored together according to their global size (0-3). By MRI, these new bone formations were recognized as angular or irregular hypointense projections at the peripheral margin of the acetabulum, and femoral head and neck. Subchondral sclerosis was scored according to its extent (0-3) and was recognized by MRI as subchondral hypointensity on the T1-GRE and a lack of corresponding hyperintensity by T2-FS or SPGR. Joint effusion was identified by well-demarcated areas of hyperintensity that were associated with the joint space on the T2-FS and FIESTA MRI sequences, and this was scored as normal (0) or increased (1). Presence of BML were evaluated in the femoral head and acetabulum and were defined as ill-defined subchondral foci of hyperintensity by T2-FS. BML were scored as either present (1) or absent (0). The presence (0 or 1) of cysts, which were recognized as sharply demarcated foci of subchondral hyperintensity by T2-FS, was also recorded for the femoral head and acetabulum. Femoral head cartilage was assessed on the SPGR sequences and was recorded as normal (0) or subjectively thinned or eroded (1).

2.2.4.3 Kinetic evaluations

Cats were acclimated and trained to walk across the mattress for 4 weeks. Podobarometric gait analysis was performed using a pressure-sensitive mattress (Walkway System WE5[®], Tekscan Inc., Boston, MA). Before data acquisition, equilibration and calibration of the walkway sensors were performed, according to the manufacturer's specifications. In brief, after the walkway was equilibrated, calibration was performed after 1 s of latency using a leather sand bag weighing 4.1 kg. The peak vertical ground reaction force (PVF) and the associated ground contact area (GCA) of the pelvic limbs were collected at a trotting gait velocity (0.8 - 1.2 m/s) that was monitored using the time frame. The gait acquisition window was 3 s, and the sampling rate was set at 44 Hz to produce a total of 132 frames. The first 5 valid trials (the entire mattress was crossed by a cat moving undisturbed, consistently and in a straight line) were used for each cat, and all trials were recorded during a 15 minute session. Median values for the 5 valid trials were calculated for the analyses, and PVF was expressed relative to the cat's body weight (% BW).

2.2.4.4 Motor activity assessment

Motor activity was assessed over 6 days using a collar-attached accelerometer-based activity sensor (Actical[®], Minimitter/ Respironics, distributed by Bio-Lynx Scientific Equipment Inc., Montreal, QC, Canada). The device was configured to create 1 count value/min. Then, mean activity counts were recorded for each daylight and night period. Periods with human interactions were excluded, and all adverse events were recorded.

2.2.4.5 Statistical analysis

Exact Wilcoxon-Mann-Whitney tests were used to compare the imaging scores expressed as the median of both of the coxofemoral global scores to the averaged gait analysis outcomes for both hind limbs by OA status. A mixed model for repeated measures was carried out to test the effect of time (day), OA status and these interactions (fixed effects) on cat motor activity. Log-transformed mean activity counts for each daylight and night period were used in the analyses to obtain a normal distribution (tested using the Shapiro-Wilk test). Homogeneity of variances was tested, and this model used the cats as the random effect and a compound symmetry covariance structure. Fixed effects were assessed using likelihood modeling (Litell

et al., 2006). Post-hoc analyses for the interaction between time and OA status were performed using an adjusted p-value, which multiplied the original p-value by the number of comparisons of interest (*i.e.*, 6). Exploratory correlations between age, structural change (median of both coxofemoral global scores), gait analysis outcomes (mean of both hind limbs) and the motor activity data were carried out using Spearman's rank correlations. For the correlation analyses, the daylight and night-time motor activity for the 6 recording days were averaged to obtain 1 daylight and night-time motor activity value per cat. All analyses were 2-tailed but the comparison of the imaging scores that were one-tailed (by nature it is unlikely that the structural score of a normal cat could be higher than the score of an OA cat), with an α -level of 0.10, which was related to the exploratory nature of this study, and all analyses were performed using statistical software (SAS[®] system, version 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC).

2.2.5 Results

2.2.5.1 CR and MRI structural evaluations

The coxofemoral joint global imaging structural scores of OA-related lesions in normal cats compared with OA cats were similar (median [minimum-maximum]; 0 [0-0] and 1.5 [0-2], respectively; $P = 0.20$) for the CR, but were lower for the MRI (0 [0-0] and 2 [1.5-4.0], respectively; $P = 0.07$).

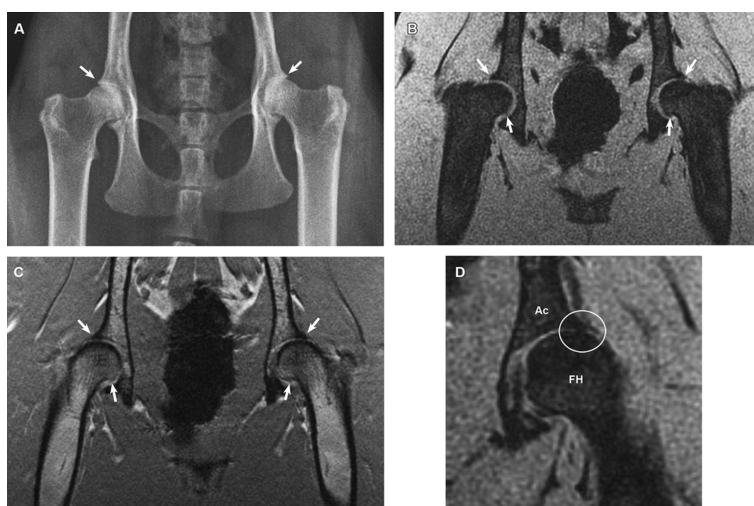
For all OA cats, both osteophytes and sclerosis were found (Figure 2.2-1), and these scores were similar for both imaging modalities (Table 2.2-I). One cat, despite the absence of lesion detected on CR had several OA lesions on the MR images, including bilateral grade 1 osteophytosis, right articular effusion and thinned left cartilage. BML (Figure 2.2-2) were found in 2 OA cats in the right femoral head, and effusion scores (MRI) were similar between normal and OA cats.

Table 2.2-I Structural scores of OA-related lesions of the coxofemoral joints, as assessed using CR and MR images in normal (n = 2) and OA (n = 4) cats.

Categories	OA scores of the coxofemoral joints (Median [min-max])							
	Right				Left			
	Normal		OA		Normal		OA	
	CR	MRI	CR	MRI	CR	MRI	CR	MRI
Osteophytosis	0 [0-0]	0 [0-0]	0.5 [0-1]	1 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-1]	1 [1-1]
Sclerosis	0 [0-0]	0 [0-0]	0.5 [0-1]	0 [0-1]	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-1]	0 [0-1]
Effusion	NE	0 [0-0]	NE	0.5 [0-1]	NE	0 [0-0]	NE	0 [0-0]
BML	NE	0 [0-0]	NE	0.5 [0-1]	NE	0 [0-0]	NE	0 [0-0]
Cartilage	NE	0 [0-0]	NE	1 [0-1]	NE	0 [0-0]	NE	1 [0-1]
Global score	0 [0-0]	0 [0-0]	1 [0-2]	2.5 [1-5]	0 [0-0]	0 [0-0]	2 [0-2]	2 [1-3]

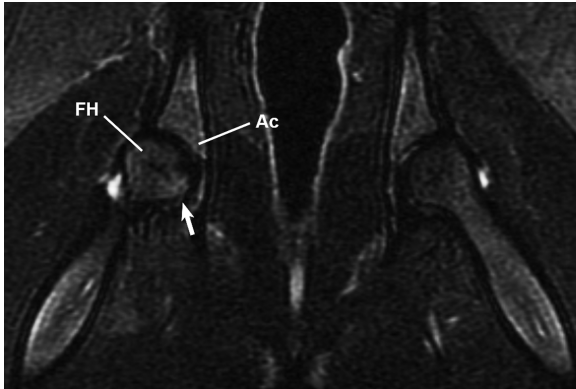
OA: osteoarthritis; CR: computed radiography, MR: magnetic resonance; min: minimum; max: maximum; BML: bone marrow edema-like lesion (defined as hyperintense, ill-defined lesions on SPGR and T2-FS sequences, and hypointense lesions on T1-GRE sequence); NE: non-evaluable.

Figure 2.2-1 Osteoarthritic changes detected using CR and MR images in a cat.



As shown in the ventrodorsal CR (A) and dorsal MR images (B-D). Osteophytes (arrows) osteoarthritic changes are easily seen at the cranio-lateral margin of the dorsal acetabular rim and the medial margin of the femoral heads (FH) by CR (A), SPGR (B) and T1-GRE (C). Joint space narrowing associated with reduced signal intensity is also noted on the SPGR (circle) and can be interpreted as cartilage thinning or erosion. Joint space narrowing is also depicted by CR (A) bilaterally. Ac, acetabulum; FH, femoral head.

Figure 2.2-2 Bone marrow edema-like lesion.



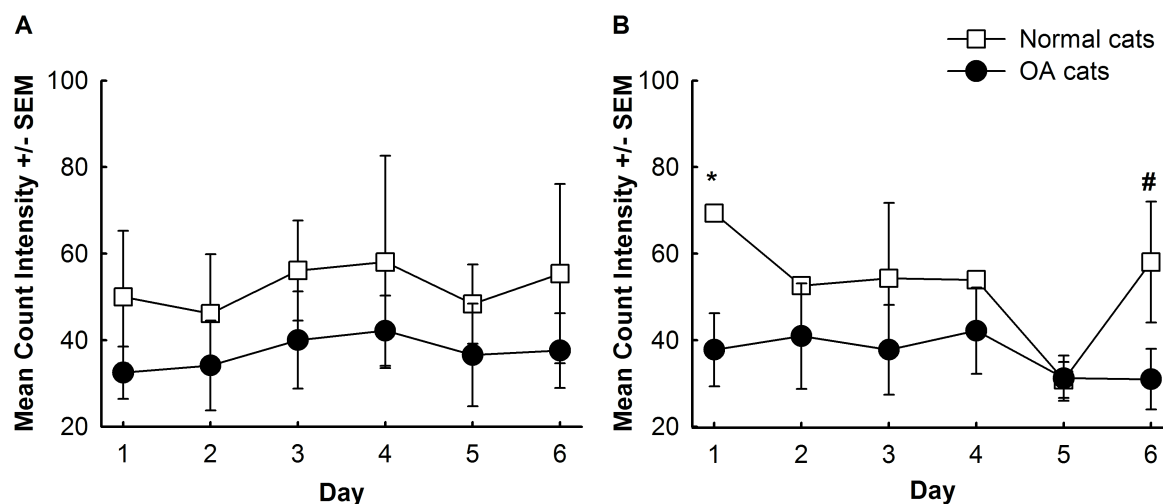
Ill-defined bone marrow hyperintensity is present on the fat-suppressed, T2-weighted imaging of this cat at the medial portion (arrow) of the right femoral head (FH). Ac, acetabulum.

2.2.5.2 Functional evaluations

Hind limb PVF of the normal cats (mean [SD]; 50.78 % [6.8]) was greater than that of the OA cats (42.8 % [5.6]; $P = 0.10$), although the GCA was similar between cat groups (9.1 cm² [1.3], and 9.1 cm² [0.8], respectively; $P = 0.98$).

During daylight, the motor activity of the normal cats was similar to that of the OA cats ($P = 0.18$), and there was no significant effect of either the day or the interaction between time and the OA group ($P = 0.17$ and 0.98 , respectively). However, during night-time, the motor activity of normal cats was greater than that of the OA cats ($P = 0.04$), motor activity varied over days ($P < 0.01$), and the interaction between time and the OA group was significant ($P = 0.08$). Post hoc analyses indicated that the motor activity in normal cats was significantly greater than that of OA cats at day 1 and 6 during the night-time (adjusted- $P = 0.04$ and 0.06 , respectively; Figure 2.2-3).

Figure 2.2-3 Daylight (A) and night-time (B) mean motor activity by day and osteoarthritis status.

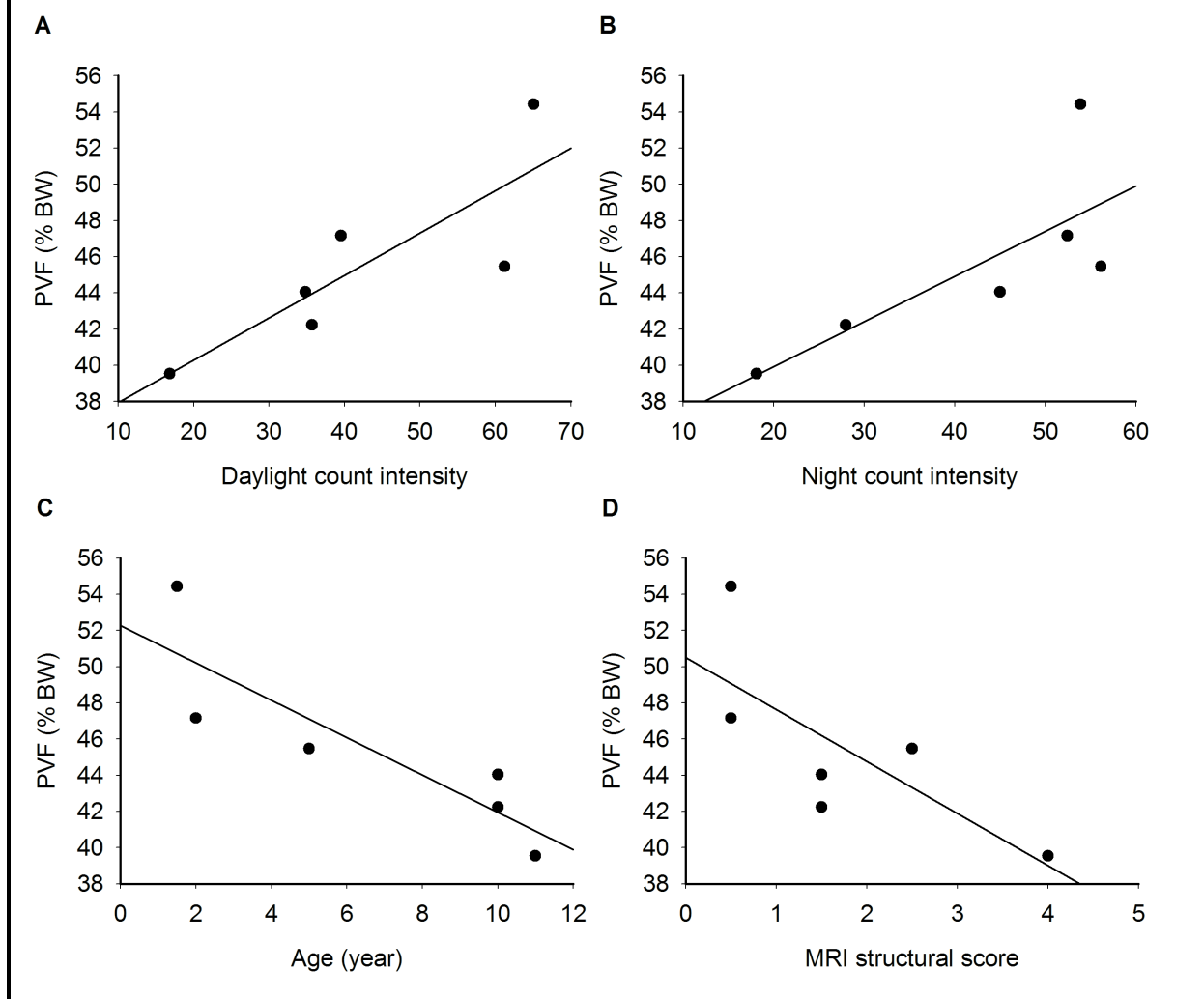


* adjusted- $P = 0.04$; # adjusted- $P = 0.06$; OA = osteoarthritis; SEM = standard error of the mean.

2.2.5.3 Exploratory correlations

Spearman's rank correlation analysis indicated that PVF was significantly, positively and strongly correlated with mean motor activity during both daylight and night-time (Spearman coefficient [Rho] = 0.89 and 0.83, $P = 0.02$ and 0.04, respectively; and refer to Figures 2.2-4 A, B). Additionally, PVF was significantly, negatively and strongly correlated with age (Rho = -0.98, $P < 0.01$; Figure 2.2-4 C) and also mildly and negatively correlated with the MRI global structural score (Rho = -0.79, $p = 0.06$; Figure 2.2-4 D), although it was not significantly correlated with the CR structural score ($P = 0.43$).

Figure 2.2-4 Graphical representation of PVF as a function of *A- Daylight motor activity; B- Night-time motor activity; C- Age; D- MRI global structural score, plus linear trends.*



2.2.6 Discussion

2.2.6.1 Structural evaluation of OA-related lesions

This study provides the first description of OA-related lesions in cats using a 1.5-T MRI analysis. Although clinical interest in such a technique in cats may be limited at this time, recent research in OA supports use of MRI for accurate assessment of structural changes related to OA and a whole-organ assessment of OA joints (Guermazi et al., 2008; Olive et al., 2010; Peterfy et al., 2006).

In 2 OA cats, BML lesions were detected in the femoral head. In people, although not specific to OA and although observed in several hip disorders such as osteoporosis and avascular necrosis (Ragab et al., 2008), BML are related to the involvement of the subchondral bone in the etiopathogenesis of OA (Kwan Tat et al., 2010) and are associated with disease progression and pain (Taljanovic et al., 2008; Wenham and Conaghan, 2009). Hence, the identification of such a lesion in cats is an important discovery and questions whether similar involvement of the subchondral bone exists for OA etiopathogenesis in cats. However, this topic requires further investigation by a larger MRI / histologic study.

The MRI sequences used were chosen based on current techniques used in people, horses, and dogs (D'Anjou et al., 2008a; d'Anjou et al., 2008b; Link, 2009; Olive et al., 2010; Peterfy et al., 2006), and these were initially tested to optimize the positioning, imaging plane and signal-to-noise ratio and ensure a clinically acceptable acquisition time (~ 60 minutes for both hips). A dorsal imaging plane was used, because this best correlates with a ventrodorsal radiographic projection, that is most commonly used to assess hip status in dogs and cats. Transverse T2-FS and FIESTA sequences were also used to gain information about localization of the lesions, particularly BML, and assessment of joint effusion. The addition of the sagittal and transverse imaging planes to this sequence would have been optimal, but it also would have increased the acquisition time. However, the FIESTA sequences did not provide additional insightful findings, and these could have been replaced with additional transverse T1-weighted and SPGR sequences.

2.2.6.2 Functional evaluation

Our pilot study suggests that PVF should be further investigated in a larger study for its use as an objective outcome for the assessment of feline OA-associated pain/ impairment (as it is currently used in dogs; DeCamp, 1997; Rialland et al. 2009) However, in people, neuromuscular aging-related changes to the musculoskeletal system (*e.g.*, a decline in passive joint stability, ligament stiffness, muscle strength and muscle activation) can also lead to gait modifications (Andriacchi et al., 2004). The negative correlation between PVF and age in our cats suggest that, at least in part, musculoskeletal aging-related changes may explain gait

differences between normal cats and cats with OA. In this context, it will be important to test the responsiveness of PVF to symptomatic treatment to validate this observation.

Previous studies reporting decreases in PVF for OA cats (Herzog et al., 1993; Suter et al., 1998) have used an induced surgical model of OA and have measured PVF using 2 force platforms. Moreover, one of these studies (Herzog et al., 1993) used static PVF recording, which makes comparison with our study difficult. Two other studies used pressure-sensitive systems to measure PVF in normal cats without (Lascelles et al., 2007b) or with bilateral onychectomy Romans *et al.* (2004) reported PVF findings in normal cats that were similar to ours (50.22% [1.31] compared to 50.78 % [6.8] in our study), but those reported by Lascelles *et al.* (2007b; 38.3% [4.0]) seemed slightly lower than ours. The average speed during the gait acquisition differed by study, which may be one potential explanation for these PVF differences, as gait velocity is known to affect PVF in dogs (Riggs et al., 1993; Voss et al., 2007) and people (Zeni and Higginson, 2009). Another potential explanation could be differences in calibration, as no specific recommendations and rather only general guidelines for animal use were provided by the manufacturers (Lascelles et al., 2007b). We agree with Lascelles *et al.*(2007b) that optimization and standardization of the calibration methods would be of great interest for comparing study results. Furthermore, acclimation and training protocol standards have not yet been defined, which could also in part explain the discrepancies between the kinetic studies. Indeed, acclimation and training are critical for obtaining reliable data and for decreasing the total number of passages on the pressure-sensitive walkway device to provide the valid trials required during a session.

In our study, the motor activity of normal cats was greater than that of OA cats during the night ($P = 0.04$) but was similar during daylight hours ($P = 0.18$). This may likely be explained by the variability between days, in which the normal cats displayed greater motor activity at day 1 and 6 (adjusted- $P = 0.04$ and 0.06 , respectively). During the night, the OA cats seemed unable to increase their activity level compared to the normal cats. This finding agrees with a human study that used accelerometers.(Farr et al., 2008) This decrease in motor activity may be associated with pain, as suggested by the reported improvement in the activity of OA cats after the provision of analgesic treatment (Lascelles et al., 2007c) and a therapeutic diet (Lascelles et al., 2010a). In addition, the strong positive correlation between motor

activity assessment and PVF suggests that physical activity may be limited by physical disability, and both could therefore be used as outcome measures for OA-related pain/disability. However, the negative correlation between motor activity and age suggested that part of the decrease in physical activity was associated with age and may be from other aging-related functional declines, including cognitive (Atkinson et al., 2007) and motor control impairment (Zhang et al., 2006).

Summarily, our results provide important, novel insights regarding OA in cats, although these findings need to be confirmed with a larger sample size. This is the first description of whole-joint OA-related changes in cats using MRI. Furthermore, the gait analysis and accelerometry allowed for discrimination between OA and non-OA cats, which provides the basis for a validation study concerning PVF and motor activity as quantifiable outcome measures in feline OA.

2.2.7 Acknowledgments

This work was supported by the Morris Animal Foundation #D09FE-803A Grant for the pilot study (ETR); “TOP-CAT: Tracking Osteoarthritis Pain in the CAT”; the Quebec Bio-Imaging Network of the Fonds de Recherche en Santé du Québec – Program for pilot project grant (ETR); in part by an Operating Grant from ArthroLab, Inc.; a Leader Opportunity Fund Grant (#24601) from the Canada Foundation for Innovation (ETR); and a Discovery Grant (#327158-2008) from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (ETR). Dr Martin Guillot is the recipient of an Alexander Graham Bell Canada Graduate Scholarship for doctorate research and a Doctoral Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research – MENTOR Strategic Training Initiative in Health Research Program.

The study protocol was approved by the Institutional Ethical and Scientific Committee (# 09-Rech-1482), and the guidelines of the Canadian Council on Animal Care were followed regarding the care and manipulations of the cats.

This work was presented in part at the Pain and Pain Management in Non-Human Species Special Interest Group Official Satellite Symposium of the 13th World Congress on Pain, Montreal, Canada (August 29th 2010).

2.2.8 References

- Andriacchi TP, Mundermann A, Smith RL, et al. (2004) A framework for the in vivo pathomechanics of osteoarthritis at the knee. *Ann Biomed Eng* 32: 447-457.
- Atkinson HH, Rosano C, Simonsick EM, et al. (2007) Cognitive function, gait speed decline, and comorbidities: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 62: 844-850.
- Beale BS. (2005) Orthopedic problems in geriatric dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 655-674.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Abram F, et al. (2008) Magnetic resonance imaging can accurately assess the long-term progression of knee structural changes in experimental dog osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 67: 926-932.
- Budsberg SC, Johnston SA, Schwarz PD, et al. (1999) Efficacy of etodolac for the treatment of osteoarthritis of the hip joints in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 214: 206-210.
- Clarke SP and Bennett D. (2006) Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *J Small Anim Pract* 47: 439-445.
- Clarke SP, Mellor D, Clements DN, et al. (2005) Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Vet Rec* 157: 793-799.
- D'Anjou MA, Moreau M, Troncy E, et al. (2008a) Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography. *Vet Surg* 37: 166-177.
- d'Anjou MA, Troncy E, Moreau M, et al. (2008b) Temporal assessment of bone marrow lesions on magnetic resonance imaging in a canine model of knee osteoarthritis: impact of sequence selection. *Osteoarthritis Cartilage* 16: 1307-1311.
- DeCamp CE. (1997) Kinetic and kinematic gait analysis and the assessment of lameness in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 27: 825-840.

- Farr JN, Going SB, Lohman TG, et al. (2008) Physical activity levels in patients with early knee osteoarthritis measured by accelerometry. *Arthritis Rheum* 59: 1229-1236.
- Godfrey DR. (2005) Osteoarthritis in cats: a retrospective radiological study. *J Small Anim Pract* 46: 425-429.
- Goldring MB and Goldring SR. (2007) Osteoarthritis. *J Cell Physiol* 213: 626-634.
- Guermazi A, Burstein D, Conaghan P, et al. (2008) Imaging in osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 34: 645-687.
- Hardie EM, Roe SC and Martin FR. (2002) Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *J Am Vet Med Assoc* 220: 628-632.
- Herzog W, Adams ME, Matyas JR, et al. (1993) Hindlimb loading, morphology and biochemistry of articular cartilage in the ACL-deficient cat knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1: 243-251.
- Kidd BL. (2006) Osteoarthritis and joint pain. *Pain* 123: 6-9.
- Kwan Tat S, Lajeunesse D, Pelletier JP, et al. (2010) Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? *Best Pract Res Clin Rheumatol* 24: 51-70.
- Lascelles BD. (2010) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD, Court MH, Hardie EM, et al. (2007a) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cats: a review. *Vet Anaesth Analg* 34: 228-250.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010a) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Findley K, Correa M, et al. (2007b) Kinetic evaluation of normal walking and jumping in cats, using a pressure-sensitive walkway. *Vet Rec* 160: 512-516.
- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007c) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.
- Lascelles BD, Hansen BD, Thomson A, et al. (2008) Evaluation of a digitally integrated accelerometer-based activity monitor for the measurement of activity in cats. *Vet Anaesth Analg* 35: 173-183.
- Lascelles BD, Henry JB, 3rd, Brown J, et al. (2010b) Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Vet Surg* 39: 535-544.

- Lascelles BD and Robertson SA. (2010) DJD-associated pain in cats: what can we do to promote patient comfort? *J Feline Med Surg* 12: 200-212.
- Link TM. (2009) MR imaging in osteoarthritis: hardware, coils, and sequences. *Radiol Clin North Am* 47: 617-632.
- Litell RC, Milliken GA, Stroup WW, et al. (2006) Analysis of repeated measure data. *SAS for mixed models*. Second ed. Cary, NC: SAS Institute Inc, 159-204.
- Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, et al. (2004) Clinical evaluation of a powder of quality elk velvet antler for the treatment of osteoarthrosis in dogs. *Can Vet J* 45: 133-139.
- Moreau M, Lussier B, Doucet M, et al. (2007) Efficacy of licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec* 160: 584-588.
- Olive J, D'Anjou MA, Alexander K, et al (2010). Comparison of magnetic resonance imaging, computed tomography, and radiography for assessment of noncartilaginous changes in equine metacarpophalangeal osteoarthritis. *Vet Radiol Ultrasound* 51: 267-279.
- Papich MG. (2008) An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 38: 1243-1266, vi.
- Peterfy CG, Gold G, Eckstein F, et al. (2006) MRI protocols for whole-organ assessment of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 14 Suppl A: A95-111.
- Ragab Y, Emad Y and Abou-Zeid A. (2008) Bone marrow edema syndromes of the hip: MRI features in different hip disorders. *Clin Rheumatol* 27: 475-482.
- Rialland P, Bichot S, Moreau M, et al. (2009) Validation of clinical pain assessment methods with canine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*;17(Suppl. 1):S254-S255.
- Riggs CM, DeCamp CE, Soutas-Little RW, et al. (1993) Effects of subject velocity on force plate-measured ground reaction forces in healthy greyhounds at the trot. *Am J Vet Res* 54: 1523-1526.
- Romans CW, Conzemius MG, Horstman CL, et al. (2004) Use of pressure platform gait analysis in cats with and without bilateral onychectomy. *Am J Vet Res* 65: 1276-1278.
- Sparkes AH, Heiene R, Lascelles BD, et al. (2010) ISFM and AAFP consensus guidelines: long-term use of NSAIDs in cats. *J Feline Med Surg* 12: 521-538.
- Suter E, Herzog W, Leonard TR, et al. (1998) One-year changes in hind limb kinematics, ground reaction forces and knee stability in an experimental model of osteoarthritis. *J Biomech* 31: 511-517.

- Taljanovic MS, Graham AR, Benjamin JB, et al. (2008) Bone marrow edema pattern in advanced hip osteoarthritis: quantitative assessment with magnetic resonance imaging and correlation with clinical examination, radiographic findings, and histopathology. *Skeletal Radiol* 37: 423-431.
- Voss K, Imhof J, Kaestner S, et al. (2007) Force plate gait analysis at the walk and trot in dogs with low-grade hindlimb lameness. *Vet Comp Orthop Traumatol* 20: 299-304.
- Wenham CY and Conaghan PG. (2009) Imaging the painful osteoarthritic knee joint: what have we learned? *Nat Clin Pract Rheumatol* 5: 149-158.
- Zeni JA, Jr. and Higginson JS. (2009) Differences in gait parameters between healthy subjects and persons with moderate and severe knee osteoarthritis: a result of altered walking speed? *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 24: 372-378.
- Zhang C, Hua T, Zhu Z, et al. (2006) Age-related changes of structures in cerebellar cortex of cat. *J Biosci* 31: 55-60.

2.3 Characterisation of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools.

Guillot M^{11,13}, Moreau M^{11,13}, Heit M¹², Martel-Pelletier J¹³, Pelletier J-P¹³, Troncy E^{11,13}

2.3.1 Abstract

This study aimed to characterise osteoarthritis (OA) related chronic pain and disability in experimental cats with naturally occurring OA, using peak vertical ground reaction force (PVF), accelerometer-based motor activity (MA), and the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold, and to test the efficacy of meloxicam.

A diagnosis of OA was based on radiographic and orthopaedic examinations. Three weeks of placebo administration in 39 OA cats and 6 non-OA cats were used to assess the measurements' reliability and sensitivity to OA. Moreover, the effect of 4 weeks of daily oral meloxicam treatment was assessed in the OA cats using a randomised parallel design in which the cats received meloxicam at 0.05 (n = 9), 0.04 (n = 10), 0.025 (n = 10) mg/kg, or a placebo (n = 10).

The test-retest repeatability for each tool was good (intraclass correlation coefficient ≥ 0.6). The PVF and the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold discriminated OA ($P < 0.05$). Meloxicam did not add to the PVF improvement observed in placebo-treated cats during the treatment period (adj- $P \leq 0.01$). The 0.025 and the 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats experienced a higher night-time (17 :00 to 6 :58) MA intensity during the treatment period compared to the placebo period (adj- $P = 0.04$, and 0.02, respectively). This effect was not observed in the placebo group. The high allodynia rate observed in the 0.04 mg/kg meloxicam-treated group may explain its lower responsiveness to meloxicam. The von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold demonstrated no responsiveness to meloxicam.

¹¹ Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ), Faculty of veterinary medicine, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC, Canada.

¹² Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. St.-Joseph, MO, USA.

¹³ Osteoarthritis Research Unit, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM) – Notre-Dame Hospital, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada.

Daily oral meloxicam administration for 4 weeks provided pain relief according to night-time MA.

2.3.2 Keywords

Accelerometry; Gait analysis; Tactile allodynia; Feline osteoarthritis; Non-steroidal anti-inflammatory drug.

2.3.3 Introduction

Osteoarthritis (OA) in cats develops with aging and is responsible for causing disability and chronic pain (Bennett et al., 2012a; Hardie et al., 2002; Lascelles, 2010; Slingerland et al., 2011). While OA is very common in older cats, it is poorly diagnosed in clinical practice (Clarke et al., 2005; Lascelles, 2010). This may be related to the mismatch between an orthopaedic evaluation and the severity of OA structural changes, and/or the lack of validated chronic pain assessment tools in cats (Clarke and Bennett, 2006; Lascelles et al., 2012). Unfortunately, this situation leads to an absence of approved medication for the treatment of OA-associated chronic pain in cats in North America (Bennett et al., 2012b; Lascelles and Robertson, 2010).

Assessment of chronic pain in animals is challenging. This challenge may be related to the need to consider the impact of pain on physical disability and the associated changes that occur in the central nervous system due to chronic pain. Quantification of limb impairment using the peak vertical ground reaction force (PVF) has been used to objectively evaluate OA-associated pain/ disability in cats (Guillot et al., 2012). Moreover, in this species, OA induces a decrease in owner-assessed daily activity, a reluctance to jump and to walk up stairs, and other altered behaviours (Bennett and Morton, 2009; Slingerland et al., 2011; Zamprogno et al., 2010). Accelerometer-based motor activity (MA) assessment is a complementary approach, which provides an objective quantification of functioning limitations related to OA-associated chronic pain (Guillot et al., 2012; Lascelles et al., 2007b; Lascelles et al., 2010). Moreover, several studies in humans suggest that mechanical allodynia is an essential part of the OA-associated chronic pain assessment (Arendt-Nielsen et al., 2010; Hendiani et al., 2003; Imamura et al., 2008).

We hypothesised that PVF, MA and the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold would provide complementary assessments of OA-associated chronic pain in cats. Our objectives were the following: 1) to assess the reliability and sensitivity (discriminatory ability) to OA of PVF, MA monitoring, and von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold testing and 2) to test the dose-dependent efficacy of a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), meloxicam, in OA cats using the three objective chronic pain outcomes mentioned above.

2.3.4 Materials and methods

2.3.4.1 Cat selection and experimental protocol

The Institutional Animal Care and Use Committee approved the study protocol (# Rech-1482), and the Canadian Council on Animal Care guidelines were followed regarding the care and handling of the cats. Experimental cats were selected based on a normal physical and neurologic evaluation, complete blood count, blood biochemical profile, and urine analysis. A thorough orthopaedic examination was performed to detect changes in gait, posture, and the presence of joint pain. Cats with limb deformities or signs of acute disease were disqualified from the study. The cats were also screened using computed radiographs (CR) of the mediolateral and caudocranial stifle projections. The coxofemoral, carpal and tarsal joints as well as the mediolateral projection of shoulders and elbows were also screened. These CR were performed under intramuscular sedation using medetomidine (0.02 mg/kg) and morphine (0.1-0.2 mg/kg). The radiographic OA severity was graded as previously described (D'Anjou et al., 2008; Guillot et al., 2012). Of the 120 cats examined, 48 satisfied the inclusion criteria and were classed into 3 different OA-status-groups (Figure 2.3-1). Six cats (3 females and 3 males) were included in the OA-status-group 0; *i.e.*, young cats with normal orthopaedic examinations and no radiographic OA (non-OA cats). Thirty-two cats (19 females and 13 males) were included in the OA-status-group 1; *i.e.*, cats with an abnormal orthopaedic examination and radiographic OA. Ten cats (5 females) were included in the OA-status-group 2; *i.e.*, cats with abnormal orthopaedic examinations but no radiographic OA (Table 2.3-I).

Table 2.3-I Age, radiographic and orthopaedic features of the selected cats at the start of the study by OA-status-group.

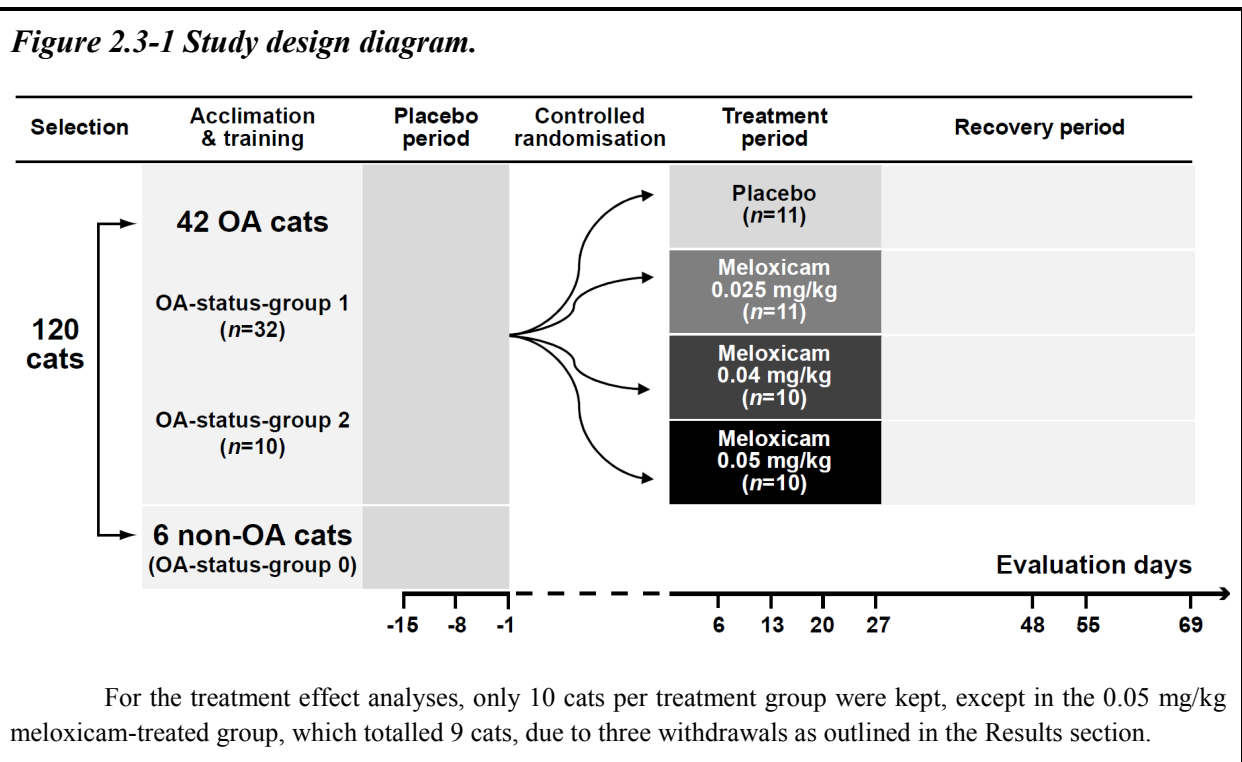
Feature	OA-status-group			
	0	1	2	
Mean age [SD] (year)	2.8 [1.4]	8.0 [2.4]	8.9 [1.4]	
Median radiographic scores (range)	Forelimbs	0 (0-0)	1 (0-9)	0 (0-0)
	Hindlimbs	0 (0-0)	3 (0-11)	0 (0-0)
Median radiographic OA-affected joint number (range)	Forelimbs	0 (0-0)	1 (0-4) ^a	0 (0-0)
	Hindlimbs	0 (0-0)	2 (0-4) ^b	0 (0-0)
Presence of gait alteration (%)		0	43.7	40
Presence of posture alteration (%)	Forelimbs	0	9.4	10
	Hindlimbs	0	37.5	60.0
Presence of subjective pain as noted by a blinded observer (%)	Forelimbs	0	9.3	22.3
	Hindlimbs	0	100	100

^a On 32 cats, affected joints were shoulder (12/32 = 37.5%), elbow (9/32 = 28.1%), and carpal (4/32=12.5%) joints; ^b On 32 cats, affected joints were coxofemoral (21/32=65.6%), tarsal (12/32 = 37.5%), and stifle (11/32 = 34.4%) joints.

After 2 weeks of quarantine, the cats were housed together in 2 similar dedicated rooms (surface around 8x12 m). Cats were acclimatised for 4 weeks including i) a twice-weekly training for PVF assessment (to move freely across the pressure sensitive mat, and to perform progressive stair exercises), ii) von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold testing, and iii) one week of conditioning to wear the accelerometer device. The room environment and the cats' health were controlled and recorded daily, and the cats were weighed each week. The cats were fed according to the food manufacturer's recommendations once daily in the afternoon with a standard certified commercial cat food (Hill's Prescription Diet w/d Feline, Hill's Pet Nutrition, Inc[®], Mississauga, ON, Canada.). Water was supplied *ad libitum*. In both rooms, the cats were allowed to move freely, with free access to toys, covers, height platforms, and one large window. Beds in quiet locations were also freely accessible.

First, all cats received 3 weeks of the placebo (identical to Metacam[®] Oral Suspension without the active ingredient) once a day by mouth in the morning, thus providing an acclimatisation period for the drug administration. During this placebo period, outcome reliability (repeatability and stability) and sensitivity (discriminatory ability) to OA were assessed. Then, the OA cats were divided into four treatment groups. A controlled randomisation was performed according to the PVF values obtained during the placebo period,

and the OA-status-group, providing homogeneous treatment groups on these criteria. Cats received daily oral meloxicam (Metacam® Oral Suspension 0.5 mg/mL, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc, St-Joseph, MO.) at 0.05 (n = 10), 0.04 (n = 10) and 0.025 mg/kg (n = 11) or a placebo (n = 11) for four weeks. Following the controlled randomisation, each treatment group was similarly represented in both living rooms. A six-week recovery period occurred during which no treatment was administered to test the persistence effects of the treatment. All evaluations of the OA status and the provided treatment were conducted blindly (Figure 2.3-1).



2.3.4.2 Measurement of PVF

Peak vertical of the ground reaction force was acquired using a floor mat-based plantar force measurement system (Walkway System WE4, Tekscan Inc, Boston, MA.) and was managed using Walkway Research® software v.7.0. Prior to each kinetic measurement, equilibration and calibration of the system was performed. The cats were coaxed using positive reinforcement (treats, clicker, brushing, etc.) to trot across the walkway at a comfortable speed (0.8-1.4 m/s). Speed was computed by the software using the time and distance of a given stride. Only the four-foot strikes of the first stride were considered. Among

all kinetic gait parameters generated, only the maximal loading, referred to as the PVF, was considered, as supported by a previous study (Guillot et al., 2012). For each session, a maximum of 3 valid trials (the cat moved across the entire mat undisturbed, consistently, in a straight line, and at the correct speed) were obtained for each cat, with an *a priori* maximum of 16 consecutive trials allowed. The number of trials needed to obtain the 3 valid trials was recorded. The PVF was recorded before and immediately after approximately 3 minutes of stair exercises. Stair exercises on a 10 m long staircase consisted of running up, down, and then up again. The post-exercise measurement was performed within 60 seconds of the final excursion up the stairs.

Based on the PVF expressed as a percentage of body weight (%BW), the most affected limb of the before and after-exercise sessions was determined for each cat. The most affected limb was defined as the limb that generated the lower PVF value most frequently during a trial, among all of the analysed trials during the placebo period (maximum of $3 \times 3 = 9$ trials). If an equal number of lower values was detected for each limb, the limb with the lower average PVF value was chosen. For each day of evaluation, the kinetic gait analysis outcome of each session (before / after exercise) was calculated by averaging the 3 valid trials of the most affected limb PVF of each cat.

2.3.4.3 Motor activity assessment

The MA was assessed using a collar-attached accelerometer-based activity sensor (ActiWatch, Minimitter/Respironics, distributed by Bio-Lynx Scientific Equipment Inc, Montreal, QC, Canada.) maintained in place from day (D) -21 to D69 (see Figure 2.3-1). The device was set for local time and configured to create 1 count value per 2 minutes. The amplitude of each count was subsequently translated to a numeric value (from 0 to infinite) referring to the intensity count of MA. To exclude periods where human activity and handling interfered with the cats' activity, only 3 days per week (Friday, Saturday and Sunday), between 17 :00 to 6 :58, were considered for the analyses. This was supported by our pilot study data (Guillot et al., 2012), where MA of OA cats was more affected during night-time. Additionally, all adverse events were recorded and excluded. Data were expressed as the

average total intensity counts. Thus, for each week of evaluation, the MA outcome was obtained for each cat by calculating the median of the three periods.

2.3.4.4 Punctate tactile allodynia quantification

Secondary punctate allodynia responses were evaluated using gradually increased pressure applied on the plantar paw surface with a mechanical von Frey polypropylene probe (Rigid Tip 0.7 mm² of surface 28G, IITC Life Science) fitted on a hand-held force transducer and paw withdrawal threshold monitoring anesthesiometer. The tip was placed perpendicularly to the plantar surface of the 4 paws (without manipulating the limb) one after the other in a predefined order while the cat was standing up partially restrained in a meshed cage specifically designed for this evaluation. The stimulus was stopped as soon as the paw was withdrawn or the cat showed pain behaviours, such as vocalisation, agitation, or avoidance. For each animal, the peak of force in grams was recorded, and duplicate measurements of each paw were obtained with a 60-second interval between both stimuli. The data under 2 g were discarded, and a maximal cut-off value of 200 g was applied. For each evaluation day, the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold outcome was obtained by averaging all of the available threshold values (n = 8) for each cat.

Furthermore, according to the data distribution, an allodynia threshold was set at 40 g for the front paws and 50 g for the hind paws. These thresholds were determined based on the first quartile values of the OA cats placebo period data (lowest round value close to the mean of the 12 calculated first quartile values for the fore and hind paws respectively), and importantly, no non-OA cat presented such low values, or lower, twice for a duplicate. A cat was considered to be allodynic if at least one of its paws presented duplicate values under the fixed threshold.

2.3.4.5 Statistical method

All analyses were conducted two-sided with an α threshold of 0.05 using a statistical software program (SAS system, version 9.2, SAS Institute Inc, Cary, NC.). Outcome normality was verified using the Shapiro-Wilk test.

During the placebo period, outcome repeatability was assessed by computing the intraclass correlation coefficient (ICC), a measure of the proportion of variance that is attributable to objects of measurement. It is accepted that ICCs > 0.6 suggest satisfactory, and > 0.8 excellent stability (Faries and Yalcin, 2007). Mixed model analyses for repeated measures allowing to model the covariance structure (Littell et al., 2006) provided information about outcome stability over time (day effect assessment) and the outcome ability to discriminate over an OA cat's status (OA-status-group effect estimates; whole model details are provided in Table 2.3-II). A Tukey-Kramer adjustment was used to obtain adjusted p-values (adj-P) for multiple comparisons.

Mixed model analyses for repeated measures were also conducted to test the effect of treatments on the different outcomes (whole model details are provided in Table 2.3-II). To consider multiple comparisons, adjusted p-values were computed using the Bonferroni correction (original p-value multiplied by the number of comparisons of interest, i.e., 3).

Table 2.3-II Details of the mixed model analyses.

Models ^{a,b}	Outcomes	Outcome transformation ^c	Fixed effects	Covariance structures	Covariates ^d
Outcome variability assessment and OA status discrimination	PVF	Log-transformed	OA-status-group, day, and their interaction	Compound symmetry with a heterogeneous selection group	BW, Velocity and Maximum number of trials
	Motor activity	Log-transformed		Toeplitz with a heterogeneous selection group	-
	Von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold	-		Type 1 autoregressive	-
Treatment effect assessment	PVF	Log-transformed	Treatment, period, and their interaction	Compound symmetry	BW, Velocity and Maximum number of trials
	Motor activity	Log-transformed		Toeplitz with a heterogeneous treatment group	-
	Von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold	Square root transformed		Spatial power	-

^a All models used a mixed model method for repeated measures and provided fixed effect estimates by restricted likelihood modelling. The homogeneity of variance was assessed using the absolute values of the residuals of the mixed model, and the best structure of the covariance model was assessed using a graphical method (plots of covariance *versus* lag in time between pairs of observation compared to different covariance models), as well as using information criteria that measure the relative fit of competing covariance models. Also, residuals of the models were thoroughly studied to assess the model's validity (Littell et al., 2006); ^b All models used day as the repeated factor; ^c Outcome transformations were recommended following residual analysis

results; ^d Covariates of the models were thoroughly assessed and only significant ones were kept in each final model.

2.3.5 Results

2.3.5.1 Departure from the protocol and health follow up

Punctate tactile allodynia was not evaluated for one cat in the OA-status-group 0 because of constant non-reliable behaviour throughout the placebo period. During the treatment period, three OA cats (all of which originated from OA-status-group 1) were withdrawn from the study. One 0.05 mg/kg meloxicam-treated cat was withdrawn due to the occurrence of vestibular syndrome, one 0.025 mg/kg meloxicam-treated cat was withdrawn because it had chronic diarrhoea, which required repeated isolation, and one placebo-treated cat was withdrawn due to the development of an aversion to being handled. Finally, there were 10 cats per treatment group, except in the 0.05 mg/kg meloxicam-treated group, which had 9 cats.

No clinical side effects related to meloxicam administration were observed in the 31 meloxicam-treated cats, no significant change in complete blood count, blood biochemistry or urine analysis was observed, and particularly, there were no individual increases in liver or kidney parameters to values outside of the normal range.

The last week of MA, data were discarded because the sensor stopped recording in the majority of cats (75%) between D62 and D68 due to low batteries.

2.3.5.2 Outcome reliability and sensitivity to OA during the placebo period

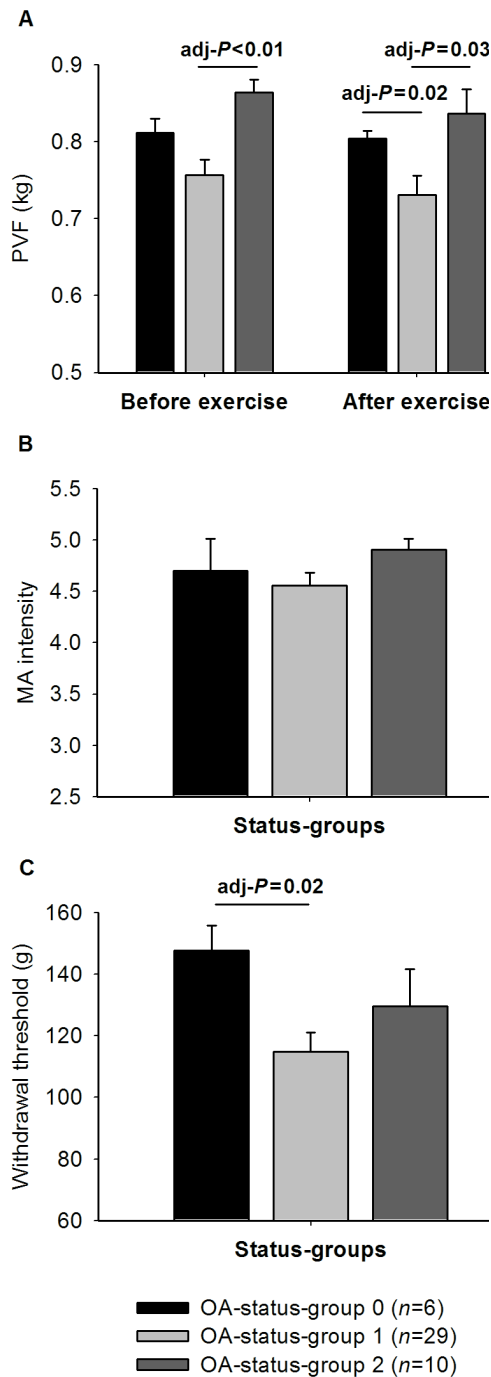
The ICC [95% confidence interval] of the most affected limb PVF expressed as %BW before and after exercise was 0.49 [0.32-0.66] and 0.60 [0.40-0.70], respectively. Moreover, mixed model analyses showed no significant change over time (days) of the most affected limb PVF before and after exercise ($P = 0.84$ and 0.40 respectively), using BW ($P < 0.01$), velocity ($P < 0.05$) and the maximum number of trials ($P < 0.01$) as covariates. The ICC of the MA was 0.87 [0.80-0.92], and no change over time was detected ($P = 0.33$). Finally, the ICC of the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold was 0.78 [0.67-0.87], and no change over time was detected ($P < 0.40$).

The most affected limb PVF analyses before and after exercise showed a significant OA-status-group effect ($P < 0.01$ and $P = 0.02$, respectively; Figure 2.3-2A), with group comparison showing that the cats in OA-status-group 1 were more affected. For the OA-status-group 1 cats ($n = 29$), all most affected limbs (pre and post exercise session) were hind limbs with a median (range) radiographic score of 2 (0-6), 27 (= 93.1%) of which presented radiographic OA. Affected joints were coxofemoral (18/27 = 66.7%), tarsal (8/27 = 29.6%), and stifle (6/27 = 22.2%) joints. For the OA-status-group 0 and 2 cats, all most affected limbs were also hind limbs and, according to their selection criteria, with no radiographic OA. The MA intensity demonstrated no OA-status-group or interaction of day with OA-status-group effects ($P > 0.14$; Figure 2.3-2B). Finally, the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold analyses indicated a significant OA-status-group effect ($P = 0.02$; Figure 2.3-2C). Particularly for OA-status-group 1 cats, the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold was lower than that of the OA-status-group 0 cats (adj- $P=0.02$).

2.3.5.3 Effect of meloxicam

The before-exercise PVF data were not considered to be adequate to test for the effects of meloxicam because this outcome was not sufficiently reliable and sensitive to OA compared to the after-exercise PVF data. Descriptive statistics for the different outcomes over the evaluation days are provided in Tables 2.3-3 (most affected limb PVF after exercise and essential covariates: velocity and maximum number of trials), 2.3-4 (MA) and 2.3-5 (von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold).

Figure 2.3-2 Least square means of the different outcomes by OA-status-group during the placebo period.



A- Least square means of the log-transformed most affected limb PVF and SEM by OA-status-group before- and after-exercise gait sessions. Before exercise, the PVF of the OA-status-group 1 cats was lower than that of the OA-status-group 2 cats (adjusted p-value [adj-*P*] < 0.01) and similar to that of the OA-status-group 0 cats (adj-*P* = 0.12). In contrast, the PVF of the OA-status-groups 2 and 0 cats were similar (adj-*P* = 0.12). After exercise, the PVF of the OA-status-group 1 cats was lower than that of the OA-status-groups 0 and 2 cats (adj-*P* = 0.02, and 0.03, respectively). The PVF of the OA-status-groups 2 and 0 cats was similar (adj-*P* = 0.58).

B- Least square means of the log-transformed motor activity and SEM by OA-status-group.

C- Least square means of the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold and SEM by OA-status-group. The von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold of the OA-status-group 1 cats was lower than that of the OA-status-group 0 cats (adj-*P* = 0.02), but similar to that of the OA-status-group 2 cats (adj-*P* = 0.54). In contrast, the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold of the OA-status-groups 2 and 0 cats was similar (adj-*P* = 0.44).

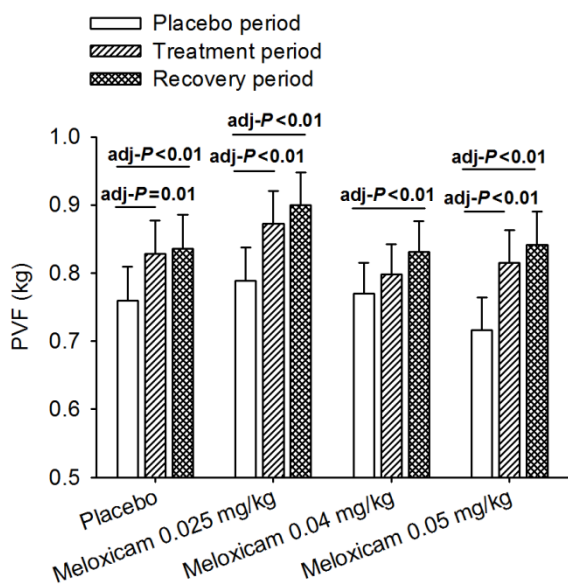
Table 2.3-III Mean and standard deviation (SD) of the most affected limb PVF, velocity and maximum number of trials (MT) of the after-exercise session by treatment group over days.

	Treatment (from D0 to D27)	-15		-8		-1		6		13		20		27		48		55		69	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
PVF (% BW)	Placebo	44.9	8.4	43.9	6.9	51.3	6.4	48.2	5.1	50.0	6.7	49.6	7.5	49.4	5.0	50.6	6.9	51.5	5.2	53.0	7.9
	Meloxicam 0.025 mg/kg	44.7	6.7	46.5	8.2	47.1	9.1	49.1	5.3	49.1	8.7	49.0	8.5	50.6	8.2	52.1	8.0	50.4	9.0	51.4	5.7
	Meloxicam 0.04 mg/kg	45.4	6.2	44.5	8.4	44.9	5.7	43.5	5.0	46.7	4.5	43.9	5.2	45.2	4.6	47.9	6.3	47.5	8.1	49.5	6.4
	Meloxicam 0.05 mg/kg	41.2	8.7	44.8	5.0	44.9	4.5	47.1	6.3	47.0	5.2	46.4	4.8	47.0	4.1	50.3	5.2	48.4	6.5	47.3	4.6
Velocity (m/s)	Placebo	1.27	0.14	1.26	0.28	1.36	0.11	1.30	0.19	1.26	0.19	1.30	0.16	1.31	0.26	1.31	17.1	1.37	0.10	1.35	0.88
	Meloxicam 0.025 mg/kg	1.39	0.33	1.29	0.19	1.31	0.13	1.37	0.16	1.37	0.14	1.38	0.14	1.41	0.18	1.37	18.7	1.35	0.17	1.38	0.19
	Meloxicam 0.04 mg/kg	1.28	0.26	1.53	0.23	1.39	0.21	1.36	0.15	1.40	0.12	1.37	0.12	1.32	0.23	1.33	19.6	1.42	0.18	1.42	0.20
	Meloxicam 0.05 mg/kg	1.25	0.22	1.34	0.15	1.31	0.80	1.31	0.16	1.25	0.21	1.29	0.22	1.34	0.20	1.31	26.4	1.35	0.21	1.35	0.15
MT	Placebo	8.6	4.2	11.4	4.2	7.6	3.2	9.1	3.8	8.2	4.0	9.1	3.9	8.9	4.3	8.6	4.4	8.1	4.4	7.2	3.2
	Meloxicam 0.025 mg/kg	11.6	4.5	10.4	4.4	11.6	4.4	12.6	3.8	10.0	4.2	8.1	2.8	8.4	3.0	8.2	2.6	7.8	3.0	9.2	3.9
	Meloxicam 0.04 mg/kg	9.5	3.5	9.7	4.0	8.7	2.9	11.5	3.1	9.2	2.7	9.3	3.1	7.8	2.7	8.0	2.9	8.2	2.9	6.2	1.1
	Meloxicam 0.05 mg/kg	11.0	4.8	6.8	2.6	9.0	4.4	7.7	3.6	9.9	4.6	8.3	3.5	8.1	4.3	7.6	3.4	6.8	1.2	7.8	3.6

Grey shaded columns are evaluation days of the treatment period.

The most affected limb PVF after-exercise analyses indicated an overall period effect ($P < 0.01$), but showed neither a significant treatment effect nor an interaction of treatment with period effect ($P > 0.30$). After excluding the OA-status-group 2 cats, complementary analyses of the most affected limb PVF after exercise showed an overall period effect ($P < 0.001$) and no significant treatment effect ($P = 0.78$). However, there was a significant interaction of treatment with period effect ($P < 0.04$). In particular, there was a significant increase in PVF for the 0.025 and 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats during the treatment compared to the placebo period (adj- $P < 0.01$). The placebo-treated cats also experienced a significant increase in PVF between the placebo and the treatment period (adj- $P = 0.01$) in these complementary analyses (Figure 2.3-3).

Figure 2.3-3 Least square means and SEM of the log-transformed PVF by period and treatment after excluding OA-status-group 2 cats.



The placebo, 0.025 and 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats presented a significantly higher PVF during the treatment compared to the placebo period (Least square means difference \pm SEM = 0.07 ± 0.02 , adjusted p-value [adj-*P*] = 0.01; Least square means difference \pm SEM = 0.08 ± 0.02 , adj-*P* < 0.01; and 0.10 ± 0.02 , adj-*P* < 0.01, respectively). The treatment-placebo period difference observed in the 0.05 mg/kg meloxicam group was close to significance compared to the placebo group. Moreover, the placebo and all of the meloxicam-treated cats demonstrated a significantly higher PVF during the recovery period compared to the placebo period (adj-*P* \leq 0.01): Least square means difference \pm SEM = 0.08 ± 0.02 , 0.10 ± 0.02 ; 0.06 ± 0.02 ; 0.12 ± 0.02 for the placebo-, the 0.025, 0.04 and 0.05 mg/kg

meloxicam-treated cats, respectively (n = 7, 7, 8, and 7, respectively). The pooled meloxicam groups were close to demonstrating a significant difference between the treatment and the recovery period, but the placebo group was not.

Table 2.3-IV Mean and standard deviation (SD) of the motor activity intensity by treatment group over days.

Treatment (from D0 to D27)	Day																	
	-15		-8		-1		6		13		20		27		48		55	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Placebo	110	74.7	117	82.2	117	74.9	136	94.7	119	90.1	104	75.4	113	76.4	108	77.0	103	64.0
Meloxicam 0.025 mg/kg	101	38.6	113	47.4	126	57.5	159	58.3	148	85.8	121	49.4	132	75.0	117	60.9	117	68.7
Meloxicam 0.04 mg/kg	119	53.8	123	67.7	132	70.1	137	64.6	150	87.9	133	66.0	143	82.0	107	39.9	126	59.4
Meloxicam 0.05 mg/kg	145	65.4	147	61.0	149	79.6	194	62.5	169	66.5	142	49.9	164	54.7	140	53.0	151	55.8

The mean (SD) values presented at each day in the above table correspond to the mean-per-group of the median in motor activity intensities of the three different periods collected over three consecutive days of the week, corresponding to the day indicated as such in the table. Grey shaded columns are evaluation days of the treatment period

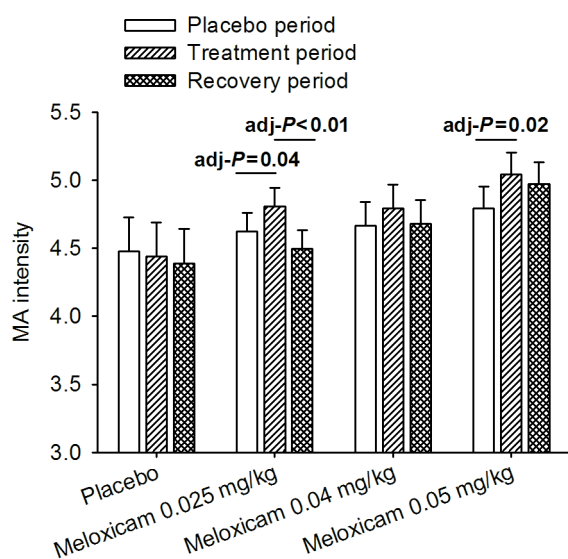
Table 2.3-V Mean and standard deviation (SD) of the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold (g) by treatment group over days.

Treatment (from D0 to D27)	Day																			
	-15		-8		-1		6		13		20		27		48		55		69	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Placebo	116	36	110	33	111	41	110	39	113	43	110	39	110	43	112	31	108	38	97	31
Meloxicam 0.025 mg/kg	124	47	128	47	132	45	129	46	126	45	117	45	116	42	109	44	110	42	104	32
Meloxicam 0.04 mg/kg	113	35	109	47	115	43	119	36	100	53	102	39	113	46	118	38	106	45	112	40
Meloxicam 0.05 mg/kg	126	40	115	44	125	42	121	35	128	38	116	37	124	32	124	37	110	51	120	40

Grey shaded columns are evaluation days of the treatment period.

The MA analyses revealed an overall period effect ($P < 0.01$) and no significant treatment effect ($P = 0.35$). However, there was a significant interaction of treatment with period effect ($P < 0.01$). There was an increase in MA intensity of meloxicam, but not of placebo-treated cats between the placebo and the treatment periods (Figure 2.3-4). The increase in MA intensity was significant for the 0.025 and the 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats (adj- $P = 0.04$, and 0.02, respectively). Only in the group receiving the lowest dose of meloxicam was their activity significantly lower during the recovery compared to the treatment period (adj- $P < 0.01$).

Figure 2.3-4 Least square means and SEM of the log-transformed MA intensity by period and treatment.



The placebo-treated cats presented similar MA intensity across the periods ($P > 0.5$). The 0.025 and 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats presented a significantly higher MA intensity during the treatment compared to the placebo period (Least square means difference \pm SEM = 0.18 ± 0.06 , adjusted p-value [adj- P] = 0.04; and 0.25 ± 0.07 , adj- $P = 0.02$, respectively), but the 0.04 mg/kg meloxicam-treated cats presented a MA intensity that tended to be higher during the treatment compared to the placebo period (Least square means difference \pm SEM = 0.13 ± 0.05 ; adj- $P = 0.08$). Moreover, the 0.025 mg/kg meloxicam-treated cats presented a significantly lower MA intensity during the recovery compared to the treatment period (Least square means difference \pm SEM = 0.19 ± 0.05 ; adj- $P < 0.01$).

Von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold analyses did not indicate a significant period effect, a treatment effect, or an interaction of treatment with period effect ($P > 0.66$). Interestingly, the 0.04 mg/kg meloxicam-treated cats presented with a higher rate of allodynia during the treatment period (Table 2.3-VI). No treatment affected either the paw withdrawal threshold (Table 2.3-V) or the rate of allodynia (Table 2.3-VI).

Table 2.3-VI. Percentage of allodynic cats by treatment group over periods.

Treatment (from D0 to D27)	Period		
	Placebo	Treatment	Recovery
Placebo	27%	27.5%	37%
Meloxicam 0.025 mg/kg	30%	27.5%	30%
Meloxicam 0.04 mg/kg	27%	42.5%	33%
Meloxicam 0.05 mg/kg	18.5%	17%	30%

2.3.6 Discussion

Despite the importance of reliability testing to validate outcome measures, to our knowledge, this study is the first to report on the reliability of kinetic gait analysis, accelerometer-based MA assessment and von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold testing in cats. According to the obtained ICC, the PVF expressed as %BW test-retest reliability after exercise was better than that before exercise but overall was moderately good. The stability of the PVF values over time, after correction for BW, velocity, and the maximum number of trials, indicates that covariates are needed to provide a reliable outcome measure. Investigating and considering such covariates could avoid the difficulty encountered when comparing study results (Guillot et al., 2012; Lascelles et al., 2007a). The cats used the lower end (around 5 PSI) of the working range of the mat (0-125 PSI), requiring a specific calibration to ensure accuracy in the measurement. System error was minimised by optimising the recording of the floor mat-based plantar force measurement system. An equilibration profile adapted for companion animals was used, which compensates for the variation in individual sensel output, and the system was calibrated with a custom-made device of similar weight and contact area to those of the feline subjects. Although the accuracy of the calibration method may be subject to questioning, the repeatability and stability of the data

were good to excellent, and hopefully the future will see the emergence of a standardized approach and a mat adapted for cat sensitivity. The MA intensity and the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold ICC were very good, and these outcomes were stable over time, demonstrating their good reliability in cats.

Significant differences between the OA-status-groups during the placebo period of the after exercise-PVF demonstrate that this outcome, in contrast to the before-exercise PVF, is able to discriminate between the functional state of non-OA and OA cats. This result suggests that the after-exercise PVF objectively quantifies chronic pain-related disability associated with OA in cats, as previously reported in dogs (Moreau et al., 2011; Riolland et al., 2009) and humans (Henriksen et al., 2010). The most affected limb PVF method was employed as a proxy for the whole cat impairment because of the gait interdependency of limbs affected, or not, by OA. Limb pressures of a given cat are biologically and statistically dependent, requiring a specific approach to be analysed. We determined that using the most affected limb PVF method was more sensitive and easier to interpret than the use of a 4 dependent limbs statistical model (*data not shown*). The vast majority (93.1%) of cats in the OA-status-group 1 presented an association of radiographic OA score to the most affected limb PVF. We relate the absence of unanimity to the recognized poor sensitivity of radiographic quantification of structural OA (Lascelles et al., 2012). Our radiographic OA scoring method involves estimation of osteophytes/entesophytes (0-3), subchondral sclerosis (0-3), and effusion (0-1). It was found to have lower sensitivity to detect structural OA than that of magnetic resonance imaging (MRI) in cats (Guillot et al., 2012). For one cat in particular, despite the absence of lesions detected on radiographs, several OA lesions were detected on the MR images (Guillot et al., 2012). Therefore, as PVF is a reflection of the whole condition of the cat, influenced by both biomechanical alteration and pain perception, it seemed logical to include all cats presenting clinical signs of OA. The controlled exercise may have increased the joint pain during use or induced muscular fatigue in impaired limbs, or both. Moreover, the lower PVF values of the OA-status-group 1, compared to the OA-status-group 2, suggests that the cats with OA radiographic signs presented with more disability than those with only some OA clinical signs. Hence, PVF and radiographic evidence of OA should be considered as an

interesting stratification factor of pain-related disability in future studies investigating OA in cats.

The OA-status-group 1 cats presented a lower MA than the cats of the other status groups during the placebo period. But these differences were not significant, which could be related to a lack of power due to the high intra-group variability. This variability may be explained by the behaviour-dependent nature of the MA, which makes inter-group comparison difficult (Lascelles et al., 2010; Milgram, 2011). This highlights the need to use each cat as its own control in MA analyses.

The significantly lower von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold of the OA-status-group 1 compared to the non-OA cats suggests that central sensitisation (induced by continuous and intense nociceptive input from the OA joint) is an underlying mechanism of pain in OA cats, as is already thought in humans (Arendt-Nielsen et al., 2010; Mease et al., 2011; Woolf, 2011). To our knowledge, this is the first report of involvement of allodynia related to OA in cats.

Despite the increase in PVF in the meloxicam-treated cats, our study failed to demonstrate a significant effect of meloxicam against placebo on this parameter. We hypothesised that chronic pain associated with OA induces a decrease in the use of the affected limb, leading to muscle atrophy and limb impairment over time. However, this loss of function related to chronic pain may have been progressively restored with the weekly exercise performed by all cats, masking improvement attributable to the meloxicam treatment. This exercise-related improvement is suggested particularly by the PVF values in the placebo-treated cat group. The increase in PVF was maintained up until the last time-point of the recovery period. The inclusion of OA-status-group 2 animals may have limited our ability to show an improvement in PVF due to meloxicam because these animals were not impaired based on this parameter (Figure 2.3-2). This hypothesis is supported by our complementary analyses excluding the OA-status-group 2 animals. These analyses indicated a significant improvement in PVF in the placebo and 0.025 and 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats, which persisted during the recovery period. Moreover, a greater relative improvement during the treatment period was observed in the meloxicam-treated cats (+10.1, and +14.2% in the 0.025, and 0.05 mg/kg meloxicam-treated cats, respectively) compared to +8.9% in the placebo-

treated cats. All together, this is suggestive that the improvement in limb function, as reflected by the PVF, could be related to the weekly exercise. However, improvements in limb function appeared greater with meloxicam treatment (particularly when focusing on OA-status-group 1 cats). The inability to demonstrate an improvement in PVF in the 0.04 mg/kg meloxicam-treated cats may be explained by the higher rate of allodynia observed in this group (Table 2.3-VI).

The observed improvement in night-time (17 :00 to 6 :58) MA intensity following meloxicam administration suggests that there is pain relief related to meloxicam use in OA cats. We decided to focus on the night-time period based on previous results: Lascelles *et al.* (2010) observed that, in a randomized, controlled, blinded, parallel group, prospective clinical study, the test-diet group significantly increased their activity in the 18 :00 to 24 :00 time period; in our pilot study (Guillot *et al.*, 2012), the MA of normal cats was greater than that of OA cats during night-time. Finally, it appeared logical with regard to the experimental conditions of this study to limit the MA intensity analysis to periods of time without any interference with the cats' activity. The hypothesis was, therefore, that such MA intensity analysis would reflect the treatment effect, being the only between-group element of difference. Whether the observed increase in activity during this limited period would represent a whole day beneficial effect is unclear, and will need further investigation. The improvement in MA is in accordance with the results of a preliminary study using meloxicam in cats with OA-related pain (Lascelles *et al.*, 2007b). In the present study, during the treatment period compared to the placebo period, there was a significant increase in the MA intensity by +3.7% for the 0.025 mg/kg meloxicam-treated group and +5.2% for the 0.05 mg/kg meloxicam-treated group, suggesting a greater effect with the higher dose. Additionally, only the cats receiving the highest dose maintained an increased MA intensity during the recovery period. There was only a +2.9% increase in MA intensity in the 0.04 mg/kg meloxicam-treated group, which was close to being significant. The high rate of allodynic cats observed in this group may have also interfered with the MA improvement related to meloxicam. It may have also contributed to the higher intra-group variability encountered in this group (larger estimated SEM).

The von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal thresholds remained stable over time in all of the treatment groups, which is in accordance with the presumed inefficacy of NSAIDs on allodynia. It may be interesting in the future to detect the presence of allodynia in OA patients as it could influence the response to treatment, and particularly the non response to NSAIDs. In contrast, some drugs that target central sensitisation (*e.g.* ionic channels or NMDA-receptor blockers, and serotonin/adrenaline reuptake inhibitors) have been suggested to be efficacious in relieving OA-associated pain in humans (Mease et al., 2011; Woolf, 2011) and dogs (Malek et al., 2012). Using a multimodal approach, such drugs should be further tested as a complementary treatment with meloxicam in OA-associated chronic pain in cats.

The true status of the OA-status-group 2 remains unclear as it was based on a subjective evaluation. We decided to include the OA-status-group 2 cats because radiographs are not always able to detect OA in cats (Freire et al., 2011; Guillot et al., 2012). Based on the advanced age of these cats (their mean age was similar to the OA-status-group 1 cats, see Table 2.2-I), epidemiological studies suggest a high risk of OA despite the absence of radiographic signs (Bennett et al., 2012a; Freire et al., 2011). The OA-status-group 1 cats presented lower PVF values than those of the OA-status-group 2 cats during the placebo period, suggesting a normal limb function of the latter. However, for both OA-status-groups, there was a positive treatment response in the MA intensity in the meloxicam-treated cats, and no response in the placebo-treated cats as indicated by an exploratory analysis of individual responses (*data not shown*). This information suggests that the OA-status-group 2 cats may represent early onset OA cats. To avoid biases that could be associated with the introduction of the different OA-status-groups, we controlled the randomization for treatment distribution in OA-groups.

2.3.7 Conclusions

In OA cats, PVF, MA intensity and the von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold are reliable chronic pain evaluation tools. Each of them reflects a distinct component of the chronic pain syndrome, and as such they may be considered as complementary in cat OA pain assessment. Daily oral meloxicam administration of 0.025 and

0.05 mg/kg for 4 weeks significantly improved night-time (17 :00 to 6 :58) physical activity in cats afflicted with OA, suggesting that meloxicam provides clinically relevant pain relief. However, meloxicam had no effect on PVF or allodynia components, the latter being generally expected from NSAIDs.

2.3.8 Conflict of interest statement

Dr. Mark Heit is a regular employee of Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., who supervised the study for this sponsor. None of the other authors has any financial or personal relationships that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

2.3.9 Acknowledgements

The results of this study were presented in part at the 16th Annual CanCog Conference on Behaviour, Cognition and Aging in Companion Animals (23 August 2011, Toronto, ON, Canada).

This study was supported in part by an Operating grant from ArthroLab, Inc. (supporting some material development), from Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc. (as sponsor of the study), by a Discovery Grant (Pr. Eric Troncy) from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (#327158-2008, supporting pain assessment) and by a Leader Opportunity Fund Grant (Pr. Eric Troncy) from the Canada Foundation for Innovation (#24601, supporting pain/function equipment). As sponsor of the study, Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., participated in the design of the study, provided the test article and placebo, participated in the data interpretation and in the manuscript drafting and submission. Dr. Martin Guillot is the recipient of an Alexander Graham Bell Canada Graduate Scholarship for doctorate research, and a Doctoral Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research – MENTOR Strategic Training Initiative in Health Research Program.

Authors wish to thank Dr Mary Klinck, DVM, Dipl. ACVB for her help in the cat selection, and all the animal health technicians, namely Mrs Carolle Sylvestre, Pascale St-Onge, Audrey Raymond and Mélissa d’Auteuil, involved in this project.

2.3.10 References

- Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, et al. (2010) Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 149: 573-581.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012a) Osteoarthritis in the cat: 1. How common is it and how easy to recognise? *J Feline Med Surg* 14: 65-75.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012b) Osteoarthritis in the cat: 2. How should it be managed and treated? *J Feline Med Surg* 14: 76-84.
- Clarke SP and Bennett D. (2006) Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *J Small Anim Pract* 47: 439-445.
- Clarke SP, Mellor D, Clements DN, et al. (2005) Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Vet Rec* 157: 793-799.
- D'Anjou MA, Moreau M, Troncy E, et al. (2008) Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography. *Vet Surg* 37: 166-177.
- Faries D and Yalcin I. (2007) Reliability and validity: Assessing the psychometric properties of rating scales. In: Dmitrienko A, Chuang-Stein C and D'Agostino R (eds) *Pharmaceutical statistics using SAS: A practical guide*. Cary, NY, NC, USA: SAS Institute Inc., 361-384.
- Freire M, Robertson I, Bondell HD, et al. (2011) Radiographic evaluation of feline appendicular degenerative joint disease vs. Macroscopic appearance of articular cartilage. *Vet Radiol and Ultrasound* 52: 239-247.
- Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, et al. (2012) Evaluation of Osteoarthritis in Cats: Novel Information from a Pilot Study. *Vet Surg* 41: 328-335.
- Hardie EM, Roe SC and Martin FR. (2002) Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *J Am Vet Med Assoc* 220: 628-632.

- Hendiani JA, Westlund KN, Lawand N, et al. (2003) Mechanical sensation and pain thresholds in patients with chronic arthropathies. *J Pain* 4: 203-211.
- Henriksen M, Graven-Nielsen T, Aaboe J, et al. (2010) Gait changes in patients with knee osteoarthritis are replicated by experimental knee pain. *Arthritis Care & Research* 62: 501-509.
- Imamura M, Imamura ST, Kaziyama HH, et al. (2008) Impact of nervous system hyperalgesia on pain, disability, and quality of life in patients with knee osteoarthritis: a controlled analysis. *Arthritis & Rheumatism* 59: 1424-1431.
- Lascelles BD. (2010) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Dong YH, Marcellin-Little DJ, et al. (2012) Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BMC Vet Res* 8: 10.
- Lascelles BD, Findley K, Correa M, et al. (2007a) Kinetic evaluation of normal walking and jumping in cats, using a pressure-sensitive walkway. *Vet Rec* 160: 512-516.
- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007b) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.
- Lascelles BD and Robertson SA. (2010) DJD-associated pain in cats: what can we do to promote patient comfort? *J Feline Med Surg* 12: 200-212.
- Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, et al. (2006) Analysis of repeated measure data, in SAS for mixed models. In: Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, et al. (eds) *SAS for mixed models, second edition*. Second ed. Cary, NC: SAS institute Inc., 159-204.
- Malek S, Sample SJ, Schwartz Z, et al. (2012) Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. *BMC Vet Res* 8: 185.
- Mease PJ, Hanna S, Frakes EP, et al. (2011) Pain mechanisms in osteoarthritis: understanding the role of central pain and current approaches to its treatment. *J Rheumatol* 38: 1546-1551.

- Milgram B. (2011) Cat cognitive and behavioral aging. In: Milgram B (ed) *CanCog conference on behavior, cognition and aging in companion animals*. Toronto, ON: CanCog technologies.
- Moreau M, Rialland P, Pelletier JP, et al. (2011) Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Research & Therapy* 13: R98.
- Rialland P, Bichot S, Moreau M, et al. (2009) Validation of clinical pain assessment methods with canine osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 17(Suppl. 1): S254-S255.
- Slingerland LI, Hazewinkel HA, Meij BP, et al. (2011) Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Vet J* 187: 304-309.
- Woolf CJ. (2011) Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152: S2-15.
- Zamprogno H, Hansen BD, Bondell HD, et al. (2010) Item generation and design testing of a questionnaire to assess degenerative joint disease-associated pain in cats. *Am J Vet Res* 71: 1417-1424.

2.4 Evoked temporal summation in cats to highlight central sensitization related to osteoarthritis-associated chronic pain:

A preliminary study

Martin Guillot^{14, 15}, Polly M. Taylor¹⁶, Pascale Riolland^{14, 15}, Mary P. Klinck^{14, 15}, Johanne Martel-Pelletier¹⁵, Jean-Pierre Pelletier¹⁵, Eric Troncy^{14, 15}

2.4.1 Abstract

Our objectives were to induce temporal summation (TS) in cats using mechanical stimuli, and to determine the sensitivity to osteoarthritis (OA) pain of several stimulation profiles. Correlations between the response to the repetitive stimuli and other objective chronic pain evaluation methods were also determined.

A blinded longitudinal study was performed in 4 non-OA cats and 10 cats with naturally occurring OA. Quantification of chronic OA pain-related disability was performed over a two week period using peak vertical force kinetic measurement, motor activity intensity assessment and von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold (vFWT) testing. After a 14-day acclimation period, repetitive mechanical stimuli of sub-threshold intensity were applied using a purpose-developed device. Four stimulation profiles of predetermined intensity, duration and time interval were applied randomly four times during a four-day period.

The OA cats demonstrated characteristic findings consistent with OA-associated chronic pain. The stimulation profiles were different ($P<0.001$): the higher the intensity of the stimulus, the sooner (lower number of stimuli [NS]) it produced a consistent painful response. The OA cats responded more rapidly than non-OA cats ($P=0.019$). There was a positive

¹⁴ Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ), Department of Biomedical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine – Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada.

¹⁵ Osteoarthritis Research Unit, Université de Montréal Hospital Centre, Notre-Dame Hospital, Montreal, Quebec, Canada.

¹⁶ Topcat Metrology, Gravel Head Farm, Downham Common, Little Downham, Nr Ely, Cambridgeshire, United Kingdom.

correlation between the vFWT and the response to stimulation profiles #2 and #4 ($R_{hos}=0.64$ and 0.63 respectively; $P=0.01$, and 0.02 , respectively)

This study is the first report of mechanical TS in awake cats. Our results suggest that central sensitization develops in cats with naturally occurring OA, providing a unique opportunity to improve translational research in OA-associated chronic pain.

2.4.2 Keywords

Feline osteoarthritis; Pain assessment; Quantitative sensory testing; Tactile allodynia; Translational research.

2.4.3 Introduction

Feline osteoarthritis (OA) develops with ageing in diarthrodial joints, predominantly the elbow, coxofemoral and stifle joints, and causes chronic pain (Beale, 2005; Bennett et al., 2012; Hardie et al., 2002; Lascelles, 2010). Assessment of chronic pain in animals with OA takes into account the impact of pain on both physical ability and quality of life. Owners of cats with OA observe a number of altered behaviour patterns such as decreased daily activity and a reluctance to jump or to walk up stairs (Bennett and Morton, 2009; Klinck et al., 2012; Slingerland et al., 2011; Zamprogno et al., 2010). Objective functional methods have also been developed to evaluate OA-associated disability in cats. The peak vertical ground reaction force (PVF) quantifies limb impairment that may be related to decreased use because of pain (Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013; Moreau et al., 2013). In addition, accelerometer-based motor activity (MA) assessment enables objective quantification of the impairment of normal function related to OA-associated chronic pain (Guillot et al., 2013; Lascelles et al., 2010; Lascelles et al., 2007).

Central sensitization is expressed as pain hypersensitivity, particularly dynamic tactile allodynia, secondary punctate hyperalgesia, aftersensations, and enhanced temporal summation (TS) (Woolf, 2011) and is present in OA (Mease et al., 2011; Staud, 2011). Quantitative sensory testing (QST) is used to characterize these abnormal sensations (Arendt-Nielsen and Graven-Nielsen, 2011). Until recently, little attention had been paid to detailed assessment of sensory abnormalities in animals. Neurology texts describe the gross assessment

of sensory function (*e.g.*, the response to pinching skin in various dermatomes) and pain management texts refer to the theory of altered sensory processing (peripheral and central sensitization) associated with acute injury or chronic disease (Lascelles, 2013). Most information on QST is based on rodent models and the human literature; in particular regarding the (mechanical) pressure pain threshold in painful OA (Hendiani et al., 2003; Suokas et al., 2012). Several studies in humans suggest that QST to detect mechanical allodynia and hyperalgesia should be an integral part of the assessment of OA-associated chronic pain (Arendt-Nielsen et al., 2010; Brydges et al., 2012; Hendiani et al., 2003; Imamura et al., 2008; Mease et al., 2011; Suokas et al., 2012). Quantitative ST using von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold (vFWT) in dogs (Brydges et al., 2012) and cats (Guillot et al., 2013) with natural OA represents one of the first attempts to evaluate the changes in central processing in companion animals suffering chronic pain.

Low frequency repetition of a fixed-intensity stimulus increases the action potential discharge of dorsal horn neurons followed by after discharges; this activity-dependent facilitation is called spinal windup (Mendell and Wall, 1965). The early phase of windup is denoted as TS, and has been widely used to investigate spinal cord excitability (Herrero et al., 2000; Woolf, 2011). Windup is considered to be an intrinsic part of the early plastic changes in the central nervous system leading to chronicity, hence TS is an ideal target for studying chronic pain (Woolf, 2011).

We hypothesized that mechanical sub-threshold repetitive stimuli QST with a controlled profile would evoke TS, and that cats with OA would show an enhanced response. Our objectives were 1) to develop a QST device in cats for applying repetitive mechanical stimuli that would evoke TS; 2) to determine the sensitivity to OA pain (discriminatory ability) of a number of stimulation profiles, and 3) to examine the correlation between the repetitive stimuli QST responses and assessment using other objective chronic pain evaluation methods (PVF, MA monitoring, and vFWT).

2.4.4 Methods

2.4.4.1 Ethics statement

The Institutional Animal Care and Use Committee approved the study protocol (# Rech-1482), and the Canadian Council on Animal Care guidelines were followed for all cat care and procedures undertaken. Furthermore, this study adhered to the guidelines of the Committee for Research Ethical Issues of the IASP (Zimmermann, 1983), and the ARRIVE guidelines for reporting animal research (Kilkenny et al., 2010).

2.4.4.2 Animals and experimental design

This study used 4 normal healthy, non-OA cats (one neutered female, and three neutered males), and 10 cats with naturally occurring OA (5 neutered females, and 5 neutered males) belonging to the colony of a contract research organization (ArthroLab, Inc., Montreal, QC, Canada) accredited by the Canadian Council on Animal Care. The cats were housed together in a dedicated room (floor area approximately 8x12 m). The room's environment and the cats' health were monitored and recorded daily. The cats were fed a standard certified commercial cat food (Hill's Prescription Diet w/d Feline, Hill's Pet Nutrition, Inc., Mississauga, ON, Canada) once daily in the afternoon according to the food manufacturer's recommendations. Water was supplied *ad libitum*. The cats were loose-housed, with free access to toys, raised platforms, and a large window. Beds in a quiet area were also freely accessible.

No abnormalities were detected upon neurologic evaluation, complete blood count, blood biochemical profile (including T4), and urine analysis; nor were there any limb deformities or signs of acute musculoskeletal disease. All cats were free from both feline immunodeficiency and leukemia viruses. The extent of radiographic OA was graded by a veterinary radiologist as previously described (D'Anjou et al., 2008; Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013; Moreau et al., 2013), using computed radiographs of the stifle, coxofemoral, carpal and tarsal joints (mediolateral and caudocranial projections), and of the shoulders and elbows joints (mediolateral projections). These radiographs were performed under sedation using medetomidine (0.02 mg/kg; Domitor 1 mg/mL, Zoetis Canada, Kirkland,

QC, Canada) and morphine (0.1-0.2 mg/kg; Morphine Sulfate Injection 10 mg/mL, Sandoz, Boucherville, QC, Canada), administered intramuscularly.

On the first day of this longitudinal study, a certified veterinary behaviourist, blinded to the radiographic grade and age of the cats, performed a behavioural examination. This examination aimed to detect changes in gait, posture, and the presence of subjective joint pain. Cats designated “non-OA” had no abnormalities detected during this examination, and selected “OA cats” were considered subjectively to be in pain (refer to Table 2.4-I).

Table 2.4-I Age, body weight, radiographic and clinical features of the selected cats.

Features		Non-OA cats	OA cats
Mean age (range; year)		3.4 (1.5-4.5)	9.3 (7.0-12.0)
Mean body weight (range; kg)		5.1 (3.5-7.1)	4.8 (3.1-6.2)
Median radiographic scores (range)	Forelimbs	0 (0-0)	2 (0-4)
	Hind limbs	0 (0-0)	2 (0-9)
Median radiographic OA-affected joint number (range)	Forelimbs	0 (0-0)	1 (0-2) ^a
	Hind limbs	0 (0-0)	2 (0-4) ^b
Presence of gait alteration		0/4	5/10
Presence of posture alteration	Forelimbs	0/4	1/10
	Hind limbs	0/4	4/10
Presence of subjective pain	Forelimbs	0/4	2/10
	Hind limbs	0/4	10/10

^a Affected joints were shoulder (6/10), elbow (5/10), and carpal (1/10) joints.

^b Affected joints were coxofemoral (9/10), stifle (5/10), and tarsal (5/10) joints.

The cats were acclimated and trained for one week only immediately prior to the study, as they already had six months experience with all the procedures except repetitive stimuli QST. Chronic OA pain-related disability was quantified over a two-week period using functional methods that consisted of PVF measurement and MA intensity assessment. During the same period, objective chronic pain evaluation was undertaken using mechanical QST with vFWT testing to assess secondary punctate tactile allodynia (Guillot et al., 2013). Finally, several repeated mechanical stimuli QST protocols were tested after a further 14-day acclimation period. This comprised positive reinforcement for progressive habituation to the evaluation environment: being in the evaluation cage, wearing the stimulation device, and being stimulated by the device.

2.4.4.3 Measurement of PVF

The cats' PVF were recorded twice, a week apart. Measurements were performed within 60 sec of approximately 3 minutes of stair exercise. This consisted of running up and down, and again up a 10 m long staircase; this acquisition protocol decreases data variability and optimizes effect sizes (Moreau et al., 2013). Post-exercise PVF were acquired using a floor mat-based plantar force measurement system (Walkway System WE4, Tekscan Inc., Boston, MA) while the cats trotted across the walkway at a comfortable speed (0.8-1.4 m/sec). Speed was computed by the software, using length and duration of a given stride. Equilibration and calibration of the system were performed prior to each acquisition session, as previously described (Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013; Moreau et al., 2013). A maximum of 3 valid trials (with the cat moving across the entire mattress undisturbed, consistently, in a straight line, and at the correct speed) were obtained for each cat, with an *a priori* maximum of 16 consecutive trials allowed. The number of trials needed to obtain the 3 valid trials was recorded (Guillot et al., 2013).

The analysis focused on the hind limbs, as the subjective pain evaluation indicated that these were the only painful limbs. The PVF data management used the most affected hind limb, determined as the hind limb that generated the lower PVF value [expressed in % body weight (BW)] most frequently (maximum of $2 \times 3 = 6$ trials) (Moreau et al., 2013). If an equal number of lower values was detected for each hind limb, the hind limb with the lower average PVF was chosen.

2.4.4.4 Motor activity assessment

The MA intensity was assessed using a collar-mounted accelerometer-based activity sensor (ActiWatch, Minimitter/Respironics, distributed by Bio-Lynx Scientific Equipment Inc., Montreal, QC, Canada) maintained in place for two weeks. The device was set for local time and configured to create 1 count per 2 minutes. The amplitude of each count was subsequently translated into a numeric value (from 0 to infinite) describing the MA intensity. In common with previous studies (Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013), and to avoid the effects of human interference, analysis of the cats' activity was restricted to 3 days per week (Friday, Saturday and Sunday), between 5:00 pm and 7:00 am. Data were expressed as the

average total intensity count. The final MA intensity was calculated for each cat by taking the median of the three days recorded.

2.4.4.5 Secondary punctate tactile allodynia quantification

Secondary punctate allodynia was quantified twice, at a week's interval, using a mechanical von Frey polypropylene probe (Rigid Tip, surface area 0.7 mm², IITC Life Science, Woodland Hills, CA) fitted onto the hand-held force transducer of a paw withdrawal threshold monitoring anesthesiometer. With the cat standing in a meshed cage (Model 55035, Hunter Brand, Inc., Montreal, QC, Canada; dimensions 33" x 22" x 37"), the probe tip was placed perpendicular to the plantar surface of the foot (Figure 2.4-1), and an increasing force was applied without manipulating the limb. The four limbs were tested in a predefined order with a 60-s interval between stimuli. The same evaluator performed all evaluations, and was blinded to the cat's OA status. The stimulus was stopped as soon as the paw was withdrawn, and the peak force recorded. Duplicate measurements were obtained from each paw. Data under 2 g were discarded, and a maximum cut off value of 200 g was applied. For both evaluations (one week apart), the vFWT was expressed as the average of the available threshold values (maximum of 2x4 = 8 values).

Figure 2.4-1 Photograph of the placement of the von Frey probe.



During evaluation, the cats stood in a meshed cage, the probe tip was placed perpendicular to the plantar surface of the foot, and an increasing force was applied without manipulating the limb.

2.4.4.6 Mechanical repetitive stimuli quantitative sensory testing

Repeated mechanical stimuli of sub-threshold intensity (that is, for which a single stimulus would not elicit pain behaviour) were applied using a purpose-made device (Topcat Metrology Ltd; Cambs, UK). Available protocols of TS in humans and animals were used to devise the stimulation set profiles used in this study (Lomas and Picker, 2005; Price et al., 1977; Vierck et al., 1997; Yeomans et al., 1995), and the profiles were refined during a pilot study in three cats (2 with OA; data not shown). The device supplied repeated mechanical stimuli at a predetermined intensity, duration and time interval. The mechanical stimulus was produced by hemispherical-ended metallic pin (2.5 mm diameter, 10 mm length) mounted on a rolling diaphragm actuator, adapted from a validated mechanical threshold testing system (Dixon et al., 2010). The actuator was mounted on the anterolateral aspect of the right or left mid metacarpus, held by a narrow band around the leg; a dummy was installed on the contralateral leg. During testing, the cats were free to move about in the same meshed cage (Figure 2.4-2).

Figure 2.4-2 Photograph of the mechanical repetitive stimuli quantitative sensory testing experimental setting.



Cats were placed in a meshed cage. The mechanical stimulator, which was embedded in a small band, was placed around the distal aspect of the cat's foreleg (left in this photograph) and connected to the stimulator device, while a dummy band was installed on the contralateral leg (right in this photograph).

Each cat underwent four separate testing sessions (two sessions on the right leg, and two on the left), each separated by one day. Two of these sessions were conducted in the morning, and two during the afternoon. Before each testing session, the evaluator spent 5 minutes watching the normal behaviour of the cat once it had been placed in the cage, wearing the stimulator device. During each testing session one series of each of four sets of stimulation profiles was completed in a randomized order, with a 5-minute interval between each set of stimuli. Each stimulation set comprised up to 30 stimuli with one the four profiles of intensity and/or frequency; the power of the stimulation set increased from profile #1 to 4 (Table 2.4-II). The evaluator was blinded to the cat's OA status and the stimulation profile. During each set of stimuli, testing was either stopped by the evaluator as soon as clear pain behaviour was seen (*e.g.* vocalization, agitation, biting at the limb band, vigorously shaking the leg or jumping away from it) or stimulation was stopped automatically when the maximum number of stimuli (30) was reached. The number of stimuli (NS) reached was noted for each test. The response to each stimulation profile was defined as the NS for each cat by taking the median of the four NS recorded for each stimulation profile.

Table 2.4-II Characterization of the mechanical stimuli provided by each stimulation profile.

Stimulation profile	Intensity (N)	Duration (s)	Frequency (Hz)	Interval (s)	Maximal number
#1	2	1.5	0.4	2.5	30
#2	4	1.5	0.4	2.5	30
#3	6	1.5	0.125	8	30
#4	6	1.5	0.4	2.5	30

2.4.4.7 Statistical methods

All analyses were two-sided with an α threshold of 0.05 using a statistical software program (SAS system, version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Continuous data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test (normal distribution) and kernel density estimation. The NS data sets comprised count data that were assumed to be Poisson distributed by nature.

Mixed model analyses for repeated measures were conducted to compare the PVF and vFWT between non-OA and OA cats (Brown and Prescott, 2006b; Littell et al., 2006). Generalized linear mixed model analyses for repeated measures were conducted using conditional models to compare the MA intensity (Weibull distributed data) between non-OA and OA cats, and to compare the responses of the mechanical repeated NS (Poisson distributed data) between stimulation profiles and between non-OA and OA cats (Brown and Prescott, 2006a; Stroup, 2013). Whole model details are shown in Table 2.4-III. These models provided fixed effect estimates by restricted likelihood modelling. Homogeneity of variance was assessed using the absolute values of the residuals of the mixed model, and the best structure of the covariance model was assessed using a graphical method (plots of covariance *versus* lag in time between pairs of observations compared to different covariance models in mixed models), as well as using information criteria that measure the relative fit of competing covariance models (mixed models, and generalized linear mixed models). Also, residuals of the models were thoroughly studied to assess the model's validity. A Bonferroni adjustment provided adjusted p-values (*adj-P*), and adjusted 95% confidence interval (95% CI) for multiple comparisons when appropriate.

Table 2.4-III Details of the mixed model analyses.

Data	Data distribution	Data transformation *	Fixed effects	Random effects	Covariance structures	Tested covariates
PVF	Normal	Log-transformed	Cat group, evaluation day, and cat group x evaluation day	Cat	Compound symmetry	Age, BW, Velocity and Maximum number of trials
MA	Weibull	None	Cat group, stimulation profile, cat group x stimulation profile	Cat, and evaluation day	Compound symmetry	
vFWT	Normal	Log-transformed	Cat group, stimulation profile, cat group x stimulation profile	Cat	Type 1 autoregressive	Age, and BW
NS	Poisson	None	Cat group, stimulation profile, cat group x stimulation profile	Stimulation profile, and cat x stimulation profile	Compound symmetry	

* Outcome transformations were recommended following residual analysis results to correct for data heteroscedasticity; PVF: ; MA: motor activity; vFWT: von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold; NS: number of stimuli, BW: body weight.

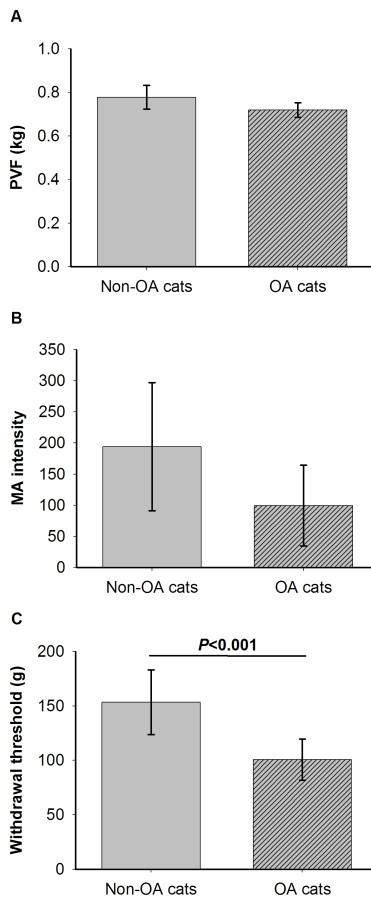
Exploratory correlations between PVF expressed as %BW, MA intensity, vFWT (the mean value of the two evaluations were used in this analysis for the three above outcomes),

and the NS from the four stimulation profiles were carried out using Spearman's rank correlations.

2.4.5 Results

PVF after exercise in the most affected hindlimb tended to be lower in the OA cats compared with the non-OA cats (Figure 2.4-3A; cat group effect $P=0.070$): least squares means estimate difference (LSD; 95% CI) = -0.059 kg (-0.124, 0.005). PVF analyses also identified some significant covariates: BW ($P<0.0001$) and the inverse of the maximum number of trials ($P<0.001$). However, the evaluation day effect was not significant ($P=0.79$), nor was there a significant interaction between cat group and evaluation day ($P=0.41$).

Figure 2.4-3 Characterization of osteoarthritis (OA) using chronic pain evaluation methods:



A- Least squares means and 95% confidence interval of the log-transformed most affected limb peak vertical ground reaction force (PVF) after-exercise by OA status.

B- Least squares means and 95% confidence interval of the motor activity (MA) intensity by OA status.

C- Least squares means and 95% confidence interval of the log-transformed von Frey anesthesiometer-induced paw withdrawal threshold by OA status.

MA intensity was not significantly lower in OA cats than in non-OA cats (Figure 2.4-3B; cat group effect $P=0.12$): LSD (95% CI) = -95 (-216, 27). The analyses neither showed a significant evaluation day effect ($P=0.72$) nor an interaction of cat group with evaluation day ($P=0.78$).

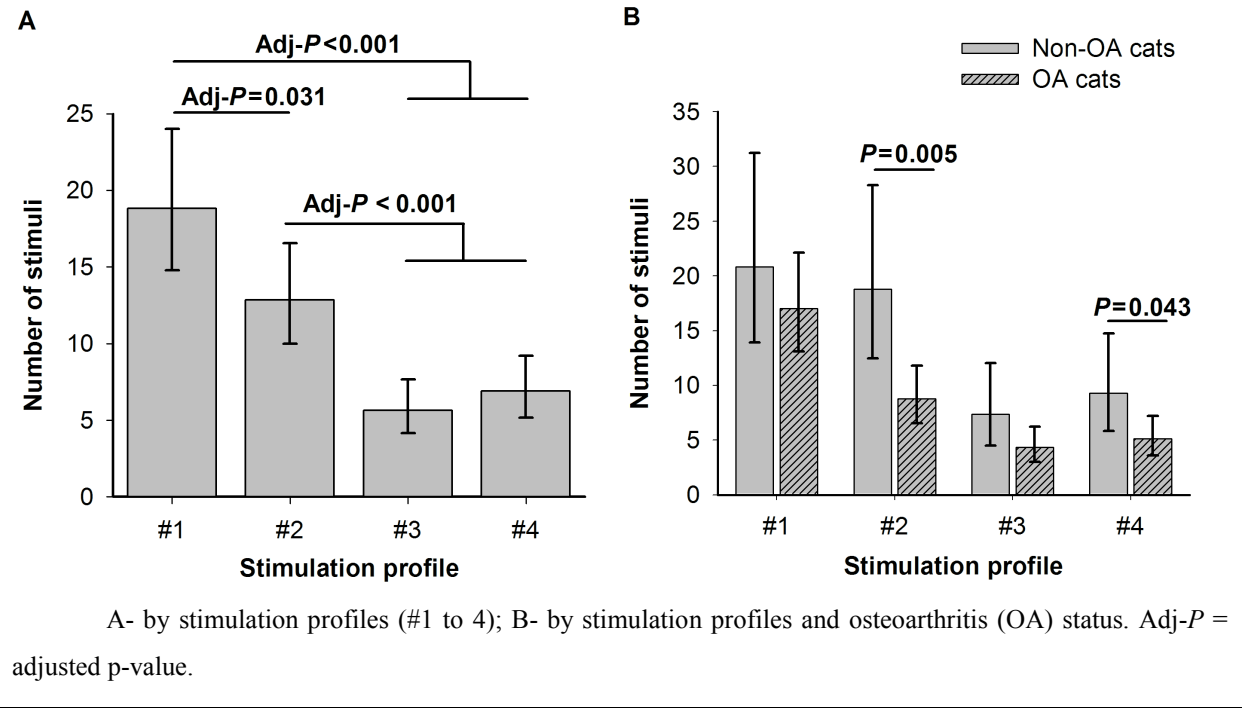
vFWT was significantly lower in OA cats than in non-OA cats (Figure 2.4-3C; cat group effect $P=0.007$): LSD (95% CI) = -53 g (-88, -18). There was no significant evaluation day effect ($P=0.76$) nor any interaction between cat group and evaluation day ($P=0.79$).

Sustained pain behaviours persisting for several seconds after the end of the stimulation set were observed with all stimulation profiles. Analysis of the mechanical repetitive stimuli QST data identified significant differences between the profiles (stimulation set effect $P<0.001$): the higher the intensity of the stimulus, the sooner (lower NS) it produced a consistent painful response (Figure 2.4-4A). Planned comparisons showed that stimulation profiles #4 and #3 enhanced the response (lower NS) compared with both profile #2 (LSD [adjusted 95% CI] = -0.62 [-1.03, -0.21], and LSD [adjusted 95% CI] = -0.82 [-1.25, -0.39] respectively; adj- $P<0.001$ for both) and #1 (LSD [adjusted 95% CI] = -1.00 [-1.40, -0.61], and LSD [adjusted 95% CI] = -1.20 [-1.62, -0.79] respectively; adj- $P<0.001$ for both). In addition, profile #2 led to a lower NS than profile #1 (LSD [adjusted 95% CI] = -0.38 [-0.73, -0.03]; adj- $P=0.031$).

The response in OA cats was enhanced (lower NS) compared to the non-OA cats (cat group effect $P=0.019$): LSD [95% CI] = -0.52 [-0.94, -0.10]. In addition, interaction of the stimulation set with the cat group was not significant ($P=0.18$). This indicated a similar effect across stimulation profiles for each group (equality of the slopes). However, when it (profile of stimulation x group of cat) was tested for the presence of slopes not equal to zero (same model but without the profile effect term), the interaction was significant ($P<0.001$) permitting the following interpretation of planned OA *versus* non-OA cat comparisons for the different stimulation profiles (Figure 2.4-4B; each stimulation profile was considered independent, implying that no adjustment for multiple comparisons was needed): the response to stimulation profiles #1 and #3 was similar in both OA and non OA cats (LSD [95% CI] = -0.20 [-0.69, 0.28], and LSD [95% CI] = -0.53 [-1.14, 0.08] respectively; $P=0.39$, and 0.089 respectively), but NS was lower in OA cats than non-OA cats with stimulation profiles #2 and

#4 (LSD [95% CI] = -0.76 [-1.26, -0.25], and LSD [95% CI] = -0.60 [-1.17, -0.02] respectively; $P=0.005$, and 0.043 respectively).

Figure 2.4-4 Number of stimuli reached and 95% confidence interval (inverse link of the least squares means estimates and 95% confidence interval obtained using the Poisson generalized linear modelling) following repetitive mechanical stimuli



There was no significant association between chronic pain measurements and age in any of the above models (PVF, MA intensity, vFWT or stimulation NS) ($P>0.15$). There was a highly significant positive correlation between the vFWT and NS profiles #2 and #4 ($Rho_s=0.64$, and 0.63 , respectively; $P=0.01$, and 0.02 , respectively), but not between PVF or MA intensity and any of the profile responses (all $P>0.10$).

Discussion

The objective methods PVF, MA intensity and vFWT used in this study to evaluate OA-associated chronic pain enabled non-OA, non painful cats, and painful OA cats to be distinguished. These three evaluation methods were used in a previous study using a larger sample, where both PVF and vFWT discriminated between OA and non-OA cats (Guillot et al., 2013). Although MA intensity was not sensitive to the presence of OA (Guillot et al.,

2013), it was still included in the present study as an objective measure of the effect of OA pain on physical activity and function; MA was significantly affected by both administration of the analgesic non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) meloxicam (Guillot et al., 2013; Lascelles et al., 2007) and also by feeding an analgesic therapeutic diet (Lascelles et al., 2010). The sample of OA cats used in our study therefore truly characterized cats with OA-related chronic pain. Although the study was slightly underpowered with regards to PVF evaluation, testing the discriminatory ability of PVF in OA cats was not a primary objective.

In the previous study, a four-week NSAID treatment did not eliminate the difference in vFWT between the OA and non-OA cats (OA cats were lower) (Guillot et al., 2013). Approximately 25% of the OA cats (n=39) were classified as allodynic based on a repeated duplicate vFWT measurement recorded below a cut-off of 40 g for the front paws and 50 g for the hind paws (first quartile values of the sample of OA cats under placebo) (Guillot et al., 2013). Most of the OA cats responded favourably to meloxicam, but in those classified as allodynic the response was poor or negligible (Guillot et al., 2013). This is not surprising in view of the recognized low efficacy of NSAIDs against centralized neuropathic pain (Mease et al., 2011; Woolf, 2011) and supports the supposition that central sensitization occurs in feline OA-associated chronic pain, similar to humans (Arendt-Nielsen et al., 2010; Imamura et al., 2008; Mease et al., 2011; Suokas et al., 2012). While the vFWT was also reliable in OA cats (Guillot et al., 2013), this is primarily only a reflexive evaluation of hypersensitivity (Boyce-Rustay et al., 2010; Navratilova et al., 2013). In contrast, evaluation of TS provides the opportunity to evaluate central sensitization with conscious perception since it is based on pain behaviour, implying cortical integration.

We were able to evoke TS in conscious cats, which has not been previously reported in this species. Repetition of sub-threshold mechanical stimuli summated and facilitated pain as detected through observation of pain behaviour, and also detected different responses between OA and non-OA cats. Temporal summation involves conduction of impulses *via* A δ and C-fibers in wide dynamic range neurons of the dorsal horn, and primarily results from progressive and prolonged dorsal horn C-fibre neuron discharge (windup) (Herrero et al., 2000; Price et al., 1977). Wind-up and central sensitization are not identical phenomena, but depend on similar pathways, where wind-up initiates and maintains central sensitization

(Herrero et al., 2000; Woolf, 2011). Evoked TS of pain was enhanced (faster) in OA compared to non-OA cats, thereby suggesting that central sensitization plays a role in feline OA-associated chronic pain.

Increasing the stimulus intensity enhanced the cats' response. This is consistent with the supposed mechanism of induced TS, and is in accordance with previous studies (Lomas and Picker, 2005; Vierck et al., 1997). With repeated brief stimuli, the transient first pain response tends to decrease, while second pain increases in intensity and duration, corresponding to prolonged C-fibre discharge (Price et al., 1977). The intensity-dependent response observed in this group of cats suggests that higher intensity stimulation enhanced C-fiber recruitment. The observation of sustained pain behaviours after the end of the stimulation set supports the likelihood that C-fibers were activated. These behaviours persisted for several seconds, consistent with the 15s aftersensations induced by TS in normal humans (Staud et al., 2001) and a return to baseline after 30 s in rats (Lomas and Picker, 2005). In human patients afflicted with fibromyalgia, aftersensations lasted for up to 120 s after TS of pain was established (Staud et al., 2001). This led to the choice of the 5-min delay we imposed between two stimulation sets, preventing persistence of pain into the start of a new stimulation set. Randomization also protected against a potential carry over effect.

Augmentation of stimulation frequency between stimulation profiles #3 and #4 did not affect the time to appearance of pain behaviour, as might be expected (Lomas and Picker, 2005; Vierck et al., 1997). A possible explanation is that the 6N intensity was already close to a single-stimulus pain threshold, so the cats very rapidly experienced pain.

Temporal summation was enhanced in OA cats, particularly with stimulation profiles #2 and #4. This suggests that OA cats with chronic pain have developed central sensitization and the associated pain facilitation. It is noteworthy that the response to both these stimulation profiles correlated positively with the vFWT, supporting the suggestion that profiles #2 and #4 are the best for characterizing central sensitization. The lack of correlation between NS after any stimulation profiles and the other objective evaluation methods of OA-associated disability (PVF and MA intensity) suggests that they can be regarded as complementary assessment methods. This was expected, because TS is specific to central sensitization, which is not correlated with the severity of structural or functional impairment related to chronic

pain. The effect of NSAID treatment on MA intensity (Guillot et al., 2013; Lascelles et al., 2007) leads to a similar conclusion, suggesting that MA intensity may be more closely related to the inflammatory component of feline OA pain.

We acknowledge that the cat groups were small and the reported enhancement of mechanical TS in OA cats requires confirmation in a larger study. However, this is the first report of mechanical TS in conscious cats, which was challenging from both a technical and subject acclimation standpoint. Moreover, the use of naturally occurring OA improves the translational potential of these results. This study highlights similarities between cat and human OA-associated chronic pain, which may share similar nociceptive mechanisms. Temporal summation appears to be *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-dependent in both animals (Dickenson and Sullivan, 1987) and humans (Price et al., 1994). Temporal summation QST is a well-recognized mechanism-based evaluation technique for musculoskeletal pain in humans (Arendt-Nielsen et al., 2010; Imamura et al., 2008; Suokas et al., 2012; Woolf, 2011). Hence, evoked TS has considerable potential for effective translational research (Arendt-Nielsen et al., 2011). A further advantage of investigation into central sensitization is that this phenomenon is potentially reversible. The inefficiency of numerous treatments of human OA-induced chronic pain highlights the need for development of drugs targeting central sensitization (*e.g.*, ionic channel or NMDA-receptor blockers, serotonin/noradrenaline reuptake inhibitors) (Arendt-Nielsen and Graven-Nielsen, 2011; Mease et al., 2011; Staud, 2011; Woolf, 2011). The positive results obtained recently in humans using duloxetine, a dual-reuptake inhibitor of serotonin and noradrenaline encourage this approach (Frakes et al., 2011).

In conclusion, our results suggest that central sensitization is a feature of feline OA-associated chronic pain. Use of evoked TS in cats with naturally occurring OA provides a unique opportunity to improve translational research in OA-associated chronic pain, and supports the concept of using naturally occurring disease in animals as an ethical and highly relevant alternative to the use of induced models of pain (Dolgin, 2010).

2.4.6 Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the wonderful technical support provided by the personnel of both ArthroLab, Inc. and the GREPAQ, namely Mrs Carolle Sylvestre, Pascale St-Onge, Audrey Raymond, Dafné LeCorre-Laliberté, Dominique Gauvin, and Mélissa d’Auteuil.

This study was supported in part by a Pilot Study grant from the Quebec Bio-Imaging Network (#5886) of the Fonds de recherche du Québec – Santé (Pr. Eric Troncy), by a Discovery grant (#327158-2008, #441651-2013, supporting salaries) and a Collaborative Research and Development grant (#RDCPJ 418399 – 11, supporting operations and salaries) in partnership with ArthroLab, Inc. from the Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada (Pr. Eric Troncy), as well as an ongoing New Opportunities Fund grant (#9483) and a Leader Opportunity Fund grant (#24601), supporting pain/function equipment from the Canada Foundation for Innovation (Pr. Eric Troncy). The funding sources were not involved in the study design, collection, analysis and interpretation of data; writing of the manuscript, nor in the decision to submit the manuscript for publication. Dr. Martin Guillot is the recipient of an Alexander Graham Bell NSERC Graduate Scholarship for doctorate research, and a Doctoral Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research – MENTOR Strategic Training Initiative in Health Research Program. . Dr. Pascale Riailand received a doctoral Industrial Innovation Scholarship from the NSERC of Canada (#406726), the Fonds de recherche du Québec – Nature et Technologies (#144812) and ArthroLab, Inc. Dr. Mary Klinck is the recipient of a Zoetis – Morris Animal Foundation (#D10-901) doctoral scholarship.

2.4.7 Competing interests

Polly M. Taylor is a director of Topcat Metrology, Ltd. The other authors declare no competing interests.

2.4.8 References

Arendt-Nielsen L and Graven-Nielsen T. (2011) Translational musculoskeletal pain research. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 25: 209-226.

- Arendt-Nielsen L, Mansikka H, Staahl C, et al. (2011) A translational study of the effects of ketamine and pregabalin on temporal summation of experimental pain. *Reg Anesth Pain Med* 36: 585-591.
- Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, et al. (2010) Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 149: 573-581.
- Beale BS. (2005) Orthopedic problems in geriatric dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 655-674.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012) Osteoarthritis in the cat: 1. How common is it and how easy to recognise? *J Feline Med Surg* 14: 65-75.
- Boyce-Rustay JM, Zhong C, Kohnken R, et al. (2010) Comparison of mechanical allodynia and the affective component of inflammatory pain in rats. *Neuropharmacology* 58: 537-543.
- Brown H and Prescott R. (2006a) Generalised linear mixed models. In: Brown H and Prescott R (eds) *Applied mixed models in medicine*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 107-152.
- Brown H and Prescott R. (2006b) Repeated Measures Data. In: Brown H and Prescott R (eds) *Applied mixed models in medicine*. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 215-270.
- Brydges NM, Argyle DJ, Mosley JR, et al. (2012) Clinical assessments of increased sensory sensitivity in dogs with cranial cruciate ligament rupture. *Vet J* 193: 545-550.
- D'Anjou MA, Moreau M, Troncy E, et al. (2008) Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography. *Vet Surg* 37: 166-177.
- Dickenson AH and Sullivan AF. (1987) Evidence for a role of the NMDA receptor in the frequency dependent potentiation of deep rat dorsal horn nociceptive neurones following C fibre stimulation. *Neuropharmacology* 26: 1235-1238.

- Dixon MJ, Taylor PM, Slingsby L, et al. (2010) A small, silent, low friction, linear actuator for mechanical nociceptive testing in veterinary research. *Lab Anim* 44: 247-253.
- Dolgin E. (2010) Animalgesic effects. *Nat Med* 16: 1237-1240.
- Frakes EP, Risser RC, Ball TD, et al. (2011) Duloxetine added to oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for treatment of knee pain due to osteoarthritis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Curr Med Res Opin* 27: 2361-2372.
- Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, et al. (2012) Evaluation of Osteoarthritis in Cats: Novel Information from a Pilot Study. *Vet Surg* 41: 328-335.
- Guillot M, Moreau M, Heit M, et al. (2013) Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Vet J* 196: 360-367.
- Hardie EM, Roe SC and Martin FR. (2002) Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases (1994-1997). *J Am Vet Med Assoc* 220: 628-632.
- Hendiani JA, Westlund KN, Lawand N, et al. (2003) Mechanical sensation and pain thresholds in patients with chronic arthropathies. *J Pain* 4: 203-211.
- Herrero JF, Laird JM and Lopez-Garcia JA. (2000) Wind-up of spinal cord neurones and pain sensation: much ado about something? *Prog Neurobiol* 61: 169-203.
- Imamura M, Imamura ST, Kaziyama HH, et al. (2008) Impact of nervous system hyperalgesia on pain, disability, and quality of life in patients with knee osteoarthritis: a controlled analysis. *Arthritis Rheum* 59: 1424-1431.
- Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, et al. (2010) Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 8: e1000412.
- Klinck MP, Frank D, Guillot M, et al. (2012) Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Can Vet J* 53: 1181-1186.
- Lascelles BD. (2010) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD. (2013) Getting a sense of sensations. *Vet J* 197: 115-117.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.

- Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, et al. (2006) Analysis of repeated measure data, in SAS for mixed models. In: Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, et al. (eds) *SAS for mixed models, second edition*. Second ed. Cary, NC: SAS institute Inc., 159-204.
- Lomas LM and Picker MJ. (2005) Behavioral assessment of temporal summation in the rat: sensitivity to sex, opioids and modulation by NMDA receptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 180: 84-94.
- Mease PJ, Hanna S, Frakes EP, et al. (2011) Pain mechanisms in osteoarthritis: understanding the role of central pain and current approaches to its treatment. *J Rheumatol* 38: 1546-1551.
- Mendell LM and Wall PD. (1965) Responses of Single Dorsal Cord Cells to Peripheral Cutaneous Unmyelinated Fibres. *Nature* 206: 97-99.
- Moreau M, Guillot M, Pelletier JP, et al. (2013) Kinetic peak vertical force measurement in cats afflicted by coxarthrosis: data management and acquisition protocols. *Res Vet Sci* 95: 219-224.
- Navratilova E, Xie JY, King T, et al. (2013) Evaluation of reward from pain relief. *Ann N Y Acad Sci* 1282: 1-11.
- Price DD, Hu JW, Dubner R, et al. (1977) Peripheral suppression of first pain and central summation of second pain evoked by noxious heat pulses. *Pain* 3: 57-68.
- Price DD, Mao J, Frenk H, et al. (1994) The N-methyl-D-aspartate receptor antagonist dextromethorphan selectively reduces temporal summation of second pain in man. *Pain* 59: 165-174.
- Slingerland LI, Hazewinkel HA, Meij BP, et al. (2011) Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Vet J* 187: 304-309.
- Staud R. (2011) Evidence for shared pain mechanisms in osteoarthritis, low back pain, and fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep* 13: 513-520.
- Staud R, Vierck CJ, Cannon RL, et al. (2001) Abnormal sensitization and temporal summation of second pain (wind-up) in patients with fibromyalgia syndrome. *Pain* 91: 165-175.
- Stroup WW. (2013) Correlated errors, Part I: Repeated Measures. In: Stroup WW (ed) *Generalized linear mixed models: Modern concepts, methods and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group, 413-442.

- Suokas AK, Walsh DA, McWilliams DF, et al. (2012) Quantitative sensory testing in painful osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 20: 1075-1085.
- Vierck CJ, Jr., Cannon RL, Fry G, et al. (1997) Characteristics of temporal summation of second pain sensations elicited by brief contact of glabrous skin by a preheated thermode. *J Neurophysiol* 78: 992-1002.
- Woolf CJ. (2011) Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152: S2-15.
- Yeomans DC, Cooper BY and Vierck CJ, Jr. (1995) Comparisons of dose-dependent effects of systemic morphine on flexion reflex components and operant avoidance responses of awake non-human primates. *Brain Res* 670: 297-302.
- Zamprogn H, Hansen BD, Bondell HD, et al. (2010) Item generation and design testing of a questionnaire to assess degenerative joint disease-associated pain in cats. *Am J Vet Res* 71: 1417-1424.
- Zimmermann M. (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16: 109-110.

2.5 [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography of the cat brain: A feasibility study to investigate osteoarthritis-associated pain

Martin Guillot^{17, 18}, Gabriel Chartrand¹⁹, Ramnada Chav¹⁹, Jacques A. Rousseau^{20, 21}, Jean-François Beaudoin²⁰, Johanne Martel-Pelletier¹⁸, Jean-Pierre Pelletier¹⁸, Roger Lecomte^{20, 21}, Jacques A. de Guise¹⁹, Eric Troncy^{17, 18}

2.5.1 Abstract

The objective of this pilot study was to investigate the feasibility of [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose (¹⁸FDG) positron emission tomography (PET) imaging of the cat brain using a small animal PET scanner to assess central changes related to osteoarthritis (OA)-associated chronic pain in cats. The brains of 5 normal, healthy (non-OA) cats and 7 cats with pain associated with naturally occurring OA were imaged using ¹⁸FDG-PET during a standardized mild anaesthesia. The PET images were coregistered over a magnetic resonance image of a cat brain segmented into several regions of interest. Brain metabolism was assessed in these regions using standardized uptake values. The brain metabolism in the secondary somatosensory cortex, thalamus and periaqueductal grey matter was increased significantly ($P \leq 0.005$) in OA cats compared to non-OA cats.

2.5.2 Keywords

Brain imaging; Positron emission tomography; Central sensitization; Chronic pain; Feline osteoarthritis.

¹⁷ Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec (GREPAQ), Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, QC, Canada.

¹⁸ Osteoarthritis Research Unit, University of Montreal Hospital Research Centre (CRCHUM), Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada.

¹⁹ Laboratoire de recherche en imagerie et orthopédie (LIO), University of Montreal Hospital Research Centre (CRCHUM); École de Technologie Supérieure, Université du Québec, Montreal, QC, Canada.

²⁰ Centre d'imagerie moléculaire de Sherbrooke (CIMS), Étienne-Le Bel Clinical Research Center of the Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada.

²¹ Department of Nuclear Medicine and Radiobiology, Faculty of Medicine and Health Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada.

2.5.3 Introduction

In cats, osteoarthritis (OA) causes significant chronic pain expressed as gait abnormalities, decreased activity, and various behavioural changes (Bennett et al., 2012). Chronicity of pain is associated with changes in the central nervous system (plasticity) manifesting as modifications in molecular pathways, cellular function and network activity (Kuner, 2010). Our group previously demonstrated that when compared to non-OA cats, cats with OA pain presented a punctate tactile hypersensitivity, recognized to reflect central sensitization (Guillot et al., 2013). Other central changes can occur with chronic pain such as alterations in central nervous system activity and in cognition and affect (Kuner, 2010). These changes can potentially be assessed using brain imaging. [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose (¹⁸FDG) positron emission tomography (PET) imaging is the modality of choice to investigate modifications in brain metabolism related to chronic pain (Clarke and Lawrence, 2013). High resolution small animal PET scanners can provide precise functional brain images in animals such as cats. The objective of this study was to investigate the feasibility of ¹⁸FDG-PET applied to the cat brain, using a 1.2-mm resolution PET scanner for assessing potential central changes related to feline OA-associated chronic pain.

2.5.4 Material and methods

The Institutional Animal Care and Use Committee approved the study protocol (# Rech-1482), and the Canadian Council on Animal Care guidelines were followed with respect to the care and handling of the cats. This study included 5 normal, healthy (non-OA) cats (mean age 4.7 years, range 2-9 years), and 7 cats with pain associated with naturally occurring OA (mean age 8.3 years, range 6-10 years), from a research facility (ArthroLab Inc.) cat colony. The housing and selection of cats was previously described (Guillot et al., 2013). Briefly, the cats presented a normal neurologic evaluation, complete blood count, blood biochemical profile, and urine analysis. Radiographic OA was diagnosed using a thorough radiographic appraisal. All OA cats presented subjective pain detected during the orthopaedic examination by a blinded observer (Guillot et al., 2013).

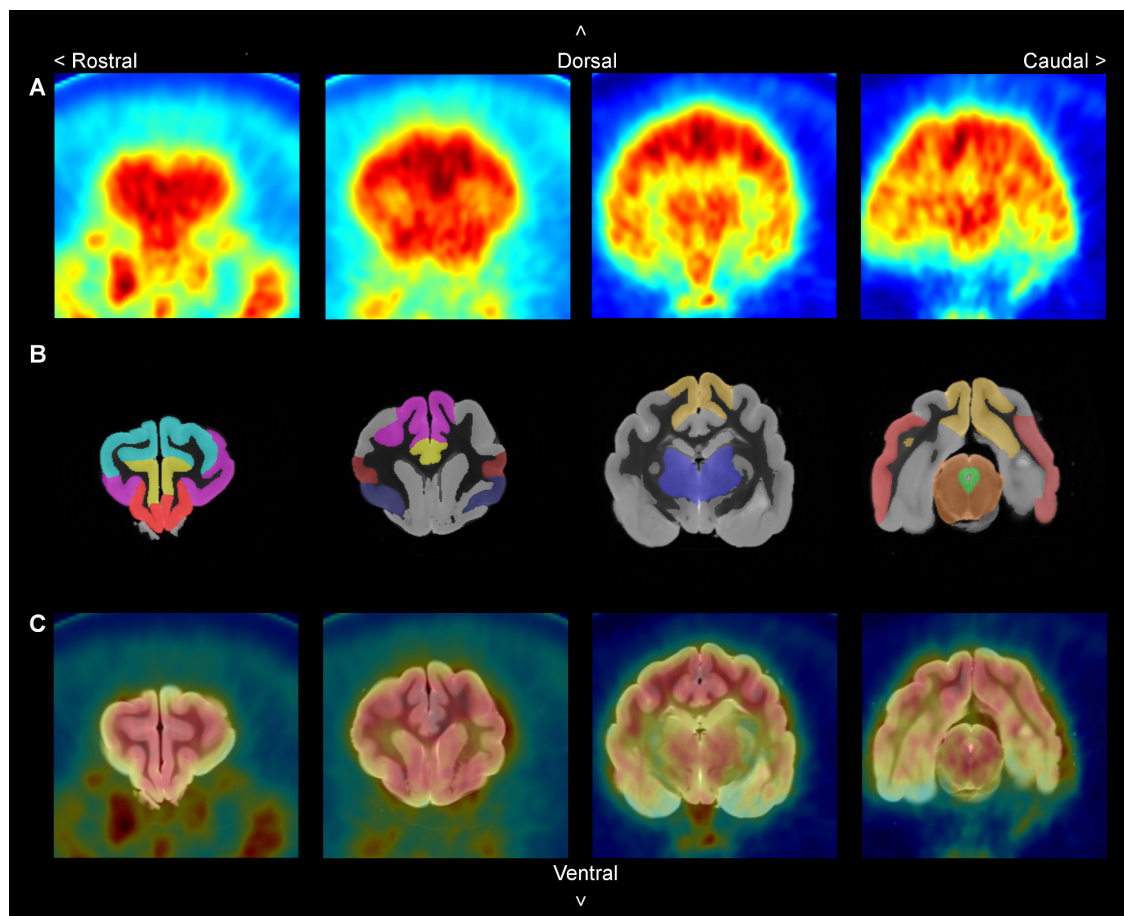
PET imaging was performed using a LabPET™ small animal scanner (Gamma Medica Inc.) with a 7.5-cm axial by 10-cm diameter field of view. Imaging sessions were performed

under standardized anaesthesia induced using a 4 mg/kg intramuscular injection of alfaxolone and maintained with isoflurane and oxygen using an endotracheal tube (end tidal isoflurane maintained at 1.6% to 1.7%) and a Bain anaesthetic system with fresh oxygen gas flow set at 1 L/min. Body temperature (actively maintained between 36.5 and 37.5°C), respiratory rate, arterial pressure (oscillometric method), blood oxygen saturation (pulse oxymeter), and inhalation and exhalation (capnography) were monitored continuously. Cats were placed in a dorsal Static 3D images of the cat brains were acquired for 35 min starting at 35 min post-injection. The images were reconstructed using 15 iterations of a maximum likelihood expectation maximization algorithm implementing a physical description of the detectors in the system matrix (Figure 2.5-1A) (Selivanov et al., 2000).

Manual delineation of brain regions of interest (ROI) was performed using datasets from *ex vivo* 7-Tesla magnetic resonance (MR) images of a cat brain and anatomical brain atlases (Reinoso-Suarez, 1961; Scannell et al., 1995) (Figure 2.5-1B). The PET images were coregistered over the brain atlas. A surface mesh of the cortex, created from the segmented MR images, was interactively positioned inside the PET images by applying a rigid transformation. Then, an iterative rigid to elastic deformation scheme was used to deform the mesh toward the brain cortex of the PET images. Once the surface mesh was fitted on the outer border of the cortex, a match for every vertex of the mesh was obtained between its original and final position, giving a set of translation vectors. An interpolation based on Shepard's inverse distance weighting was used to generate a translation vector field over the entire PET dataset. This translation vector field was applied to a deformable grid having the same dimension as the MR imaging dataset. Once the rigid and non-rigid transformations were applied to the grid, sampling the PET scan at every final node position by cubic interpolation successfully overlaid a deformed PET image over the segmented MR images (Figure 2.5-1C). Finally, a correction factor was computed from the FDG-PET signal contained inside the whole brain prior to and after coregistration. For each cat brain, mean signal values were computed from defined ROI of the coregistered PET data, and expressed as standardized uptake values (SUV). For each imaging session, a calibration phantom was used to convert image counts to radioactivity concentration.

Data were reported in reference to a control region as a Ratio = $SUV_{ROI} / SUV_{Superior\ temporal\ cortex}$, and analysed two-sided using a Wilcoxon-Mann-Whitney exact test with an α -value set at 0.005 (Bonferroni correction for multiple comparisons).

Figure 2.5-1 Four transversal slices of: *A) cat brain imaged with [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose (FDG) using a small animal positron emission tomography (PET) scanner; B) brain regions of interest (ROI) segmented from magnetic resonance (MR) images; C) PET signal coregistered with MR images.*

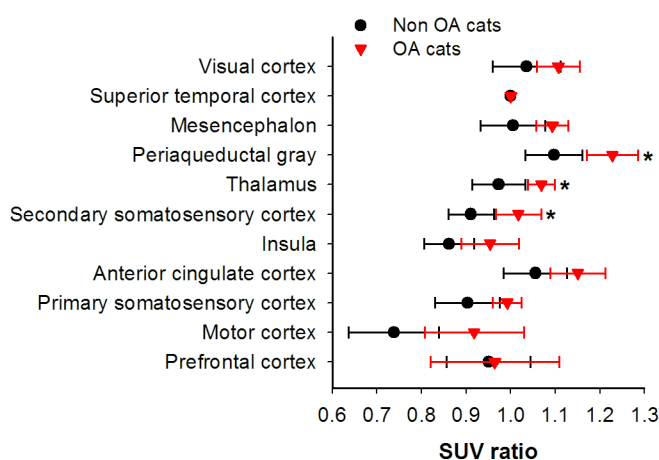


ROI identification from left to right: Slice 1: salmon = prefrontal cortex, aqua = motor cortex, purple = primary somatosensory cortex, yellow = anterior cingulate cortex; Slice 2: yellow = anterior cingulate cortex, dark blue = insula, dark red = secondary somatosensory cortex; Slice 3: blue = thalamus, dark yellow = visual cortex; Slice 4: dark yellow = visual cortex, green = periaqueductal gray matter, orange = mesencephalon, and light red = superior temporal cortex.

2.5.5 Results and discussion

The brain metabolism ratio of the OA cats in the secondary somatosensory (SII) cortex (mean [SD]: 1.017 [0.051]), thalamus (1.069 [0.031]), and periaqueductal grey matter (PAG; 1.228 [0.057]) was higher than that of the non-OA cats (0.911 [0.051]; $P=0.002$, 0.973 [0.060]; $P=0.005$, and 1.097 [0.063]; $P=0.002$, respectively; Figure 2.5-2.).

Figure 2.5-2 Mean metabolic activity in the brain regions of interest expressed as a ratio of standardized uptake values (SUV), and standard deviation.



Ratio = $SUV_{ROI} / SUV_{\text{Superior temporal cortex}}$. The brain metabolism in the secondary somatosensory cortex, thalamus and periaqueductal grey matter was increased significantly ($P \leq 0.005$) in OA cats compared to non-OA cats.

This is to our knowledge the first report of the use of ^{18}F FDG-PET to assess regional brain metabolic activity related to OA-associated pain in cats. The increased brain metabolism in the SII cortex of OA cats is consistent with the presence of sustained nociceptive inputs, as reported in a ^{18}F FDG-PET study in human patients with complex regional pain syndrome (Shiraishi et al., 2006). The enhanced brain metabolism in the thalamus and PAG of OA cats suggests an involvement of the descending pain modulatory system responding to sustained nociceptive inputs. This could be related to increased activity of the descending inhibitory or facilitatory pathways. In a functional MR imaging study during quantitative sensory testing, human OA patients presented enhanced activity in the PAG compared with healthy controls (Gwilym et al., 2009). This finding was interpreted as an increase in activity of the descending facilitatory pathways. In line with the hypersensitivity (Guillot et al., 2013) and facilitation of

temporal summation (Guillot et al., 2012) observed in OA cats, the enhanced brain metabolism in the thalamus and PAG observed in OA cats may also represent increased activity of the descending facilitatory pathways.

2.5.6 Conflict of interest statement

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

2.5.7 Acknowledgements

This study was supported in part by a Pilot Study grant (E. Troncy, and R. Lecomte) from the Quebec Bio-Imaging Network (#5886) of the Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS); by a Discovery Grant (#327158-2008, #441651-2013, supporting salaries) and a Collaborative Research and Development grant (#RDCPJ 418399 – 11, supporting operations and salaries in partnership with ArthroLab Inc.), from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (E. Troncy); and by an ongoing New Opportunities Fund grant (#9483) and Leader Opportunity Fund grants (#24601 and 15011), supporting pain/function and PET imaging equipments from the Canada Foundation for Innovation (E. Troncy and R. Lecomte). The Sherbrooke Molecular Imaging Center is part of the FRQS-funded Étienne-Le Bel Clinical Research Center.

M. Guillot was the recipient of an Alexander Graham Bell Canada Graduate Scholarship for doctorate research, and of a Doctoral Scholarship from the Canadian Institutes of Health Research – MENTOR Strategic Training Initiative in Health Research Program.

The authors would like to thank Drs Geoffrey Truchetti, and Johanna Kaartinen for their highly appreciated support in anaesthesia, and Dominique Gauvin, Carolle Sylvestre, Pascale St-Onge, Jules Cadorette, Maxime Paillé, Michel Paquette, Mélanie Archambault and Caroline Mathieu for their various contributions to the project.

2.5.8 References

- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012) Osteoarthritis in the cat: 1. How common is it and how easy to recognise? *J Feline Med and Surg* 14: 65-75.
- Clarke CF and Lawrence KS. (2013) Functional imaging for interpretation of pain pathways: current clinical application/relevance and future initiatives. *Curr Pain Headache Rep* 17: 311.
- Guillot M, Moreau M, Heit M, et al. (2013) Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Vet J* 196: 360-367.
- Guillot M, Rialland P, Taylor PM, et al. (2012) Protocol development of temporal summation in cats to highlight the central component of the osteoarthritis-associated chronic pain. *Pain and pain management in non-human species special interest group Official satellite symposium of the 14th World Congress on Pain*. Milan, Italy.
- Gwilym SE, Keltner JR, Warnaby CE, et al. (2009) Psychophysical and functional imaging evidence supporting the presence of central sensitization in a cohort of osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum* 61: 1226-1234.
- Kuner R. (2010) Central mechanisms of pathological pain. *Nat Med* 16: 1258-1266.
- Reinoso-Suarez F. (1961) *Topographischer Hirnatlas der Katze, für Experimental-Physiologische Untersuchungen [Topographical atlas of the cat brain for experimental-physiological research]*. E. Merck, Darmstadt, Germany.
- Scannell JW, Blakemore C and Young MP. (1995) Analysis of connectivity in the cat cerebral cortex. *J Neurosci* 15: 1463-1483.
- Selivanov V, Picard Y, Cadorette J, et al. (2000) Detector response models for statistical iterative image reconstruction in high resolution PET. *IEEE Trans Nucl Sci* 47: 1168-1175.
- Shiraishi S, Kobayashi H, Nihashi T, et al. (2006) Cerebral glucose metabolism change in patients with complex regional pain syndrome: a PET study. *Radiat Med* 24: 335-344.

3 DISCUSSION GÉNÉRALE

3.1 Caractériser la douleur animale

3.1.1 Les paramètres confondants et l'interrelation des données mesurées

De nombreux facteurs peuvent affecter les mesures de la douleur et empêcher sa caractérisation adéquate. D'une part, aucune référence de mesure de la douleur n'existe. D'autre part, la douleur elle-même peut induire une augmentation du stress et induire un état physiopathologique invalidant. Donc, bien que la mesure de l'intensité douloureuse et celle de la composante psychosociale soit dans des domaines différents, l'un peut grandement influencer l'autre, voire en biaiser la mesure (Mannion et al., 2007). Divers facteurs comme le niveau de stress et la présence de maladies concomitantes peuvent biaiser aussi bien la perception subjective de l'animal que l'évaluation des comportements associés à la douleur (Livingston, 2010). Les échelles subjectives de mesure de la douleur sont probablement les plus sensibles à ce type d'interférence. Des échelles multidimensionnelles de mesure de la douleur (intensité et qualité de la douleur, quantification de son impact sur la fonction et la qualité de vie, et éventuellement mesures physiologiques) ont été développées pour pallier au manque d'association entre l'intensité de la douleur et la composante invalidante de la douleur (Younger et al., 2009). Ces échelles sont ainsi le reflet de la complexité du phénomène de douleur et de ses implications physiologiques et comportementales (Junot et al., 2007).

Des différences de perception et d'expression de la douleur ont été établies en fonction de l'âge, de l'espèce, du genre et de la condition physiologique (Livingston, 2010; Mathews, 2000). Ainsi, une grille d'évaluation comportementale est spécifique d'une espèce dans une condition donnée et devrait être validée ou tout du moins contrôlée pour différentes classes d'âge et pour les sexes. Il est aussi bien établi que les différences de perceptions et d'expressions interindividuelles sont très importantes (Hielm-Bjorkman et al., 2011; Livingston, 2010; Mathews, 2000). Cela souligne l'importance de connaître l'animal évalué et de pouvoir recueillir des valeurs de référence concernant son état physiologique et ses comportements normaux.

L'invalidité associée à la douleur myoarthrosquelettique semble avoir un impact à la fois sur les comportements psychosociaux (*e.g.* diminution de l'activité, du jeu et des montées d'escaliers) et sur les mesures objectives de la démarche et de l'activité motrice. Cependant, la relation n'est pas nécessairement linéaire, le domaine de mesure étant différent (Breivik et al., 2008; Younger et al., 2009). En effet, des facteurs biomécaniques peuvent interférer sur l'évaluation de la démarche, alors que des facteurs émotionnels, motivationnels et cognitifs ont plus d'impact sur les comportements exprimés. Enfin, une invalidité motrice peut fausser la détection des seuils de réponse (lié par exemple à un déficit de proprioception ou à une faiblesse musculaire), limiter la quantification objective des paramètres de la démarche ou enfin amplifier des comportements associés à la présence d'une douleur chronique.

3.1.2 La réponse à l'administration d'un analgésique

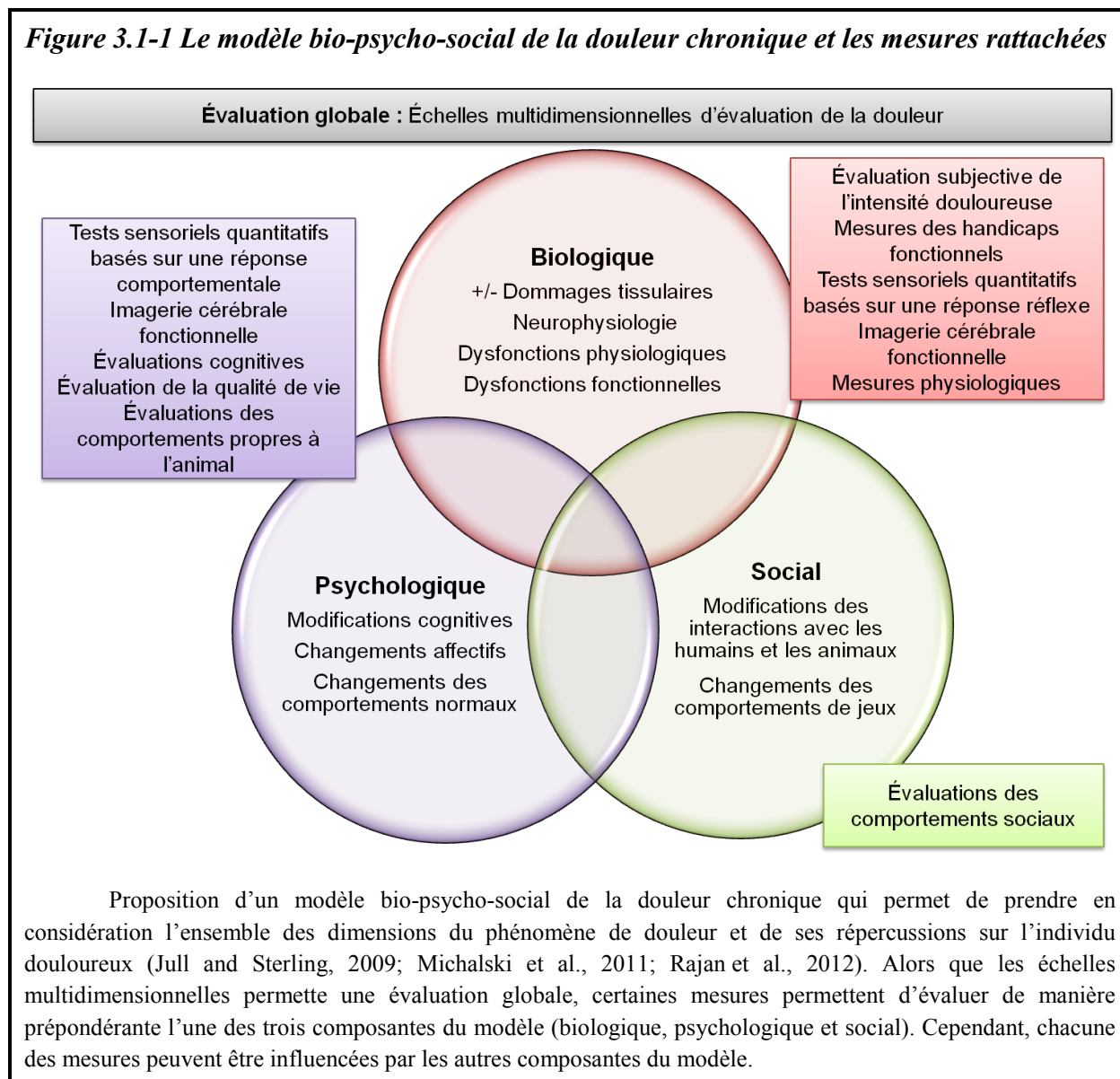
Compte tenu de l'absence de mesure de référence, l'utilisation d'un analgésique connu pour diminuer la douleur de la condition étudiée peut aider à la conceptualisation des outils de mesure de la douleur (Livingston, 2010). Cette étape est en général concomitante à l'évaluation de la sensibilité au changement de l'outil de mesure (Mannion et al., 2007). De plus, suivre dans le temps la réponse à un analgésique peut permettre de comprendre comment les différentes mesures varient les unes par rapport aux autres. Ainsi, il est possible qu'une composante s'améliore plus rapidement qu'une autre ou évolue avec une intensité différente. Chez le chat arthrosique, il a été rapporté que la composante psychosociale, telle qu'évaluée par son propriétaire, s'améliore nettement suite à l'administration répétée d'un AINS, alors que l'intensité douloureuse quantifiée par une mesure du niveau d'activité motrice diminue faiblement (Lascelles et al., 2007).

3.1.3 L'aspect multidimensionnel

La douleur animale peut être caractérisée comme une expérience multidimensionnelle qui possède une dimension sensorielle, émotionnelle motivationnelle, cognitive et neurovégétative (Breivik et al., 2008). Chacune de ces composantes possède un substrat neuro-anatomique propre (Almeida et al., 2004; Price, 2002), mais ces différentes

composantes sont en communication notamment par le système cortico-limbique (projections secondaires au niveau des cortex insulaire et cingulaire antérieur) et par le système modulateur descendant (Almeida et al., 2004; Price, 2002). Ces interrelations anatomiques soulignent la complexité de l'expérience douloureuse et l'importance des dimensions psychologiques et cognitives qui sont à la fois modulées par et modulatrices du système d'intégration de la douleur.

Figure 3.1-1 Le modèle bio-psycho-social de la douleur chronique et les mesures rattachées



À ces dimensions s'ajoutent l'impact de la douleur sur la qualité de vie et les interférences sur la fonctionnalité de l'animal (Breivik et al., 2008; Younger et al., 2009).

Ainsi, nous pouvons proposer que la meilleure caractérisation de la douleur chronique doit tenir compte d'un modèle théorique bio-psycho-social (Figure 2.1-1). Ce modèle prend en considération l'ensemble des dimensions du phénomène de douleur et de ses répercussions sur l'individu douloureux (Jull and Sterling, 2009; Michalski et al., 2011; Rajan et al., 2012). Appliquée au chat arthrosique, la caractérisation complète de ce modèle permettra de définir correctement la douleur.

3.2 Le bilan de la caractérisation objective de la douleur secondaire à l'arthrose chez le chat

3.2.1 Les handicaps fonctionnels : possibles origines et conséquences

Nous avons développé plusieurs outils complémentaires d'évaluation objective des handicaps secondaires à la douleur arthrosique chez le chat : i) le suivi du mouvement par vidéofluoroscopie lors de la marche sur un tapis roulant ; ii) l'analyse des forces d'appui au sol lors du trot ; iii) le suivi de l'activité motrice à l'aide d'une puce d'actimétrie.

Les résultats de notre étude pilote de cinématique (*cf.* 2.1.5) sont, à notre connaissance, la première description des changements observés lors de douleur associée à l'arthrose naturelle par l'évaluation du mouvement de l'articulation coxo-fémorale par vidéofluoroscopie. Les trajectoires des angles de l'articulation coxo-fémorale étaient de bonne qualité grâce à un entraînement minutieux des chats et à l'utilisation du logiciel d'analyse spécialement adapté pour notre étude. Le logiciel a permis de corriger la distorsion, le bruit et le contraste des images. Il a aussi permis, grâce à l'interpolation linéaire de la trajectoire du mouvement de chaque repère anatomique, de diminuer le nombre d'images à analyser et de diminuer les erreurs de placement des marqueurs surtout lorsque les membres étaient superposés. Bien que la technique développée soit perfectible (principalement le repère anatomique sur le petit trochanter devrait être remplacé par une droite suivant l'axe fémoral), elle a permis une analyse précise et répétable de l'angle coxo-fémoral dans le plan sagittal (Figure 2.1-4). L'observation principale de cette étude a été l'asymétrie entre les angles de la marche des articulations coxofémorales gauche et droite chez trois chats arthrosiques atteints, *a priori*, de manière unilatérale (Figure 2.1-3). L'articulation douloureuse présentait alors une

amplitude de mouvement plus restreinte que le membre non douloureux. Inversement le chat arthrosique douloureux bilatéralement et les deux chats sains non arthrosiques présentaient des angles de la marche similaires des deux côtés. Cette diminution d'amplitude de l'articulation douloureuse indique une tentative de protection de l'articulation lors de la mise en charge. Une observation similaire a été rapportée dans un modèle murin d'arthrose du genou suivi par vidéoradiographie. Les genoux où l'arthrose avait été induite présentaient une amplitude de mouvement significativement réduite par rapport au genou contralatéral (Boettger et al., 2011). De plus, les chats arthrosiques présentaient une courbe d'angle de la marche plus variable et une augmentation de la durée du cycle de la marche comparée aux chats non arthrosiques. Ces observations pourraient être secondaires à une difficulté plus importante chez les chats arthrosiques à marcher avec régularité due à une plus grande fatigue ou à l'accentuation de la douleur lors de l'exercice. La position des pieds ou du moment d'extension maximale du genou et du tarse ne pouvait être déterminés du fait des contraintes de l'étendue de la prise de vues. Cela limite ici nos interprétations puisqu'il nous est alors impossible de déterminer la durée de la phase d'appui et d'envol.

Notre deuxième étude pilote a permis la détermination du potentiel de l'évaluation des forces d'appui au sol lors du trot par le suivi de quatre chats douloureux coxarthrosiques et de deux chats non arthrosiques (Guillot et al., 2012). Dans cette étude, la force verticale d'appui au sol des membres postérieurs des chats coxarthrosiques étaient significativement plus faible que ceux des chats non arthrosiques. Ce résultat représente une première indication de l'utilité de cette mesure comme évaluation objective des handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique. A l'aide d'une plaque de force, deux études avaient démontré une diminution de la force verticale d'appui au sol chez des chats suite à une induction chirurgicale d'arthrose (Herzog et al., 1993; Suter et al., 1998), dont l'une avec des mesures statiques (Herzog et al., 1993). La disparité des méthodes entre ces études rend les comparaisons difficiles. Alors que trois équipes ont proposé l'utilisation d'un tapis de force pour évaluer des chats normaux, peu d'études ont jusqu'à présent utilisé l'analyse cinétique de la démarche pour évaluer la douleur musculosquelettique chez le chat. Seul l'effet d'une douleur aiguë post dégriffage sur la démarche des chats a pour l'instant été investigué (Robinson et al., 2007; Romans et al., 2004; Romans et al., 2005). Il ressort de ces études que

l'utilisation d'un tapis de force pour étudier la cinétique de la démarche chez le chat a un grand potentiel mais est plus difficile à mettre en œuvre que chez le chien. Alors que chez cette dernière espèce, la mesure de la force verticale d'appui au sol est le standard de l'évaluation des handicaps fonctionnels secondaires à l'arthrose (McLaughlin, 2001; Rialland et al., 2012), chez le chat il apparaissait qu'un effort de standardisation et d'affinement étaient nécessaires. Notre équipe a donc étudié un groupe de six chats coxarthrosiques pour tester différents protocoles d'acquisition et d'analyse de la force verticale d'appui au sol et pour déterminer celui qui permettrait d'avoir la meilleure puissance d'analyse (Moreau et al., 2013a). Il est ainsi apparu que le meilleur protocole d'acquisition chez le chat arthrosique était d'évaluer la force verticale d'appui au sol après un exercice de montée et descente d'escaliers et qu'il fallait suivre dans le temps le membre avec la plus forte atteinte cinétique (celui avec la force verticale d'appui au sol la plus faible).

Ainsi, ce protocole a été mis en pratique dans une large étude longitudinale, randomisée et l'aveugle évaluant dans un premier temps 39 chats arthrosiques et 6 chats non arthrosiques sur une période de 4 semaines lors de l'administration d'un *placebo* (période *placebo* de la Figure 2.2-1). Cette étude (Guillot et al., 2013), confirma de manière convaincante que les chats douloureux avec des lésions d'arthrose détectable radiographiquement présentaient une force verticale d'appui au sol après exercice significativement plus faible que les chats non arthrosiques (Figure 2.2-2A). Cette étude confirma aussi l'utilité de la prise de mesure après un exercice contrôlé puisque, avant exercice, la différence observée entre les groupes étaient plus faible et non significative. Bien que la répétabilité de la technique fut légèrement meilleure après exercice (coefficient de corrélation intra classe de 0,60) comparée à avant exercice (coefficient de corrélation intra classe de 0,49), cette répétabilité était moyenne à bonne. Cependant, le coefficient de corrélation intra classe ne peut tenir compte de la présence de covariables d'intérêt. Or, nos analyses des données dans le temps ont démontré la nécessité de tenir compte de trois covariables qui influençaient significativement les résultats : le poids, la vitesse et le nombre maximal d'essais nécessaires pour compléter l'évaluation cinétique. Lorsque ces covariables étaient prises en compte adéquatement, nous avons alors déterminé que les mesures de la force verticale d'appui au sol était stable tout au long de la période *placebo*. Ainsi, la force verticale

d'appui au sol apparaît comme une mesure fiable des handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique. L'utilisation du membre le plus affecté selon l'évaluation cinétique a été déterminée par deux facteurs. D'une part, notre étude pilote a déterminé que cette technique représentait une amélioration de la taille de l'effet mesuré (Moreau et al., 2013a). D'autre part, la présence d'arthrose sur les chats étant souvent multi articulaire et les quatre membres d'un même animal étant statistiquement et biologiquement dépendants, impliquent que la mesure la plus faible représente une synthèse de l'atteinte de l'animal. Cette mesure est alors le reflet de l'atteinte douloureuse et biomécanique globale de l'animal. L'exercice a accentué les différences entre les chats arthrosiques et les chats non arthrosiques, particulièrement en diminuant la force verticale d'appui au sol des chats douloureux et présentant des lésions radiographiques d'arthrose (groupe arthrosique 1). Ainsi, l'exercice court mais intense semble accentuer la douleur et/ou favoriser la fatigue musculaire dans ce groupe sévèrement atteint. De plus, les chats arthrosiques douloureux mais sans lésion radiographique (groupe arthrosique 2) présentait une force verticale d'appui au sol similaire aux chats non arthrosique (groupe arthrosique 0) et plus élevé que les chats du groupe arthrosique 1. Cela indique que la présence de signes radiographiques d'arthrose est un indicateur de la sévérité de l'atteinte fonctionnelle. L'étude de chats douloureux et présentant des signes radiographiques devraient être donc privilégiée pour les futures études s'intéressant aux handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique (*cf.* 3.2.2 pour plus de développement).

Notre deuxième étude pilote a aussi permis de confirmer l'utilité du suivi de l'activité motrice à l'aide d'une puce d'actimétrie (Guillot et al., 2012). Le suivi par une puce d'actimétrie fixée au collier de l'animal avait été validée chez le chat par une étude approfondie de la relation entre comptes enregistrés et activité réelle (Lascelles et al., 2008b). Par la suite, cette même technique a été utilisée avec succès dans deux études pilotes chez le chat visant à démontrer l'efficacité du méloxicam (Lascelles et al., 2007) et d'une nourriture enrichie (Lascelles et al., 2010a). Cependant, aucune étude de sensibilité ou de fiabilité n'avait encore été produite. Dans notre étude pilote, l'activité motrice (suivi en continu pendant 6 jours) des chats arthrosiques étaient significativement plus faible que celle des chats normaux durant la nuit (Figure 2.1-3). La baisse d'activité motrice peut être secondaire à la douleur musculosquelettique présente diminuant les capacités de l'animal à se déplacer. Elle peut aussi

être secondaire à des modifications cognitives se développant avec la chronicisation de la douleur, diminuant l'envie de l'animal de se déplacer. Il est difficile d'expliquer précisément pourquoi la différence d'activité s'observe la nuit. Le fait que les chats soient des animaux nocturnes pourrait indiquer que, la nuit, les chats arthrosiques ne sont pas enclins à augmenter leur activité comme les chats sans arthrose. L'impact des conditions expérimentales n'est pas non plus connu. Ce qui est certain est que la nuit, du fait de l'absence totale d'interaction humaine, est une bonne période d'observation des comportements naturels. Le jour, les nombreuses interactions induites (*e.g.* bruits, activités autour de la chatterie) peuvent biaiser les mesures. Cela explique pourquoi lors de l'étude principale, seul un suivi de l'activité de nuit (17 :00 à 6 :58) a été conservé (Guillot et al., 2013). Grâce à cette étude, nous avons démontré que le suivi de l'activité motrice présentait une très bonne répétabilité et une très bonne stabilité dans le temps lors de la période *placebo*. Bien que les chats du groupe arthrosique 1 présentassent une activité motrice plus faible que celle des deux autres groupes, cette différence n'était pas significative (Figure 2.2-2B). Ce résultat peut s'expliquer par la grande variabilité interindividuelle rencontrée. Cette variabilité est reliée à la dépendance de cette mesure au comportement de l'animal. Les comparaisons entre les groupes sont alors difficiles à faire et à interpréter (Lascelles, 2010b). Ainsi, il est important de suivre et d'analyser les données d'activité motrice en utilisant chaque chat comme son propre contrôle.

L'ensemble des handicaps fonctionnels évalués objectivement chez les chats arthrosiques (diminution de l'amplitude du mouvement, diminution de force verticale d'appui au sol et diminution de l'activité motrice) sont en accord avec les observations comportementales rapportées par les propriétaires de chats arthrosiques : *e.g.* la présence d'une boiterie, de la difficulté de se déplacer, la diminution de la hauteur et de la fréquence de sauts, la diminution des activités, difficultés à la montée et la descente des escaliers (Bennett and Morton, 2009; Slingerland et al., 2011; Zamprogno et al., 2010). Ces trois outils ont démontré une bonne fiabilité et représentent donc des mesures intéressantes pour évaluer objectivement les handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique. Des trois outils, les mesures cinématiques ont été les plus difficiles à mettre en œuvre du fait de l'entraînement nécessaire à la marche sur tapis roulant, Cet entraînement excluait environ 50 % des chats testés ce qui représentait une importante limitation dans l'optique d'un essai préclinique où la

sélection des animaux est déjà un défi en soi. De plus, il est questionnable si cette technique est adaptée à la forte prévalence des atteintes multi articulaires. Au premier abord, elle semblerait plus adaptée à l'étude des atteintes naturelles d'une articulation (uni ou bilatérale) ou de modèles d'arthrose expérimentalement induits. Cela explique qu'il n'y a pas eu de suite pour l'instant avec les mesures cinématiques par vidéofluoroscopie. Il reste tout de même intéressant de tester la réponse des mesures cinématiques à un analgésique (le méloxicam par exemple) pour déterminer plus précisément si la mesure de l'amplitude du mouvement est un bon marqueur de douleur chronique associée à l'arthrose. Pour la mesure de force verticale d'appui au sol et d'activité motrice, la sensibilité de réponse à un analgésique est discutée dans le chapitre suivant de cette discussion (3.3). Compte tenu de l'absence d'outils et de traitement validés actuellement, la phase de test de sensibilité et d'efficacité est nécessairement commune. Les résultats préliminaires encourageants sur l'efficacité du méloxicam lors de douleurs secondaires à l'arthrose (Bennett and Morton, 2009; Gunew et al., 2008; Lascelles et al., 2007; Lascelles et al., 2001), font de cet analgésique un candidat idéal pour cette phase subséquente de validation. Les outils de mesure développés ne seront toutefois complètement validés qu'à la suite de plusieurs études démontrant une réponse positive à l'administration d'un analgésique. Ainsi, il s'agit de la première phase essentielle de validation pour la force d'appui verticale au sol. Pour l'activité motrice il s'agit plutôt d'une phase de confirmation de sa validité comme marqueur objectif des handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique.

3.2.2 Les tests sensoriels quantitatifs : apport original et limitations

Un état d'hypersensibilité allodynique au toucher a été trouvé chez environ 30% des chats étudiés dans notre étude principale (Guillot et al., 2013) grâce à l'évaluation des seuils de retrait au von Frey (Table 2.3-6). Cela s'est traduit par un seuil de retrait significativement plus bas chez les chats du groupe arthrosique 1 comparé aux chats du groupe arthrosique 0 lors des évaluations de la période *placebo* (Figure 2.3-2C). C'est à notre connaissance la première description d'un état d'hypersensibilité secondaire à la douleur arthrosique chez le chat. Ce résultat important indique que le phénomène de sensibilisation centrale se développe avec la chronicisation de la douleur arthrosique chez le chat comme il a déjà été proposé chez l'humain (Arendt-Nielsen et al., 2010; Malfait and Schnitzer, 2013; Mease et al., 2011;

Suokas et al., 2012; Woolf, 2011). Ce résultat est aussi en accord avec une étude chez le chien arthrosique, qui rapporte la présence d'une hypersensibilité secondaire à la douleur chronique grâce à l'utilisation de tests sensoriels quantitatifs mécaniques par l'application interdigitée d'un filament de von Frey (Brydges et al., 2012). L'hypersensibilité est une composante fondamentale de la chronicisation de la douleur qui devra être la cible d'un traitement adapté. L'évaluation des seuils de retrait, bien qu'elle apporte une vision originale de l'arthrose chez le chat, est une évaluation basée sur une réponse réflexe de l'animal. Cette réponse est donc liée principalement à la composante sensorielle discriminante de la douleur (Boyce-Rustay et al., 2010; Mogil, 2009). Le développement d'une mesure comportementale rattachée à la composante cognitive et émotionnelle de la douleur était donc nécessaire pour confirmer la présence de ce phénomène et de mieux comprendre son origine (Navratilova et al., 2013).

Le développement d'un test sensoriel quantitatif basé sur la sommation temporelle de la douleur est alors apparu intéressant. En effet, une facilitation de la sommation temporelle est une caractéristique de la sensibilisation centrale (Woolf, 2011) et ce phénomène se développe lors de douleur chronique associée à l'arthrose chez l'humain (Mease et al., 2011; Staud, 2011). De plus, l'évaluation de la réponse douloureuse est basée sur l'observation de comportements douloureux (échappement et aversion) permettant d'évaluer la composante cognitive et émotionnelle de la douleur. L'étude présentée dans cette thèse sur l'utilisation d'un test sensoriel quantitatif basé sur l'induction de la sommation temporelle de la douleur est une première chez le chat vigile.

Les stimulations mécaniques infra seuils répétées se sont sommées, déterminant une réponse douloureuse progressive de plus en plus intense. Avec l'augmentation de l'intensité de la stimulation, une réponse significativement plus rapide des chats a été observée (Figure 2 4-4A), ce qui est en accord avec le mécanisme de sommation temporelle (Vierck et al., 1997) et les résultats d'une étude comportementale chez le rat vigile (Lomas and Picker, 2005). Avec la répétition de brèves stimulations, la première douleur transitoire tend à diminuer, alors que la douleur secondaire augmente en intensité et en durée correspondant à une décharge prolongée des fibres C. Le profil de réponse ainsi observé chez nos chats indique que les stimulations de plus haute intensité ont permis un recrutement plus grand des fibres C. Ceci est soutenu par l'observation de comportements douloureux persistant après l'arrêt des stimulations,

particulièrement pour les stimulations à 4 et 6 N. Ces comportements persistaient plusieurs secondes, ce qui est en accord avec les sensations persistantes produites chez l'humain pendant 15 s (Staud et al., 2001) et de 30 s chez le rat (Lomas and Picker, 2005). L'absence de différence entre le profil de stimulation #3 et #4 est surprenante, si l'on compare aux études similaires chez le rat (Lomas and Picker, 2005) et l'humain (Vierck et al., 1997). Cela pourrait être dû au fait qu'une seule stimulation de 6N est très proche d'une stimulation douloureuse ce qui fait que la sensation douloureuse augmente rapidement.

La sommation temporelle des stimulations mécaniques répétées était significativement facilitée chez les chats arthrosiques, particulièrement pour les profils de stimulations #2 et #4 (Figure 2.4-4B). Ce résultat novateur indique aussi que le phénomène de sensibilisation centrale se développe avec la douleur chronique associée à l'arthrose chez le chat. Bien que cette observation doive être confirmée sur un plus grand échantillon, ce résultat est concordant avec l'hypersensibilité observée dans notre étude principale (Guillot et al., 2013). De plus, le nombre de stimulations pour obtenir une réponse douloureuse était significativement et positivement corrélé avec les seuils de retrait au von Frey. Cette observation suggère fortement que le phénomène mesuré par les deux évaluations est commun. Par contre, aucune corrélation significative de la réponse à la sommation temporelle mécanique n'a été observée avec les mesures de handicaps fonctionnelles secondaires à la douleur arthrosique (la force verticale d'appui au sol et l'activité motrice) indiquant que ces méthodes d'évaluation sont complémentaires.

L'importance de la découverte du développement d'une hypersensibilité tactile lors de la chronicisation de la douleur chronique associée à l'arthrose dans les options thérapeutiques sera discutée ci-dessous dans le chapitre 3.3.

3.2.3 L'imagerie cérébrale fonctionnelle : avancées et défis

Notre étude d'imagerie fonctionnelle par TEP au FDG pour évaluer l'activité des régions cérébrales impliquées dans la modulation douloureuse est une première chez le chat (et chez l'animal de compagnie). L'augmentation de métabolisme dans le cortex somatosensoriel secondaire peut être expliquée par la présence d'influx nociceptifs soutenus chez les chats arthrosiques douloureux en comparaison aux chats non douloureux.

L'augmentation de métabolisme observée dans le thalamus et la substance grise périaqueducale est compatible avec une augmentation de l'activité du système inhibiteur descendant (activé par les afflux nociceptifs soutenus) ou des voies facilitatrices.

Globalement une augmentation de l'activité de ces trois régions cérébrales d'intérêt est en accord avec la littérature décrivant la fonction du cerveau dans la douleur chronique chez l'animal. En effet, les différentes études disponibles évaluant un état de douleur chronique chez l'animal, les zones cérébrales montrant une activation significative sont la substance grise périaqueducale, l'amygdale, le thalamus, le cortex somatosensoriel primaire et secondaire, et le cortex cingulaire (Borsook and Becerra, 2011; Thompson and Bushnell, 2012). L'absence de changement d'activité dans l'amygdale, le cortex somatosensoriel primaire et le cortex cingulaire peuvent être dus à un manque de puissance de notre étude, ou à une variation spécifique à la douleur arthrosique. En général, les études d'imagerie ne sont pas capables avec une seule évaluation de déterminer toutes les régions d'intérêt du fait des relativement grandes variabilités individuelles. Ainsi plusieurs études sont préférables pour mieux déterminer toutes les régions réellement impliquées dans un phénomène. Aussi, le choix dans notre étude d'utiliser des régions d'intérêt s'explique par le caractère exploratoire de notre étude. Une évaluation en utilisant des techniques plus récentes d'analyse qui déploient une cartographie statistique basée sur les réponses de chaque voxel de l'image est plus puissante (Kim et al., 2008). Cependant, ces techniques nécessitent de choisir un seuil d'analyse qui demande de connaître *a priori* l'intensité des différences étudiées ce qui n'était pas le cas pour notre étude novatrice.

Plus spécifiquement, une augmentation de l'activité du cortex somatosensoriel secondaire a aussi été faite chez l'humain où des patients atteints du syndrome de douleurs régionales complexes présentaient aussi une augmentation de métabolisme glucidique dans le cortex somatosensoriel secondaire (Shiraishi et al., 2006). Même si les résultats d'une autre étude qui évaluait par IRM fonctionnel lors de tests sensoriels quantitatifs la douleur secondaire à l'arthrose chez l'humain ne se compare directement à nos résultats elle peut permettre d'aider à leur interprétation (Gwilym et al., 2009). Cette étude a observé une augmentation d'activité chez les patients arthrosiques comparés aux contrôles qui a été interprété comme une augmentation de l'activité des voies facilitatrices. Si l'on considère la

présence d'hypersensibilité (Guillot et al., 2013) et la facilitation de la sommation temporelle observée chez les chats arthrosiques, l'augmentation d'activité du thalamus et de la substance grise périaqueducule devraient aussi plus probablement représenter une augmentation des voies facilitatrices.

De plus, chez l'humain, différents changements détectés par imagerie fonctionnelle indiquent une plasticité du système nerveux central en relation avec la présence de douleur chronique secondaire à l'arthrose. Ces changements conduisent à une facilitation du signal nociceptif (Gwilym et al., 2009). Mais ces changements conduisent aussi à une modulation plus importante de la douleur par le système médial associé à la dimension affective de la sensation douloureuse (Kulkarni et al., 2007; Parks et al., 2011). Malheureusement, nous n'avons pas pu observer de tels changements dans notre étude. Cela peut être expliqué par le fait que ces changements sont mis en valeur par la présence ou l'évocation d'une stimulation. Ceci peut aussi être relié au fait que les études chez l'humain n'impliquent pas d'anesthésie. Toutes les techniques d'imagerie fonctionnelle chez l'animal nécessitent une immobilisation de l'animal soit par anesthésie générale, soit par contrainte physique (Thompson and Bushnell, 2012). L'anesthésie générale, si elle est correctement standardisée et minimale a un impact modéré sur l'évaluation fonctionnelle, mais les interactions avec les mesures hémodynamiques cérébrales ne sont pas encore complètement élucidées (Masamoto and Kanno, 2012). Dans notre étude nous avons choisi d'utiliser une région contrôle pour standardiser les mesures et ainsi diminuer la variabilité induite par les variations individuelles en relation avec l'anesthésie générale. Le désavantage majeur de l'anesthésie est que son utilisation entraîne une diminution de l'amplitude du signal enregistré (Zhao et al., 2007). Cela implique que les changements de faible amplitude par rapport au niveau normal seront difficilement détectables. Éthiquement il est pour l'instant difficile de cautionner les techniques utilisant une contrainte physique chez l'animal. De plus le stress engendré par la procédure pourrait contrecarrer les effets des avantages recherchés (Martin, 2007). De manière intéressante, mais encore anecdotique, le développement de techniques d'acclimatation et l'amélioration de la correction du mouvement dans les images ouvrent la porte à des techniques d'imagerie fonctionnelle éveillée sans contrainte comme celle décrite chez le chien (Berns et al., 2012).

3.2.4 Les limites des évaluations objectives et la nécessité de développer des outils complémentaires

Comme nous l'avons exposé au début de cette discussion, la caractérisation de la douleur chronique nécessite l'intégration du modèle bio-psycho-social (Figure 3.1-1). Ceci permet de tenir compte de l'ensemble des dimensions du phénomène de douleur et de ses répercussions sur l'individu douloureux (Jull and Sterling, 2009; Michalski et al., 2011; Rajan et al., 2012). Cela implique qu'il est important de compléter les données quantitatives par des mesures qualitatives pour embrasser l'ensemble du modèle. Particulièrement, les mesures objectives novatrices développées et décrites dans cette thèse sont plus fortement liées à la dimension biologique de la douleur et dans une moindre mesure à la composante psychologique. Il est donc nécessaire de développer des mesures plus centrées sur la dimension psychologique et sociale.

Les comportements et les modifications de comportement associés à la douleur chronique mettent en avant les conséquences psychologiques et sociales de la douleur ou de l'inconfort induit par la condition douloureuse. Ces différents comportements peuvent être regroupés au sein d'une grille d'évaluation comportementale qui peut être remplie par les propriétaires ou par les vétérinaires. Chez le chat arthrosique, l'outil d'évaluation des mesures spécifiques aux propriétaires ou CSOM (Figure 1.3-3) est utilisé bien que non validée pour le moment (Lascelles et al., 2010a; Lascelles et al., 2007). La grille FMPI (Benito et al., 2013a) est en cours de développement à partir des changements de comportement pouvant être reliés à la douleur arthrosique suite à une étude observationnelle sur 100 chats arthrosiques (Zamprogno et al., 2010). Malheureusement, bien que cette grille soit bien construite, répétable et sensible à la présence d'arthrose (Benito et al., 2013a), elle n'a pu montrer de sensibilité à la sévérité clinique de l'arthrose ni à l'administration d'un AINS (Benito et al., 2013b).

Ces tentatives d'évaluation des aspects sociaux, psychologiques et de l'impact sur la qualité de vie des chats de la douleur chronique associée à l'arthrose ne pouvaient s'appuyer sur une caractérisation objective de cette douleur, mais seulement une évaluation subjective globale. Nous pouvons donc espérer que le travail rapporté dans cette thèse permettra de

mieux caractériser les échantillons de chats arthrosiques étudiés et ainsi permettre la validation de nouveaux outils comportementaux. Ces outils sont essentiels à une évaluation complète des impacts de la douleur chronique associée à l'arthrose, particulièrement en milieu clinique. En clinique, le vétérinaire a besoin d'outils simples à implémenter et le propriétaire a besoin de guides clairs pour évaluer correctement et sans biais son chat à la maison. Nous pouvons espérer que le travail initié par l'équipe du Dr E. Troncy parallèlement aux travaux rapportés ici pourra mener à la création de ces outils (Klinck et al., 2011; Klinck et al., 2012).

3.3 La première démonstration de l'efficacité d'un analgésique chez le chat arthrosique

3.3.1 La suspicion d'une efficacité dose-dépendante

Notre étude principale (Guillot et al., 2013), grâce au développement d'outils de mesure de douleur chronique objectifs, sensibles et répétables a caractérisé les handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique chez le chat. Les chats arthrosiques présentent un déficit d'appui au sol et une diminution de l'activité motrice quotidienne. Le suivi de ces paramètres a permis de démontrer qu'un AINS (le méloxicam) administré pendant 4 semaines réduit la douleur à différents degrés, sans apparition d'effets secondaires et pouvant perdurer pendant 3 semaines après l'arrêt du traitement.

La force verticale d'appui au sol des chats arthrosiques traités au méloxicam avec une dose de 0,025 mg/kg/d et 0,05 mg/kg/d s'est améliorée. Cependant, cette amélioration n'était pas supérieure à l'amélioration observée chez les chats traités avec le *placebo* même après exclusion des chats du groupe arthrosique 2 (chats n'ayant pas initialement de diminution de la force verticale d'appui au sol ; Figure 2.2-3). L'hypothèse la plus probable est que la douleur chronique associée à l'arthrose induit une diminution d'appui et une diminution de l'utilisation du ou des membres atteints (compensation sur les membres moins atteints ou diminution globale d'activité physique). Ainsi, suite à l'atrophie musculaire qui se développe, les chats les plus douloureux présentent une diminution mesurable de la force verticale d'appui au sol. Cependant, l'exercice hebdomadaire requis pour les évaluations des chats pourrait avoir renforcé leurs masses musculaires atrophiées et amélioré leur proprioception. Ainsi, les effets

bénéfiques du traitement seraient confondus en partie avec une amélioration fonctionnelle bien mise en évidence dans le groupe *placebo*. Cette possibilité est soutenue par le fait que la plus faible amélioration suite à la période de traitement en comparaison avec la période *placebo* initiale a été observée dans le groupe placebo (8,9 %), alors que la plus grande amélioration a été observée dans le groupe traité avec la plus forte dose de méloxicam (14,2 % d'amélioration pour le groupe traité avec 0,05 mg/kg/d contre 10,1 % pour celui qui a été traité avec 0,025 mg/kg/d). Chez le chien arthrosique, un exercice modéré est d'ailleurs l'une des recommandations de traitement pour diminuer l'administration d'AINS (Renberg, 2005; Rychel, 2010). Cette hypothèse est aussi en accord avec la littérature qui indique qu'un exercice modéré régulier est bénéfique chez l'humain pour diminuer les méfaits de la douleur chronique associée à l'arthrose du genou (Beckwee et al., 2013) et de la hanche (Hernandez-Molina et al., 2008). De plus, plusieurs études ont rapporté un effet bénéfique d'un exercice léger ou modéré dans des modèles murins d'arthrose par induction chirurgicale (Galois et al., 2004) ou chimique (Cifuentes et al., 2010). Finalement, une étude *in vitro* indique qu'une charge mécanique appliquée régulièrement sur des chondrocytes peut diminuer la dégradation du cartilage par les MMP et ADAMTS (Leong et al., 2011). Finalement, une étude génomique sur un modèle chimique d'arthrose chez le rat indique qu'un exercice modéré sur tapis roulant inhibe, si débuté avant l'apparition de lésions cartilagineuses trop importantes, l'expression de NF- κ B, ce qui pourrait être l'un des mécanismes anti-inflammatoires induit par l'exercice (Nam et al., 2011).

Les chats traités au méloxicam présentaient une amélioration d'activité motrice lors de la période traitement comparée à la période *placebo* alors que les chats traités avec le placebo présentaient une activité motrice stable dans le temps (Figure 2.2-4). La plus grande amélioration d'activité motrice (5,2 %) a été observée avec la dose la plus forte de méloxicam. Les chats traités avec la plus faible dose de méloxicam ont montré une amélioration de 3,7 %. Par contre, les chats traités avec la dose intermédiaire ne présentaient pas d'amélioration significative. Globalement cette amélioration d'activité motrice indique un effet analgésique du méloxicam chez les chats présentant une douleur chronique associée à l'arthrose. Étant donnée que l'activité motrice n'a été suivie que pendant la nuit (17 :00 à 6 :58) il est difficile d'extrapoler l'effet bénéfique sur l'ensemble de la journée. Cependant, cette période de suivie

est justifiée par les résultats de notre étude pilote (Guillot et al., 2012). Elle est aussi justifiée par une étude pilote testant l'efficacité d'une nourriture enrichie sur des chats arthrosiques qui montra une amélioration de l'activité motrice principalement sur la période 18 :00 à 24 :00 (Lascelles et al., 2010a). L'augmentation d'activité motrice pour les chats arthrosiques traités au méloxicam à 0,05 mg/kg/d est en accord avec l'étude pilote de l'équipe de Lascelles (2007) qui montra aussi globalement une augmentation significative de l'activité motrice des chats sous méloxicam suivant le même régime thérapeutique. L'amélioration détectée peut paraître faible, mais elle est obtenue dans des conditions expérimentales confinées où l'augmentation d'activité est relativement limitée du fait des contraintes d'espaces. Le groupe de chats traités avec un *placebo* ont montré une activité motrice particulièrement stable tout au long de l'expérimentation et les chats des groupes traités sont revenus à des valeurs basales suite à l'arrêt du traitement ce qui indique que l'effet observé est biologiquement significatif et non rémanent. De plus, un chat adulte en milieu expérimental dort environ 85 % de son temps (source interne 2011 : estimation selon les données brutes de nos études d'actimétrie) ce qui laisse aussi peu de place pour faire augmenter la moyenne d'activité motrice. Cette augmentation est une combinaison d'augmentation du temps d'activité et de l'intensité de l'activité. À la lumière des ces deux études il apparaît clairement que le méloxicam possède un effet analgésique chez les chats arthrosiques douloureux qui est caractérisé par une augmentation de leur activité motrice. Ce résultat est d'autant plus convaincant que les atteintes de la motricité et les diminutions d'activité correspondent aux changements comportementaux les plus fréquemment signalés (Bennett and Morton, 2009; Klinck et al., 2012; Slingerland et al., 2011; Zamprognio et al., 2010).

Que ce soit avec l'évaluation de la force verticale d'appui au sol ou pour l'activité motrice, le groupe de chats traités avec la dose intermédiaire (0,04 mg/kg/d) n'a pas démontré d'amélioration significative. L'hypothèse la plus probable est le fait que ce groupe de chats présentait un taux de chats hypersensibles plus grand que les autres groupes principalement pendant la période de traitement (Table 2.2-6). Cette caractéristique a pu interférer sur la capacité de détecter un effet bénéfique du traitement puisque les AINS ont une efficacité limitée sur l'état d'hypersensibilité (Lynch et al., 2004; Nagakura et al., 2003; Zhao et al., 2000). De plus, le groupe de chats traités au méloxicam à 0,04 mg/kg/d présentait

une plus grande variabilité dans les niveaux d'activité motrice que les trois autres groupes. Cela indique que l'erreur de type II est en partie responsable du fait que l'amélioration de 2,9 % observée ne soit pas significative.

Nous avons donc présenté ici la première étude longitudinale, à distribution aléatoire, contrôlée et à l'aveugle démontrant l'efficacité d'un analgésique dans l'arthrose féline. La plus grande amélioration présente dans le groupe de chats traités au méloxicam à 0,05 mg/kg/d (haute dose) fait suspecter une efficacité dose dépendante. Cependant, cette efficacité dose-dépendante devra être confirmée, principalement à cause de l'incapacité à observer un effet traitement significatif avec la dose intermédiaire. Aussi, bien que ce résultat représente une avancée majeure dans le domaine, l'efficacité du méloxicam devra être évaluée dans un essai clinique contrôlé. Cela permettra d'évaluer son effet sur les comportements douloureux et de vérifier la robustesse de l'effet dans un environnement moins contrôlé. L'avantage d'un tel essai est qu'il permettra aussi de tester l'effet analgésique sur des animaux plus âgés et plus douloureux qui ne soient pas utilisables en essais précliniques du fait des contraintes médicales et éthiques. Donc, même si la variabilité attendue d'un essai clinique est plus grande, l'effet anticipé est plus grand.

3.3.2 Chat arthrosique ; chat douloureux ?

Notre première étude pilote (Guillot et al., 2012) et notre étude principale (Guillot et al., 2013) ont permis de mettre en lumière différentes caractéristiques importantes de la relation entre la présence de lésions structurelles d'arthrose et la présence de douleur chronique associée à l'arthrose. Tout d'abord, notre étude pilote démontra que l'absence de lésions radiographiques d'arthrose chez le chat n'est pas synonyme d'absence de lésions structurelles d'arthrose. En effet, un chat ne présentant aucune lésion radiographique dans les articulations coxo-fémorales montra cependant à l'IRM des lésions bilatérales d'ostéophytes, un épanchement articulaire et un amincissement du cartilage articulaire dans l'articulation coxo-fémorale droite. Ce qui est particulièrement intéressant est que ce chat présentait aussi de la douleur (évaluée subjectivement) à la palpation / manipulation de cette dernière articulation. De plus, alors que le score radiographique ne présentait aucune corrélation avec les évaluations objectives de douleur chronique associée à l'arthrose, le score d'IRM présentait

une corrélation négative significative avec la mesure de la force verticale d'appui au sol ($Rh\hat{o} = -0,79$; Figure 2.1-4D). Ainsi, l'évaluation structurelle de l'arthrose chez le chat pourrait être plus sensible en utilisant des séquences d'IRM telles que développées chez l'humain (Ding et al., 2013; Guermazi et al., 2011a; Guermazi et al., 2011b; Peterfy et al., 2006) et le chien (D'Anjou et al., 2008a). Cette évaluation représenterait aussi un meilleur outil pour anticiper le niveau de douleur chronique d'un chat arthrosique. Cela est compréhensible puisque l'IRM, contrairement à la radiographie, permet la détection des lésions de moelle osseuse et d'épanchement articulaire, fortement corrélées avec la douleur chez l'humain (Oda et al., 2008; Sellam and Berenbaum, 2010; Taljanovic et al., 2008; Wenham and Conaghan, 2009) et le chien (Moreau et al., 2013b).

La faible sensibilité de la radiographie pour détecter les lésions structurales d'arthrose a été confirmée par une étude comparant l'évaluation radiographique de 30 chats (15 présentant des lésions d'arthrose et 15 non) avec un examen anatomopathologique macroscopique des articulations (Freire et al., 2011). Dans cette étude 71 % des articulations du genou, 57 % des articulations coxo-fémorales, 57 % des articulations du coude et 46 % des articulations du tarse présentaient des lésions cartilagineuses alors que les radiographies étaient exemptes de lésions d'arthrose. Ainsi, l'examen radiographique seul ne permet pas d'exclure la présence d'arthrose. Malheureusement, le fait que le chat présente le plus souvent de l'arthrose dans plusieurs articulations simultanément rend difficile l'utilisation de l'IRM comme outil de routine. Même en contexte de recherche, les coûts associés et le temps d'anesthésie que nécessiterait l'acquisition de plusieurs articulations (environ une heure par articulation) sont des limitations majeures.

Deux facteurs peuvent aider dans l'approche diagnostic de la maladie. Tout d'abord, l'âge est un facteur fondamental. La prévalence de l'arthrose (comme nous l'avons vu dans le chapitre 1 2 1) augmente fortement avec l'âge (Clarke et al., 2005; Godfrey, 2005; Lascelles et al., 2010b; Slingerland et al., 2011). Ainsi, des radiographies articulaires normales chez un chat âgé de plus de 10 ans sont beaucoup plus douteuses que pour un chat âgé de 6 ans et moins. Ensuite, l'examen orthopédique est le deuxième facteur important à prendre en compte. En effet, l'absence d'anomalie lors de l'examen est très prédictive de radiographies normales (Lascelles et al., 2012; Slingerland et al., 2011). Ainsi, le duo radiographies

normales et examen orthopédique normal est un bon indicateur d'un chat non arthrosique. Aussi, la présence de douleur ou de signes de douleur (problèmes de mobilité particulièrement) en l'absence de lésions radiographiques pourrait bien être un indicateur de présence d'arthrose, particulièrement chez les chats de plus de 6 ans. Cela est soutenu par l'observation de 34 % des articulations douloureuses dans un échantillon de chats âgés sans signe radiographique (Clarke and Bennett, 2006). Par contre, la présence d'arthrose radiographique n'est pas suffisante pour indiquer la présence d'un chat cliniquement affecté par l'arthrose. En effet, deux études ont rapporté que seuls 33 % des chats arthrosiques radiographiquement présentaient des signes de douleur (Godfrey, 2005; Lascelles et al., 2007). De plus, une étude récente a démontré que seules les articulations coxo-fémorales et du tarse présentaient de bonnes valeurs prédictives positives à l'examen clinique (75 et 90 %, respectivement) pour la présence de lésions radiographiques d'arthrose (Lascelles et al., 2012). Il est donc nécessaire de combiner les deux examens pour s'assurer de l'atteinte clinique d'un chat, et les chats présentant des signes de douleur associés à l'arthrose mais pas de lésion radiographique sont des cas délicats.

Ces dernières observations expliquent pourquoi nous avons décidé d'inclure dans notre étude principale (Guillot et al., 2013) un groupe de chats présentant une atteinte douloureuse indicative d'arthrose mais sans signe radiographique (groupe arthrosique 2). Cette inclusion a permis la comparaison objective de ce groupe de chats avec les chats présentant des lésions radiographiques d'arthrose et de la douleur (groupe arthrosique 1) et des chats sans lésion radiographiques ou clinique d'arthrose (groupe arthrosique 0). Comme nous l'avons vu précédemment, les chats du groupe arthrosique 2 présentaient, après l'exercice une force verticale d'appui au sol similaire aux chats du groupe arthrosique 0 et plus élevée que les chats du groupe arthrosique 1 (Figure 2.3-2A). Pour l'activité motrice, les comparaisons entre groupes sont difficiles à interpréter compte tenu de la variabilité interindividuelle élevée. Par contre, les chats du groupe arthrosique 2 ont aussi en moyenne amélioré leur activité motrice lors du traitement au méloxicam indiquant qu'une atteinte de la mobilité était présente au moins pour certains d'entre eux. De plus, bien que ces chats présentassent un seuil de retrait au von Frey plus faible que les chats de groupe arthrosique 0 cette différence n'était pas significative contrairement à celle avec les chats du groupe arthrosique 1 (Figure 2.3-3A). Ce

résultat est en accord avec les résultats de tests sensoriels quantitatifs chez l'humain qui indiquent que les individus arthrosiques les plus symptomatiques présentent aussi des seuils de douleur plus bas (Harden et al., 2013; King et al., 2013). Tous ces résultats combinés tendent à démontrer que les chats arthrosiques douloureux mais sans lésion radiographique sont moins sévèrement atteints que les chats présentant aussi des lésions radiographiques. La présence de signes radiographiques d'arthrose pourrait alors être un indicateur de la sévérité de l'atteinte douloureuse chronique quand celle-ci peut être mise en évidence lors d'un examen orthopédique complet (évaluation de la posture, de la démarche et la palpation / mobilisation des articulations).

3.4 Les options thérapeutiques pour combattre la douleur chronique associée à l'arthrose

3.4.1 Les limites des anti-inflammatoires non stéroïdiens

La réponse positive de l'activité motrice à l'administration d'AINS indique que cette évaluation des handicaps fonctionnels secondaires à la douleur chronique associée à l'arthrose est fortement liée à la composante inflammatoire de cette douleur (Guillot et al., 2013). Cela est aussi supporté par l'absence de corrélation entre l'activité motrice et le seuil de retrait au von Frey ou la réponse à la sommation temporelle mécanique (manuscrit 2.4). Ces deux dernières évaluations de douleur chronique sont principalement reliées au phénomène de sensibilisation centrale. Cela est reflété par l'absence de réponse du seuil de retrait au von Frey à l'administration d'AINS et à la plus faible réponse du groupe de traitement au méloxicam 0,04 mg/kg/d qui présentait un pourcentage élevé de chats hypersensibles (Guillot et al., 2013). Ainsi, la détection des animaux hypersensibles est importante puisqu'elle pourrait permettre d'anticiper un défaut de réponse à un traitement à base d'AINS.

Chez l'humain l'évaluation de l'hypersensibilité est recommandée comme partie intégrante de l'évaluation douloureuse puisque le phénomène de sensibilisation centrale est aussi impliqué dans la chronicisation de la douleur associée à l'arthrose (Arendt-Nielsen et al., 2010; Malfait and Schnitzer, 2013). Ce phénomène est réversible et peut être ciblé par des traitements appropriés comme les bloqueurs des canaux ioniques (les canaux

TRP et les canaux voltage dépendant calciques et sodiques), les antagonistes des récepteurs NMDA et des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine / noradrénaline (Arendt-Nielsen and Graven-Nielsen, 2011; Mease et al., 2011; Staud, 2011; Woolf, 2011). Cette approche est encouragée par les résultats positifs obtenus dans un récent essai clinique testant de manière contrôlée à l'aveugle l'effet de la duloxetine, un anti-dépresseur inhibiteur de la recapture de la sérotonine / noradrénaline, en complément d'un AINS chez des patients arthrosiques (Frakes et al., 2011), ainsi que par les résultats prometteurs de deux études contrôlée à l'aveugle chez le chien arthrosique soumis à un traitement combinant le tramadol (un analgésique mixte faible *mu*-opioïdérique et inhibiteur de la recapture de la sérotonine/noradrénaline) à un AINS (Malek et al., 2012) et à un traitement combinant l'amantadine (un antagoniste des récepteurs NMDA) à un AINS (Lascelles et al., 2008a).

3.4.2 Les nombreuses options potentielles adaptées à la physiopathologie de l'arthrose

Actuellement chez l'humain la base thérapeutique pour la douleur arthrosique est l'utilisation seule ou combinée d'acétaminophène, d'AINS, d'opioïdes et d'injections intra-articulaire d'acide hyaluronique ou de glucocorticoïdes. De nombreux essais cliniques sont toujours effectués pour tester de nouvelles formulations ou de nouveaux dérivés de ces molécules (Martel-Pelletier et al., 2012; Matthews and Hunter, 2011). Pourtant, malgré une certaine efficacité à court terme ou chez certains patients, plus de 75% d'entre eux rapportent le besoin de traitements additionnels (Matthews and Hunter, 2011). Cela encourage donc à chercher des voies différentes de traitement pour combattre la douleur, symptôme majeur et débilitant de la maladie, en se basant sur les connaissances physiopathologiques de la maladie. Un raisonnement identique s'offre à nous chez le chat au vu de l'efficacité potentiellement limitée d'un traitement AINS et nous nous proposons ici de souligner certaines cibles qui démontrent un potentiel intéressant dans le traitement de la douleur chronique associée à l'arthrose.

L'inhibition des canaux ioniques est une voie charmante puisqu'elle permettrait de bloquer la douleur à sa source et empêcherait (ou du moins limiterait) la mise en place du phénomène de sensibilisation centrale. Tout d'abord, le récepteur TRPV1 a reçu beaucoup

d'attention puisqu'il est au cœur de la sensibilisation des fibres nerveuses et qu'il est présent au niveau des chondrocytes, des ostéoblastes, des ostéoclastes et des fibroblastes de la membrane synoviale (Martel-Pelletier et al., 2012; Matthews and Hunter, 2011). Le récepteur TRPV1, connu aussi sous le nom de récepteur à la capsaïcine, est un nocicepteur polymodal qui peut être activé par de nombreux effecteurs comme la capsaïcine, la chaleur, les protons, de nombreuses protéines de l'inflammation telles la bradykinine, la sérotonine l'histamine et les prostaglandines. La stimulation du récepteur TRPV1 conduit à une entrée intracellulaire de calcium qui induit la formation d'un potentiel d'action et la sensibilisation nerveuse. Deux options sont disponibles pour contrer son action : i) l'utilisation d'un agoniste que se lie (*e.g.* la capsaïcine et ses analogues) au récepteur entraînant une sensation de chaleur passagère puis une inactivation du canal à long terme ; ii) l'utilisation d'un antagoniste. Une association entre le gène TRPV1 et le risque de développer de l'arthrose symptomatique du genou a même été détectée (Valdes et al., 2011). La modulation du récepteur TRPV1 a semblé avoir un bon potentiel pour diminuer les douleurs associées à l'inflammation et à l'arthrose (Brederson et al., 2012; Chu et al., 2011; Fernihough et al., 2005). Les effets secondaires des antagonistes sur le système de thermorégulation ont malheureusement conduit à l'arrêt des essais cliniques de ces molécules (Matthews and Hunter, 2011). Par contre, l'utilisation des agonistes semble aussi prometteuse avec moins d'effets secondaires que ce soit sous forme de crème ou d'injection (Remadevi and Szallisi, 2008). Les canaux calciques activés par les hauts voltages ont aussi été la cible de développements intéressants. Par exemple, la prégabaline, qui agit au niveau présynaptique pour bloquer les canaux calciques de type N *via* la sous-unité $\alpha_2\beta_1$, a montré des résultats encourageant (diminution de l'indice de douleur et amélioration du sommeil) lors d'un essai clinique randomisé, contrôlé sur des patients coxarthrosiques (Farrar et al., 2001), ainsi que de très bons résultats lors d'une association avec un AINS (Ohtori et al., 2013). Aussi un analogue à la prégabaline a limité les dommages structuraux dans un modèle expérimental d'arthrose canine (Boileau et al., 2005). Finalement, cibler les canaux sodiques (Nav 1.3, Nav 1.7, Nav 1.8 ou Nav 1.9) qui sont aussi essentiels à la genèse et la propagation des potentiels d'action des neurones sensoriels a montré des résultats prometteurs dans des modèles précliniques de douleur chronique (Priest, 2009) menant au développement du lacosamide et du ralfinamide. Ces canaux pourraient donc aussi être une

cible intéressante pour la douleur chronique associée à l'arthrose (Matthews and Hunter, 2011).

Du fait du rôle important du NGF dans la sensibilisation des nerfs périphériques (Table 1.2-3) ce facteur de croissance a aussi reçu beaucoup d'attention ces dernières années. De manière intéressante, les souris transgéniques *knockout* sont hypoalgésiques (Davis et al., 1993), alors que les souris transgéniques sur-exprimant le NGF sont hyperalgésiques (Davis et al., 1993). De plus, les anticorps anti-NGF sont capables d'abolir l'allodynie générée dans des modèles de douleur inflammatoire et neuropathique (Wild et al., 2007). Le développement du tanezumab, un anticorps monoclonal anti-NGF a démontré une diminution significative de la douleur chronique associée à l'arthrose chez l'humain dans plusieurs études (Brown et al., 2012; Lane et al., 2010; Nagashima et al., 2011; Schnitzer et al., 2011). Malheureusement, le développement de cette molécule est actuellement arrêtée du fait de l'augmentation du nombre de chirurgies de remplacement articulaire dans les groupes traités du fait de l'aggravation des lésions structurelles d'arthrose (Chevalier et al., 2013).

Un article récent testant l'efficacité d'un agent ciblant le protéosome dans un modèle murin d'arthrose rappelle qu'il est possible de conjointement diminuer la douleur et de protéger la structure articulaire (Ahmed et al., 2012). De manière générale, les traitements qui visent à protéger la structure articulaire ou à contrecarrer sa destruction sont appelés *disease-modifying osteoarthritis drugs* pour les opposer aux traitements uniquement symptomatiques et palliatifs (Hunter, 2011). Mais ces médicaments peuvent aussi avoir un effet bénéfique sur la douleur arthrosique surtout lorsqu'ils ciblent l'os sous-chondral ou la membrane synoviale puisque leurs lésions sont bien corrélées avec le niveau de douleur. Mais les études utilisant ces agents n'utilisent pas nécessairement la diminution de la douleur comme objectif à atteindre. Ainsi une homogénéisation des objectifs et des mesures lors des essais sur l'arthrose serait bénéfique (Malfait et al., 2013). Nous ne ferons pas ici une liste exhaustive de ces agents, mais il est important de citer ceux qui ont démontré une efficacité ou sont prometteurs comme ceux qui ciblent le cartilage : la glucosamine, les injections intra-articulaires d'acide hyaluronique, la chondroïtine sulfate ou l'os sous-chondral : les biphosphonates, le ranelate de strontium, la calcitonine, les inhibiteurs de la cathepsine K, les inhibiteurs du TGF- β 1

(Chevalier et al., 2013; Henrotin et al., 2013; Hochberg et al., 2013; Hunter, 2011; Martel-Pelletier et al., 2012; Moreau et al., 2011; Pelletier et al., 2013; Pelletier et al., 2011; Reginster et al., 2013; Zhen et al., 2013).

Cibler l'inflammation sous ces différentes formes est aussi une stratégie compatible avec le principe de *disease-modifying osteoarthritis drugs*. C'est aussi une manière intéressante à empêcher la mise en place de la sensibilisation douloureuse. L'IL-1 β et le TNF- α ont été la cible de nombreuses études compte tenu de leur rôle central dans la physiopathologie de l'arthrose. Malheureusement, pour l'instant aucune étude utilisant une thérapie anti-IL-1 β intra-articulaire ou systémique n'a démontré d'efficacité clinique chez les patients arthrosiques. De même, les thérapies anti-TNF- α ont échoué à montrer une efficacité clinique (Alcaraz et al., 2010; Chevalier et al., 2013; Martel-Pelletier et al., 2012) De même les inhibiteurs du NO n'ont pas obtenu les résultats escomptés malgré son rôle important dans l'inflammation synoviale (Chevalier et al., 2013). Une approche alternative serait de bloquer d'autres voies comme l'action de l'IL-6, de PAR-2, de PPAR-*gamma*, des MMP, des ADAMTS ou encore les voies de signalisation comme *Wnt*/ β -*caténine*, et les voies de signalisation des protéines kinases activées par les substances mitogènes N-terminale c-Jun et p38 (Amiable et al., 2011; Boileau et al., 2005; Boileau et al., 2010; Boileau et al., 2007; Chevalier et al., 2013; Kapoor et al., 2011; Kwan Tat et al., 2009; Martel-Pelletier et al., 2012; Monfort et al., 2008).

Finalement, les voies de l'acide arachidonique qui sont classiquement exploitées par les AINS et leur inhibition de la PGE₂ peuvent aussi être ciblées de manière intéressante via les leukotriènes. En effet, les leukotriènes et les prostaglandines ont des effets complémentaires dans le développement et la persistance de l'inflammation. Les leukotriènes sont produits par l'enzyme 5-lipoxygénase (5-LOX). Un inhibiteur COX/5-LOX a été développé, la licofélone, et a démontré un effet anti-inflammatoire et protecteur de la structure de l'articulation intéressant dans un modèle d'arthrose canin (Moreau et al., 2006) et l'humain (Raynauld et al., 2009). Malheureusement le développement de la licofélone a été arrêté, bien que cette approche semblât prometteuse (Martel-Pelletier et al., 2012).

3.5 Le chat arthrosique : un modèle naturel de douleur arthrosique pour l'humain ?

Pour terminer cette discussion, nous proposons de mettre en perspective les avancées majeures faites pour l'espèce féline dans un contexte plus global. Les modèles de douleur arthrosique basés sur l'utilisation d'animaux de laboratoire où l'arthrose est induite principalement chez la souris, le rat et le lapin chimiquement, chirurgicalement, ou de manière spontanée comme chez le cochon d'inde Dunklin-Hartley et les souris génétiquement modifiés telles les souris C57B16 ont contribué à mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de la douleur arthrosique et à évaluer le potentiel analgésique de certaines molécules (Guzman et al., 2003; Jimenez et al., 1997; Little and Zaki, 2012; McDougall et al., 2009; McDougall et al., 2010; Schuelert and McDougall, 2009; Teeple et al., 2013; van den Berg, 2008; Zhang et al., 2013). Cependant, ces modèles ont de la difficulté à prédire adéquatement l'efficacité analgésique chez l'humain (Kola and Landis, 2004; Langley et al., 2008; Mogil, 2009; Vierck et al., 2008). L'utilisation des modèles naturels est une alternative intellectuellement intéressante et éthique aux modèles induits et spontanés qu'il est important de souligner (Lascelles, 2010a; Vainio, 2012). Tous les mammifères peuvent développer de l'arthrose dont les lésions sont similaires aux lésions rencontrées chez l'humain telles que décrites par exemple chez les rongeurs (Bendele et al., 1989; Walton, 1977), les primates non humains (Carlson et al., 1994), le cheval (Cruz and Hurtig, 2008), les bovins (Hargrave-Thomas et al., 2013; Heinola et al., 2013), le chien (Beale, 2005; Sanderson et al., 2009) et le chat (Beale, 2005; Lascelles, 2010b; Ryan et al., 2013). Parmi ces animaux, les populations cliniques les plus nombreuses, les plus accessibles et intéressantes au niveau de la taille (aisance des prélèvements sanguins, des examens d'imagerie et de tester des médicaments à administration intra-articulaire, orale et systémique) sont les chiens et les chats.

Les avantages recherchés dans l'utilisation d'un modèle naturel d'une condition chronique sont le fait d'avoir une maladie qui progresse lentement de manière similaire à l'humain, qui tient compte de l'âge dans son évolution et qui permet éventuellement de comprendre sa variabilité interindividuelle et génétique (Poole et al., 2010). L'arthrose est un

syndrome de défaillance articulaire d'origine multifactorielle due à la combinaison de facteurs prédisposants (génétique, déficit en œstrogène, vieillissement tissulaire) et de facteurs de risque (obésité, déformations articulaires, blessure et usage intensif de l'articulation) conduisant à l'initiation et au développement de la maladie (Berenbaum et al., 2013; Loeser, 2013; Loeser et al., 2012; Rannou et al., 2010). Chez le chien et le chat l'arthrose est aussi d'origine multifactorielle. Un rôle important de la génétique a été démontré chez le chien chez qui l'arthrose secondaire aux dysplasies de la hanche et des coudes est associée à des anomalies de développement héréditaires d'origine polygénique (Cachon et al., 2010; Guo et al., 2011). Deux polymorphismes d'un nucléotide et des gènes candidats associés à l'arthrose ont aussi été identifiés chez le chien, dont certains sont similaires aux gènes mis de l'avant chez l'humain (Valdes and Spector, 2010; Valdes and Spector, 2011; Zhou et al., 2010). De plus, L'arthrose canine a démontré des homologies structurelles, macroscopiques et histologiques (Proffen et al., 2012), génomiques et moléculaires (Lorenz et al., 2005), à l'arthrose humaine dite post-traumatique (Little and Hunter, 2013). Chez le chat, les facteurs génétiques ne sont pas encore bien investigués, mais pourraient avoir un rôle important (Gao et al., 2013). Le rôle des hormones sexuels est difficile à établir du fait du taux élevé d'animaux stérilisés. L'obésité ne semble pas un facteur de risque chez le chat contrairement à l'humain et au chien (Beale, 2005; Bennett et al., 2012; Lascelles, 2010b; Rychel, 2010). Finalement, chez le chien, l'arthrose est plus fréquente chez les grandes races chez qui la plupart du temps elle est secondaire soit à une rupture d'un ligament croisé crânial du genou, soit à une incongruité articulaire (Rychel, 2010). Chez le chat, l'arthrose idiopathique semble être la plus prépondérante (Bennett et al., 2012).

Chez l'humain, la douleur arthrosique est la première cause de consultation liée à l'arthrose. Elle est rapportée comme ayant deux composantes principales. La première se développe et peut devenir constante et est décrite comme sourde et persistante. La deuxième composante est représentée par des épisodes courts, intenses et non prévisibles. Ces épisodes sont émotionnellement très épuisants et interfèrent sur les activités sociales de l'individu (Kidd, 2006; Somers et al., 2009). La douleur peut survenir lors de l'exercice, du mouvement ou du maintien. Elle se déclenche parfois au repos ou la nuit. Finalement, elle peut être localisée, diffuse ou reportée (Creamer, 2009). Il y a souvent une dissociation entre le

développement de la douleur et les événements physiopathologiques (Conaghan, 2009). Néanmoins, il ressort que deux types de lésions sont le plus souvent associées avec la présence et l'évolution de la douleur d'origine arthrosique : la présence de lésions de l'os sous-chondral et la présence de synovite et d'effusion détectées par IRM (Hunter et al., 2013). Chez le chien et le chat, les lésions d'effusion et de moelle osseuse sont détectables par IRM (Boileau et al., 2008; d'Anjou et al., 2008b; Guillot et al., 2012). Ces mêmes lésions sont aussi corrélées avec le niveau de douleur chez le chien (Moreau et al., 2013b). Chez le chat, la corrélation négative entre le score structurel d'arthrose à l'IRM et l'appui vertical de force au sol (utilisé comme marqueur d'handicap fonctionnel secondaire à la douleur chronique associée à l'arthrose) est encourageante mais devra être confirmée dans un échantillon plus grand (Guillot et al., 2012).

L'articulation est innervée dans la capsule articulaire, la synovie, le périoste, l'os sous-chondral, les ligaments et les muscles. Ces composantes participent à la nociception lors du développement de la maladie notamment en réponse à la production de cytokines pro-inflammatoires (IL1- β , TNF- α , IL-6, IL-8), de prostaglandines et de NO. Ces molécules vont aussi participer à la mise en place d'une sensibilisation périphérique s'exprimant par la présence d'hyperalgésie primaire et d'allodynie mécanique localisée chez les patients arthrosiques. Cette sensibilisation périphérique est favorisée par l'activation de neuropeptides (SP, CGRP, VIP), des canaux TRPV1, de purinorécepteurs et de nombreux médiateurs de douleur (bradykinines, sérotonine, leukotriènes et histamine) (Kidd and McDougall, 2009). Alors que la sensibilisation périphérique devient persistante, se développe une sensibilisation centrale spinale indiquée par l'hyperalgésie secondaire et les douleurs référées (Malfait and Schnitzer, 2013; Sofat et al., 2011; Suokas et al., 2012; Woolf, 2011). De la même manière que pour l'humain, les voies moléculaires étant pour la plupart élucidées *in vitro* ou dans des modèles induits, les voies moléculaires de la douleur devront être confirmées chez les populations cliniques canines et félines. Par contre de manière très intéressante, l'hypermensibilité semble être une composante importante de la douleur chronique associée à l'arthrose naturelle chez le chien (Brydges et al., 2012) et le chat (Guillot et al., 2013). Finalement, l'imagerie cérébrale fonctionnelle par TEP au FDG ouvre la possibilité d'explorer les changements supraspinaux. Chez le chat la douleur chronique associée à l'arthrose

s'exprime par des changements compatibles avec une activité nociceptive soutenue et l'activation des systèmes de modulation de la douleur tels que déjà décrits chez l'humain.

Les facteurs psycho-sociaux sont aussi au moins importants que les phénomènes biologiques dans l'expérience douloureuse des personnes arthrosiques. La relation entre ces facteurs est cependant complexe puisque les dimensions psycho-sociales influencent la perception de la douleur et que la présence de douleur influe sur ces facteurs et le bien-être (Backman, 2006; Keefe and Somers, 2010). L'importance de la dimension psycho-sociale est soutenue par des études d'imagerie cérébrale qui mettent en avant le rôle des voies cérébrales émotionnelles et cognitives dans la perception de la douleur chronique associée à l'arthrose (Bradley, 2004; Parks et al., 2011). Il est aussi bien établi que de très nombreux facteurs sont associés à la douleur arthrosique : l'augmentation du niveau de fatigue, la diminution de l'activité physique, la diminution des activités sociales et familiales, l'augmentation du niveau de détresse psychologique, d'anxiété et de dépression (Backman, 2006; Keefe and Somers, 2010; Somers et al., 2009). Chez le chien, la diminution d'appui vertical au sol comme marqueur de handicaps fonctionnels secondaires à la douleur arthrosique est le standard d'évaluation (Beraud et al., 2010; McLaughlin, 2001). Cette évaluation a ainsi permis la validation de nombreux traitements analgésiques chez cette espèce en milieu clinique (Horstman et al., 2004; Moreau et al., 2003; Moreau et al., 2012a; Moreau et al., 2012b). À la différence des modèles induits chez les petits animaux de laboratoire, le modèle de rupture du ligament croisé crânial chez le chien présente une excellente prédiction translationnelle de réponse thérapeutique, vis-à-vis de l'arthrose naturelle, que ce soit chez le chien, ou l'humain (Moreau et al., 2013b). Chez le chat, comme nous l'avons décrits dans cette thèse, les handicaps fonctionnels secondaires à la douleur chronique associée à l'arthrose (diminution de la force d'appui au sol et de l'activité motrice) ont aussi beaucoup d'importance (Guillot et al., 2012; Guillot et al., 2013). Mais l'arthrose est aussi associée à de nombreux changements psycho-sociaux s'exprimant par des changements de comportements synthétisés dans la Table 1.2-1 qui se rapprochent de ceux décrits chez l'humain.

En conclusion, bien que le chien et le chat présentent une progression de l'arthrose similaire à celle de l'humain, le chien est l'animal chez lequel la physiopathologie des événements cellulaires et biochimiques a été la mieux caractérisée (Brandt, 2002). Cependant,

la plupart de ces informations découlent d'une arthrose induite de manière chirurgicale et non d'une population d'évolution naturelle et devront être confirmées. Le chien est un modèle présentant beaucoup d'avantages si l'on considère que la physiopathologie de l'initiation et du développement de l'arthrose est bien établie. Il pourrait être considéré comme un modèle naturel d'arthrose post-traumatique ou d'instabilité articulaire. Le chat présente l'avantage de développer la maladie avec l'âge et de présenter parallèlement une forte composante psychosociale. Bien que l'évolution physiopathologique macroscopique soit similaire à l'humain, il faudrait mieux caractériser la composante biochimique et cellulaire. Le chat serait alors un excellent modèle d'arthrose naturelle idiopathique ou secondaire au vieillissement et aussi un bon candidat pour étudier les variations génétiques associées à l'initiation et au développement de l'arthrose. De plus, le développement de l'imagerie cérébrale fonctionnelle chez le chat est un atout majeur pour de futures études translationnelles.

3.6 Sources documentaires

- Ahmed AS, Li J, Erlandsson-Harris H, et al. (2012) Suppression of pain and joint destruction by inhibition of the proteasome system in experimental osteoarthritis. *Pain* 153: 18-26.
- Alcaraz MJ, Megias J, Garcia-Armandis I, et al. (2010) New molecular targets for the treatment of osteoarthritis. *Biochem Pharmacol* 80: 13-21.
- Almeida TF, Roizenblatt S and Tufik S. (2004) Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res* 1000: 40-56.
- Amiable N, Martel-Pelletier J, Lussier B, et al. (2011) Proteinase-activated receptor-2 gene disruption limits the effect of osteoarthritis on cartilage in mice: a novel target in joint degradation. *J Rheumatol* 38: 911-920.
- Arendt-Nielsen L and Graven-Nielsen T. (2011) Translational musculoskeletal pain research. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 25: 209-226.
- Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, et al. (2010) Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 149: 573-581.
- Backman CL. (2006) Arthritis and pain. Psychosocial aspects in the management of arthritis pain. *Arthritis Res Ther* 8: 221.

- Beale BS. (2005) Orthopedic problems in geriatric dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 655-674.
- Beckwee D, Vaes P, Cnudde M, et al. (2013) Osteoarthritis of the knee: why does exercise work? A qualitative study of the literature. *Ageing Res Rev* 12: 226-236.
- Bendele AM, White SL and Hulman JF. (1989) Osteoarthrosis in guinea pigs: histopathologic and scanning electron microscopic features. *Lab Anim Sci* 39: 115-121.
- Benito J, Depuy V, Hardie E, et al. (2013a) Reliability and discriminatory testing of a client-based metrology instrument, feline musculoskeletal pain index (FMPI) for the evaluation of degenerative joint disease-associated pain in cats. *Vet J* 196: 368-373.
- Benito J, Hansen B, Depuy V, et al. (2013b) Feline musculoskeletal pain index: responsiveness and testing of criterion validity. *J Vet Intern Med* 27: 474-482.
- Bennett D and Morton C. (2009) A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *J Feline Med Surg* 11: 997-1004.
- Bennett D, Zainal Ariffin SM and Johnston P. (2012) Osteoarthritis in the cat: 1. how common is it and how easy to recognise? *J Feline Med Surg* 14: 65-75.
- Beraud R, Moreau M and Lussier B. (2010) Effect of exercise on kinetic gait analysis of dogs afflicted by osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol* 23: 87-92.
- Berenbaum F, Eymard F and Houard X. (2013) Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Curr Opin Rheumatol* 25: 114-118.
- Berns GS, Brooks AM and Spivak M. (2012) Functional MRI in awake unrestrained dogs. *PLoS One* 7: e38027.
- Boettger MK, Leuchtweis J, Schaible HG, et al. (2011) Videoradiographic analysis of the range of motion in unilateral experimental knee joint arthritis in rats. *Arthritis Res Ther* 13: R79.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Abram F, et al. (2008) Magnetic resonance imaging can accurately assess the long-term progression of knee structural changes in experimental dog osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 67: 926-932.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Brunet J, et al. (2005) Oral treatment with PD-0200347, an alpha2delta ligand, reduces the development of experimental osteoarthritis by

- inhibiting metalloproteinases and inducible nitric oxide synthase gene expression and synthesis in cartilage chondrocytes. *Arthritis Rheum* 52: 488-500.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Caron J, et al. (2010) Oral treatment with a *Brachyostemma calycinum* D don plant extract reduces disease symptoms and the development of cartilage lesions in experimental dog osteoarthritis: inhibition of protease-activated receptor 2. *Ann Rheum Dis* 69: 1179-1184.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Fahmi H, et al. (2007) The peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist pioglitazone reduces the development of cartilage lesions in an experimental dog model of osteoarthritis: in vivo protective effects mediated through the inhibition of key signaling and catabolic pathways. *Arthritis Rheum* 56: 2288-2298.
- Borsook D and Becerra L. (2011) CNS animal fMRI in pain and analgesia. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 1125-1143.
- Boyce-Rustay JM, Zhong C, Kohnken R, et al. (2010) Comparison of mechanical allodynia and the affective component of inflammatory pain in rats. *Neuropharmacology* 58: 537-543.
- Bradley LA. (2004) Recent approaches to understanding osteoarthritis pain. *J Rheumatol Suppl* 70: 54-60.
- Brandt KD. (2002) Animal models of osteoarthritis. *Biorheology* 39: 221-235.
- Brederson JD, Chu KL, Reilly RM, et al. (2012) TRPV1 antagonist, A-889425, inhibits mechanotransmission in a subclass of rat primary afferent neurons following peripheral inflammation. *Synapse* 66: 187-195.
- Breivik H, Borchgrevink PC, Allen SM, et al. (2008) Assessment of pain. *Br J Anaesth* 101: 17-24.
- Brown MT, Murphy FT, Radin DM, et al. (2012) Tanezumab reduces osteoarthritic knee pain: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. *J Pain* 13: 790-798.
- Brydges NM, Argyle DJ, Mosley JR, et al. (2012) Clinical assessments of increased sensory sensitivity in dogs with cranial cruciate ligament rupture. *Vet J* 193: 545-550.

- Cachon T, Genevois JP, Remy D, et al. (2010) Risk of simultaneous phenotypic expression of hip and elbow dysplasia in dogs: a study of 1,411 radiographic examinations sent for official scoring. *Vet Comp Orthop Traumatol* 23: 28-30.
- Carlson CS, Loeser RF, Jayo MJ, et al. (1994) Osteoarthritis in cynomolgus macaques: a primate model of naturally occurring disease. *J Orthop Res* 12: 331-339.
- Chevalier X, Eymard F and Richette P. (2013) Biologic agents in osteoarthritis: hopes and disappointments. *Nat Rev Rheumatol* 9: 400-410.
- Chu KL, Chandran P, Joshi SK, et al. (2011) TRPV1-related modulation of spinal neuronal activity and behavior in a rat model of osteoarthritic pain. *Brain Res* 1369: 158-166.
- Cifuentes DJ, Rocha LG, Silva LA, et al. (2010) Decrease in oxidative stress and histological changes induced by physical exercise calibrated in rats with osteoarthritis induced by monosodium iodoacetate. *Osteoarthritis Cartilage* 18: 1088-1095.
- Clarke SP and Bennett D. (2006) Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *J Small Anim Pract* 47: 439-445.
- Clarke SP, Mellor D, Clements DN, et al. (2005) Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Vet Rec* 157: 793-799.
- Conaghan PG. (2009) Structural correlates of osteoarthritis pain: lessons from magnetic resonance imaging. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 185-198.
- Creamer P. (2009) Current perspectives on the clinical presentation of joint pain in human osteoarthritis. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 211-228.
- Cruz AM and Hurtig MB. (2008) Multiple pathways to osteoarthritis and articular fractures: is subchondral bone the culprit? *Vet Clin North Am Equine Pract* 24: 101-116.
- d'Anjou MA, Moreau M, Troncy E, et al. (2008a) Osteophytosis, subchondral bone sclerosis, joint effusion and soft tissue thickening in canine experimental stifle osteoarthritis: comparison between 1.5 T magnetic resonance imaging and computed radiography. *Vet Surg* 37: 166-177.
- d'Anjou MA, Troncy E, Moreau M, et al. (2008b) Temporal assessment of bone marrow lesions on magnetic resonance imaging in a canine model of knee osteoarthritis: impact of sequence selection. *Osteoarthritis Cartilage* 16: 1307-1311.

- Davis BM, Lewin GR, Mendell LM, et al. (1993) Altered expression of nerve growth factor in the skin of transgenic mice leads to changes in response to mechanical stimuli. *Neuroscience* 56: 789-792.
- Ding C, Zhang Y and Hunter D. (2013) Use of imaging techniques to predict progression in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 25: 127-135.
- Farrar JT, Young JP, Jr., LaMoreaux L, et al. (2001) Clinical importance of changes in chronic pain intensity measured on an 11-point numerical pain rating scale. *Pain* 94: 149-158.
- Fernihough J, Gentry C, Bevan S, et al. (2005) Regulation of calcitonin gene-related peptide and TRPV1 in a rat model of osteoarthritis. *Neurosci Lett* 388: 75-80.
- Frakes EP, Risser RC, Ball TD, et al. (2011) Duloxetine added to oral nonsteroidal anti-inflammatory drugs for treatment of knee pain due to osteoarthritis: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Curr Med Res Opin* 27: 2361-2372.
- Freire M, Robertson I, Bondell HD, et al. (2011) Radiographic evaluation of feline appendicular degenerative joint disease vs. macroscopic appearance of articular cartilage. *Vet Radiol Ultrasound* 52: 239-247.
- Galois L, Etienne S, Grossin L, et al. (2004) Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage* 12: 779-786.
- Gao X, Lee J, Malladi S, et al. (2013) Feline degenerative joint disease: a genomic and proteomic approach. *J Feline Med Surg* 15: 466-477.
- Godfrey DR. (2005) Osteoarthritis in cats: a retrospective radiological study. *J Small Anim Pract* 46: 425-429.
- Guermazi A, Roemer FW, Burstein D, et al. (2011a) Why radiography should no longer be considered a surrogate outcome measure for longitudinal assessment of cartilage in knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 13: 247.
- Guermazi A, Roemer FW and Hayashi D. (2011b) Imaging of osteoarthritis: update from a radiological perspective. *Curr Opin Rheumatol* 23: 484-491.
- Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, et al. (2012) Evaluation of osteoarthritis in cats: novel information from a pilot study. *Vet Surg* 41: 328-335.
- Guillot M, Moreau M, Heit M, et al. (2013) Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Vet J* 196: 360-367.

- Gunew MN, Menrath VH and Marshall RD. (2008) Long-term safety, efficacy and palatability of oral meloxicam at 0.01-0.03 mg/kg for treatment of osteoarthritic pain in cats. *J Feline Med Surg* 10: 235-241.
- Guo G, Zhou Z, Wang Y, et al. (2011) Canine hip dysplasia is predictable by genotyping. *Osteoarthritis Cartilage* 19: 420-429.
- Guzman RE, Evans MG, Bove S, et al. (2003) Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicol Pathol* 31: 619-624.
- Gwilym SE, Keltner JR, Warnaby CE, et al. (2009) Psychophysical and functional imaging evidence supporting the presence of central sensitization in a cohort of osteoarthritis patients. *Arthritis Rheum* 61: 1226-1234.
- Harden RN, Wallach G, Gagnon CM, et al. (2013) The osteoarthritis knee model: psychophysical characteristics and putative outcomes. *J Pain* 14: 281-289.
- Hargrave-Thomas EJ, Thambyah A, McGlashan SR, et al. (2013) The bovine patella as a model of early osteoarthritis. *J Anat* 223: 651-664.
- Heinola T, de Grauw JC, Virkki L, et al. (2013) Bovine chronic osteoarthritis causes minimal change in synovial fluid. *J Comp Pathol* 148: 335-344.
- Henrotin Y, Chevalier X, Herrero-Beaumont G, et al. (2013) Physiological effects of oral glucosamine on joint health: current status and consensus on future research priorities. *BMC Res Notes* 6: 115.
- Hernandez-Molina G, Reichenbach S, Zhang B, et al. (2008) Effect of therapeutic exercise for hip osteoarthritis pain: results of a meta-analysis. *Arthritis Rheum* 59: 1221-1228.
- Herzog W, Adams ME, Matyas JR, et al. (1993) Hindlimb loading, morphology and biochemistry of articular cartilage in the ACL-deficient cat knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1: 243-251.
- Hjelm-Bjorkman AK, Kapatkin AS and Rita HJ. (2011) Reliability and validity of a visual analogue scale used by owners to measure chronic pain attributable to osteoarthritis in their dogs. *Am J Vet Res* 72: 601-607.
- Hochberg M, Chevalier X, Henrotin Y, et al. (2013) Symptom and structure modification in osteoarthritis with pharmaceutical-grade chondroitin sulfate: what's the evidence? *Curr Med Res Opin* 29: 259-267.

- Horstman CL, Conzemius MG, Evans R, et al. (2004) Assessing the efficacy of perioperative oral carprofen after cranial cruciate surgery using noninvasive, objective pressure platform gait analysis. *Vet Surg* 33: 286-292.
- Hunter DJ. (2011) Pharmacologic therapy for osteoarthritis--the era of disease modification. *Nat Rev Rheumatol* 7: 13-22.
- Hunter DJ, Guermazi A, Roemer F, et al. (2013) Structural correlates of pain in joints with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1170-1178.
- Jimenez PA, Glasson SS, Trubetskoy OV, et al. (1997) Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Lab Anim Sci* 47: 598-601.
- Jull G and Sterling M. (2009) Bring back the biopsychosocial model for neck pain disorders. *Man Ther* 14: 117-118.
- Junot S, Troncy E and Frank D. (2007) Comment diagnostiquer la douleur. *Le médecin vétérinaire du Québec* 36: 9-16.
- Kapoor M, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, et al. (2011) Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7: 33-42.
- Keefe FJ and Somers TJ. (2010) Psychological approaches to understanding and treating arthritis pain. *Nat Rev Rheumatol* 6: 210-216.
- Kidd BL. (2006) Osteoarthritis and joint pain. *Pain* 123: 6-9.
- Kidd BL and McDougall JJI. (2009) Inflammatory mediators and nociception in osteoarthritis. In: Felson DT and Schaible H-G (eds) *Pain in osteoarthritis* Hoboken, NJ, USA.: Edition Wiley-Blackwell, 55-72.
- Kim JS, Lee JS, Park MH, et al. (2008) Assessment of cerebral glucose metabolism in cat deafness model: strategies for improving the voxel-based statistical analysis for animal PET studies. *Mol Imaging Biol* 10: 154-161.
- King CD, Sibille KT, Goodin BR, et al. (2013) Experimental pain sensitivity differs as a function of clinical pain severity in symptomatic knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1243-1252.
- Klinck MP, Frank D, Guillot M, et al. (2011) Validation and Reliability Testing of a Feline Osteoarthritis Pain Scale for Use by Veterinarians. *Proceedings of the 2011 ACVB/AVSAB Veterinary behavior symposium*. St-Louis, MI.

- Klinck MP, Frank D, Guillot M, et al. (2012) Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Can Vet J* 53: 1181-1186.
- Kola I and Landis J. (2004) Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nat Rev Drug Discov* 3: 711-715.
- Kulkarni B, Bentley DE, Elliott R, et al. (2007) Arthritic pain is processed in brain areas concerned with emotions and fear. *Arthritis Rheum* 56: 1345-1354.
- Kwan Tat S, Amiable N, Pelletier JP, et al. (2009) Modulation of OPG, RANK and RANKL by human chondrocytes and their implication during osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 48: 1482-1490.
- Lane NE, Schnitzer TJ, Birbara CA, et al. (2010) Tanezumab for the treatment of pain from osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med* 363: 1521-1531.
- Langley CK, Aziz Q, Bountra C, et al. (2008) Volunteer studies in pain research--opportunities and challenges to replace animal experiments: the report and recommendations of a Focus on Alternatives workshop. *Neuroimage* 42: 467-473.
- Lascelles BD. (2010a) Do Animal Models Tell Us about Human Pain? *Pain Clinical Updates* 18.
- Lascelles BD. (2010b) Feline degenerative joint disease. *Vet Surg* 39: 2-13.
- Lascelles BD, DePuy V, Thomson A, et al. (2010a) Evaluation of a therapeutic diet for feline degenerative joint disease. *J Vet Intern Med* 24: 487-495.
- Lascelles BD, Dong YH, Marcellin-Little DJ, et al. (2012) Relationship of orthopedic examination, goniometric measurements, and radiographic signs of degenerative joint disease in cats. *BMC Vet Res* 8: 10.
- Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES, et al. (2008a) Amantadine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med* 22: 53-59.
- Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, et al. (2007) Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 21: 410-416.
- Lascelles BD, Hansen BD, Thomson A, et al. (2008b) Evaluation of a digitally integrated accelerometer-based activity monitor for the measurement of activity in cats. *Vet Anaesth Analg* 35: 173-183.

- Lascelles BD, Henderson AJ and Hackett IJ. (2001) Evaluation of the clinical efficacy of meloxicam in cats with painful locomotor disorders. *J Small Anim Pract* 42: 587-593.
- Lascelles BD, Henry JB, 3rd, Brown J, et al. (2010b) Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Vet Surg* 39: 535-544.
- Leong DJ, Hardin JA, Cobelli NJ, et al. (2011) Mechanotransduction and cartilage integrity. *Ann N Y Acad Sci* 1240: 32-37.
- Little CB and Hunter DJ. (2013) Post-traumatic osteoarthritis: from mouse models to clinical trials. *Nat Rev Rheumatol* 9: 485-497.
- Little CB and Zaki S. (2012) What constitutes an "animal model of osteoarthritis"--the need for consensus? *Osteoarthritis Cartilage* 20: 261-267.
- Livingston A. (2010) Pain and analgesia in domestic animals. *Handb Exp Pharmacol*: 159-189.
- Loeser RF. (2013) Aging processes and the development of osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 25: 108-113.
- Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al. (2012) Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ. *Arthritis Rheum* 64: 1697-1707.
- Lomas LM and Picker MJ. (2005) Behavioral assessment of temporal summation in the rat: sensitivity to sex, opioids and modulation by NMDA receptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 180: 84-94.
- Lorenz H, Wenz W, Ivancic M, et al. (2005) Early and stable upregulation of collagen type II, collagen type I and YKL40 expression levels in cartilage during early experimental osteoarthritis occurs independent of joint location and histological grading. *Arthritis Res Ther* 7: R156-165.
- Lynch JJ, 3rd, Wade CL, Zhong CM, et al. (2004) Attenuation of mechanical allodynia by clinically utilized drugs in a rat chemotherapy-induced neuropathic pain model. *Pain* 110: 56-63.
- Malek S, Sample SJ, Schwartz Z, et al. (2012) Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. *BMC Vet Res* 8: 185.
- Malfait AM, Little CB and McDougall JJ. (2013) A commentary on modelling osteoarthritis pain in small animals. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1316-1326.

- Malfait AM and Schnitzer TJ. (2013) Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 9: 654-664.
- Mannion AF, Balague F, Pellise F, et al. (2007) Pain measurement in patients with low back pain. *Nat Clin Pract Rheumatol* 3: 610-618.
- Martel-Pelletier J, Wildi LM and Pelletier JP. (2012) Future therapeutics for osteoarthritis. *Bone* 51: 297-311.
- Martin C. (2007) Anaesthetic use in animal models for neuroimaging. *Neuroimage* 38: 1-2; discussion 3-4.
- Masamoto K and Kanno I. (2012) Anesthesia and the quantitative evaluation of neurovascular coupling. *J Cereb Blood Flow Metab* 32: 1233-1247.
- Mathews KA. (2000) Pain assessment and general approach to management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 30: 729-755, v.
- Matthews GL and Hunter DJ. (2011) Emerging drugs for osteoarthritis. *Expert Opin Emerg Drugs* 16: 479-491.
- McDougall JJ, Andruski B, Schuelert N, et al. (2009) Unravelling the relationship between age, nociception and joint destruction in naturally occurring osteoarthritis of Dunkin Hartley guinea pigs. *Pain* 141: 222-232.
- McDougall JJ, Schuelert N and Bowyer J. (2010) Cathepsin K inhibition reduces CTXII levels and joint pain in the guinea pig model of spontaneous osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 18: 1355-1357.
- McLaughlin RM. (2001) Kinetic and kinematic gait analysis in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 31: 193-201.
- Mease PJ, Hanna S, Frakes EP, et al. (2011) Pain mechanisms in osteoarthritis: understanding the role of central pain and current approaches to its treatment. *J Rheumatol* 38: 1546-1551.
- Michalski D, Liebig S, Thomae E, et al. (2011) Pain in patients with multiple sclerosis: a complex assessment including quantitative and qualitative measurements provides for a disease-related biopsychosocial pain model. *J Pain Res* 4: 219-225.
- Mogil JS. (2009) Animal models of pain: progress and challenges. *Nat Rev Neurosci* 10: 283-294.

- Monfort J, Tardif G, Roughley P, et al. (2008) Identification of opticin, a member of the small leucine-rich repeat proteoglycan family, in human articular tissues: a novel target for MMP-13 in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 16: 749-755.
- Moreau M, Boileau C, Martel-Pelletier J, et al. (2006) Licofelone reduces progression of structural changes in a canine model of osteoarthritis under curative conditions: effect on protease expression and activity. *J Rheumatol* 33: 1176-1183.
- Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, et al. (2003) Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 152: 323-329.
- Moreau M, Guillot M, Pelletier JP, et al. (2013a) Kinetic peak vertical force measurement in cats afflicted by coxarthrosis: data management and acquisition protocols. *Res Vet Sci* 95: 219-224.
- Moreau M, Lussier B, Pelletier JP, et al. (2012a) Brachystemma calycinum D. Don Effectively Reduces the Locomotor Disability in Dogs with Naturally Occurring Osteoarthritis: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012: 646191.
- Moreau M, Pelletier JP, Lussier B, et al. (2013b) *A posteriori* comparison of natural and surgical destabilization models of canine osteoarthritis. *Biomed Res Int* 2013: 180453.
- Moreau M, Rialland P, Pelletier JP, et al. (2011) Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Res Ther* 13: R98.
- Moreau M, Troncy E, Del Castillo JR, et al. (2012b) Effects of feeding a high omega-3 fatty acids diet in dogs with naturally occurring osteoarthritis. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*.
- Nagakura Y, Okada M, Kohara A, et al. (2003) Allodynia and hyperalgesia in adjuvant-induced arthritic rats: time course of progression and efficacy of analgesics. *J Pharmacol Exp Ther* 306: 490-497.
- Nagashima H, Suzuki M, Araki S, et al. (2011) Preliminary assessment of the safety and efficacy of tanezumab in Japanese patients with moderate to severe osteoarthritis of the knee: a randomized, double-blind, dose-escalation, placebo-controlled study. *Osteoarthritis Cartilage* 19: 1405-1412.

- Nam J, Perera P, Liu J, et al. (2011) Transcriptome-wide gene regulation by gentle treadmill walking during the progression of monoiodoacetate-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 63: 1613-1625.
- Navratilova E, Xie JY, King T, et al. (2013) Evaluation of reward from pain relief. *Ann N Y Acad Sci* 1282: 1-11.
- Oda H, Igarashi M, Sase H, et al. (2008) Bone bruise in magnetic resonance imaging strongly correlates with the production of joint effusion and with knee osteoarthritis. *J Orthop Sci* 13: 7-15.
- Ohtori S, Inoue G, Orita S, et al. (2013) Efficacy of combination of meloxicam and pregabalin for pain in knee osteoarthritis. *Yonsei Med J* 54: 1253-1258.
- Parks EL, Geha PY, Baliki MN, et al. (2011) Brain activity for chronic knee osteoarthritis: dissociating evoked pain from spontaneous pain. *Eur J Pain* 15: 843 e841-814.
- Pelletier JP, Kapoor M, Fahmi H, et al. (2013) Strontium ranelate reduces the progression of experimental dog osteoarthritis by inhibiting the expression of key proteases in cartilage and of IL-1beta in the synovium. *Ann Rheum Dis* 72: 250-257.
- Pelletier JP, Troncy E, Bertaim T, et al. (2011) Treatment with tiludronic acid helps reduce the development of experimental osteoarthritis lesions in dogs with anterior cruciate ligament transection followed by reconstructive surgery: a 1-year study with quantitative magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 38: 118-128.
- Peterfy CG, Gold G, Eckstein F, et al. (2006) MRI protocols for whole-organ assessment of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 14 Suppl A: A95-111.
- Poole R, Blake S, Buschmann M, et al. (2010) Recommendations for the use of preclinical models in the study and treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 18 Suppl 3: S10-16.
- Price DD. (2002) Central neural mechanisms that interrelate sensory and affective dimensions of pain. *Mol Interv* 2: 392-403, 339.
- Priest BT. (2009) Future potential and status of selective sodium channel blockers for the treatment of pain. *Curr Opin Drug Discov Devel* 12: 682-692.
- Proffen BL, McElfresh M, Fleming BC, et al. (2012) A comparative anatomical study of the human knee and six animal species. *Knee* 19: 493-499.

- Rajan JN, de Mello WF and Bond S. (2012) Pain and suffering: twins that can be managed using an interdisciplinary and biopsychosocial health model. *Emerg Med J* 29: 602.
- Rannou F, Sellam J and Berenbaum F. (2010) [Pathophysiology of osteoarthritis: updated concepts]. *Presse Med* 39: 1159-1163.
- Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Bias P, et al. (2009) Protective effects of licofelone, a 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor, versus naproxen on cartilage loss in knee osteoarthritis: a first multicentre clinical trial using quantitative MRI. *Ann Rheum Dis* 68: 938-947.
- Reginster JY, Badurski J, Bellamy N, et al. (2013) Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 72: 179-186.
- Remadevi R and Szallisi A. (2008) Adlea (ALGRX-4975), an injectable capsaicin (TRPV1 receptor agonist) formulation for longlasting pain relief. *IDrugs* 11: 120-132.
- Renberg WC. (2005) Pathophysiology and management of arthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 35: 1073-1091, v.
- Rialland P, Bichot S, Moreau M, et al. (2012) Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine osteoarthritis. *BMC Vet Res* 8: 162.
- Robinson DA, Romans CW, Gordon-Evans WJ, et al. (2007) Evaluation of short-term limb function following unilateral carbon dioxide laser or scalpel onychectomy in cats. *J Am Vet Med Assoc* 230: 353-358.
- Romans CW, Conzemius MG, Horstman CL, et al. (2004) Use of pressure platform gait analysis in cats with and without bilateral onychectomy. *Am J Vet Res* 65: 1276-1278.
- Romans CW, Gordon WJ, Robinson DA, et al. (2005) Effect of postoperative analgesic protocol on limb function following onychectomy in cats. *J Am Vet Med Assoc* 227: 89-93.
- Ryan JM, Lascelles BD, Benito J, et al. (2013) Histological and molecular characterisation of feline humeral condylar osteoarthritis. *BMC Vet Res* 9: 110.
- Rychel JK. (2010) Diagnosis and treatment of osteoarthritis. *Top Companion Anim Med* 25: 20-25.
- Sanderson RO, Beata C, Flipo RM, et al. (2009) Systematic review of the management of canine osteoarthritis. *Vet Rec* 164: 418-424.

- Schnitzer TJ, Lane NE, Birbara C, et al. (2011) Long-term open-label study of tanezumab for moderate to severe osteoarthritic knee pain. *Osteoarthritis Cartilage* 19: 639-646.
- Schuelert N and McDougall JJ. (2009) Grading of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis reveals a concentration-dependent sensitization of nociceptors in the knee joint of the rat. *Neurosci Lett* 465: 184-188.
- Sellam J and Berenbaum F. (2010) The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 6: 625-635.
- Shiraishi S, Kobayashi H, Nihashi T, et al. (2006) Cerebral glucose metabolism change in patients with complex regional pain syndrome: a PET study. *Radiat Med* 24: 335-344.
- Slingerland LI, Hazewinkel HA, Meij BP, et al. (2011) Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *Vet J* 187: 304-309.
- Sofat N, Ejindu V and Kiely P. (2011) What makes osteoarthritis painful? The evidence for local and central pain processing. *Rheumatology (Oxford)* 50: 2157-2165.
- Somers TJ, Keefe FJ, Godiwala N, et al. (2009) Psychosocial factors and the pain experience of osteoarthritis patients: new findings and new directions. *Curr Opin Rheumatol* 21: 501-506.
- Staud R. (2011) Evidence for shared pain mechanisms in osteoarthritis, low back pain, and fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep* 13: 513-520.
- Staud R, Vierck CJ, Cannon RL, et al. (2001) Abnormal sensitization and temporal summation of second pain (wind-up) in patients with fibromyalgia syndrome. *Pain* 91: 165-175.
- Suokas AK, Walsh DA, McWilliams DF, et al. (2012) Quantitative sensory testing in painful osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 20: 1075-1085.
- Suter E, Herzog W, Leonard TR, et al. (1998) One-year changes in hind limb kinematics, ground reaction forces and knee stability in an experimental model of osteoarthritis. *J Biomech* 31: 511-517.
- Taljanovic MS, Graham AR, Benjamin JB, et al. (2008) Bone marrow edema pattern in advanced hip osteoarthritis: quantitative assessment with magnetic resonance imaging and correlation with clinical examination, radiographic findings, and histopathology. *Skeletal Radiol* 37: 423-431.

- Teeple E, Jay GD, Elsaid KA, et al. (2013) Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *AAPS J* 15: 438-446.
- Thompson SJ and Bushnell MC. (2012) Rodent functional and anatomical imaging of pain. *Neurosci Lett* 520: 131-139.
- Vainio O. (2012) Translational animal models using veterinary patients – An example of canine osteoarthritis (OA). *Scandinavian Journal of Pain* 3: 84-89.
- Valdes AM, De Wilde G, Doherty SA, et al. (2011) The Ile585Val TRPV1 variant is involved in risk of painful knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 70: 1556-1561.
- Valdes AM and Spector TD. (2010) The clinical relevance of genetic susceptibility to osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 24: 3-14.
- Valdes AM and Spector TD. (2011) Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7: 23-32.
- van den Berg WB. (2008) Lessons from animal models of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 10: 26-29.
- Vierck CJ, Hansson PT and Yeziarski RP. (2008) Clinical and pre-clinical pain assessment: are we measuring the same thing? *Pain* 135: 7-10.
- Vierck CJ, Jr., Cannon RL, Fry G, et al. (1997) Characteristics of temporal summation of second pain sensations elicited by brief contact of glabrous skin by a preheated thermode. *J Neurophysiol* 78: 992-1002.
- Walton M. (1977) Degenerative joint disease in the mouse knee; histological observations. *J Pathol* 123: 109-122.
- Wenham CY and Conaghan PG. (2009) Imaging the painful osteoarthritic knee joint: what have we learned? *Nat Clin Pract Rheumatol* 5: 149-158.
- Wild KD, Bian D, Zhu D, et al. (2007) Antibodies to nerve growth factor reverse established tactile allodynia in rodent models of neuropathic pain without tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 322: 282-287.
- Woolf CJ. (2011) Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152: S2-15.
- Younger J, McCue R and Mackey S. (2009) Pain outcomes: a brief review of instruments and techniques. *Curr Pain Headache Rep* 13: 39-43.

- Zamprogno H, Hansen BD, Bondell HD, et al. (2010) Item generation and design testing of a questionnaire to assess degenerative joint disease-associated pain in cats. *Am J Vet Res* 71: 1417-1424.
- Zhang RX, Ren K and Dubner R. (2013) Osteoarthritis pain mechanisms: basic studies in animal models. *Osteoarthritis Cartilage* 21: 1308-1315.
- Zhao F, Jin T, Wang P, et al. (2007) Isoflurane anesthesia effect in functional imaging studies. *Neuroimage* 38: 3-4.
- Zhao Z, Chen SR, Eisenach JC, et al. (2000) Spinal cyclooxygenase-2 is involved in development of allodynia after nerve injury in rats. *Neuroscience* 97: 743-748.
- Zhen G, Wen C, Jia X, et al. (2013) Inhibition of TGF-beta signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis. *Nat Med* 19: 704-712.
- Zhou Z, Sheng X, Zhang Z, et al. (2010) Differential genetic regulation of canine hip dysplasia and osteoarthritis. *PLoS One* 5: e13219.

CONCLUSION

Grâce au développement d'outils de mesure de douleur chronique objectifs, sensibles et répétables la douleur chez les chats arthrosiques a été mieux caractérisée. Les chats arthrosiques présentent des signes de boiterie quantifiables par l'évaluation de l'amplitude de l'articulation ou par l'évaluation de la force verticale d'appui au sol et une diminution de l'activité motrice quotidienne. Ces deux derniers outils ont permis de démontrer qu'un AINS (le méloxicam) administré pendant quatre semaines réduit la douleur à différents degrés, sans apparition d'effets secondaires et pouvant perdurer pendant trois semaines après l'arrêt du traitement. Cette étude est la première à rapporter l'efficacité suspectée dose-dépendante d'un analgésique dans l'arthrose féline. De plus, il a été mis en évidence un état d'hypersensibilité au toucher chez environ 30% des chats étudiés dans notre étude principale. L'hypersensibilité est une composante fondamentale de la chronicisation de la douleur qui devra être la cible d'un traitement spécifique. Cette hypersensibilité a été confirmée par l'étude comportementale évaluant la réponse à des stimulations mécaniques répétées induisant le phénomène de sommation temporelle. Le développement d'un outil basé sur la sommation temporelle met à disposition de la communauté scientifique un outil d'évaluation novateur de la douleur chronique chez le chat vigile basé sur une évaluation tenant compte des composantes cognitivo-affectives de la douleur. Cela permettra de développer efficacement pour cette espèce des traitements ciblant la sensibilisation centrale.

La douleur arthrosique conduit souvent à une perte de la relation privilégiée animal humain et parfois à l'euthanasie. Un traitement analgésique adapté à l'arthrose permettra d'améliorer la qualité de vie de ces chats. Cela aura aussi un impact direct sur leurs propriétaires qui retrouveront un chat actif et sociable, ainsi que sur les praticiens vétérinaires qui auront une option thérapeutique valide à proposer. Finalement, la découverte de l'implication du phénomène de sensibilisation centrale combinée à l'investigation des changements cérébraux secondaires à la douleur chronique associée à l'arthrose par imagerie TEP ouvre de nouvelles avenues de recherche aussi bien chez le chat (développement et/ou validation de traitements adaptés à l'état d'hypersensibilité) que pour les humains (potentiel modèle naturel de douleur chronique associée à l'arthrose).

ANNEXE 1 : Les bases de la tomographie d'émission par positrons au [¹⁸F]-fluorodéoxyglucose

L'imagerie moléculaire est définie par la *Society of Nuclear Medicine* comme la visualisation, la caractérisation et la mesure de processus biologiques au niveau moléculaire et cellulaire dans un système vivant. Depuis ses premiers pas au début des années 1950, la tomographie d'émission par positrons (TEP) a beaucoup évolué pour devenir le chef de file de l'imagerie moléculaire médicale. Le fleuron de cette méthode d'imagerie est de loin le 2-[¹⁸F]-2-deoxy-*D*-glucose (¹⁸FDG) qui permet d'estimer de manière (semi)-quantitative le métabolisme glucidique.

A1-1. La formation et les mécanismes d'action du ¹⁸FDG

Les radiotraceurs utilisés en imagerie TEP ciblent une entité moléculaire ou un processus moléculaire. Ces agents sont formés d'un transporteur permettant à l'agent d'être dirigé de manière spécifique à sa cible et d'une partie émettrice, un radionucléide, qui sera détecté par le système d'imagerie (Peterson and Manning, 2009). Le radionucléide organique fluore-18 (¹⁸F) peut être utilisé comme substitut pour un atome d'hydrogène pour créer des analogues dont les propriétés sont similaires au composé non marqué (Cherry, 2001). Ainsi le ¹⁸FDG est formé à partir de glucose directement marqué en position 2 par un ¹⁸F. Le ¹⁸F possède un temps de demi-vie radioactive d'environ 110 minutes ce qui est suffisant pour l'étude de phénomènes biologiques à court terme. Le ¹⁸FDG permet d'étudier le métabolisme glucidique en estimant la consommation de glucose des cellules (Bombardieri et al., 2003; Peterson and Manning, 2009).

Le ¹⁸FDG pénètre dans les cellules via des transporteurs spécifiques au glucose comme le transporteur GLUT1. Dans les cellules, il est transformé en ¹⁸FDG-6-PO₄ qui ne peut pas rentrer dans le processus de glycolyse à cause de la présence du fluore (Peterson and Manning, 2009). Les cellules possèdent généralement très peu de phosphatase donc la dégradation en ¹⁸FDG est quasi nul. Le ¹⁸FDG-6-PO₄ est un composé peu polaire qui ne peut diffuser à travers les membranes cellulaires. Après sa formation, le ¹⁸FDG-6-PO₄ est ainsi prisonnier

dans les cellules (Cherry, 2001). Le ^{18}F FDG s'accumule donc spécifiquement dans les cellules proportionnellement à leur activité métabolique (Weber et al., 2000). Ce radiotracteur est très utile pour imager l'activité neuronale où le glucose est le principal substrat énergétique du neurone (Kessler, 2003), le cardiomyocyte normal (Obrzut et al.), et les cellules tumorales qui ont une forte augmentation de leur demande énergétique (Bombardieri et al., 2003).

A1-2. La détection spatio-temporelle

Après injection intraveineuse, le ^{18}F FDG diffuse dans l'organisme. La décroissance radioactive s'effectue via l'émission d'un positron du noyau. Ce phénomène est suivi de l'annihilation de ce positron avec un électron du tissu environnant déterminant la production de deux photons gamma de 511 keV avec un angle de 180° de part et d'autre (Cherry, 2001; Mitra and Quon, 2009; Peterson and Manning, 2009; Spanoudaki and Ziegler, 2008). Lorsque ces deux photons sont détectés cela définit un événement de coïncidence et détermine une ligne passant à travers le patient interceptant la position à laquelle l'annihilation s'est produite (Cherry, 2001; Spanoudaki and Ziegler, 2008). Cet événement de coïncidence sera valide si la détection se produit dans une fenêtre de temps électronique prédéfinie et pour une fenêtre d'énergie acceptable (Bailey, 2006). Les détecteurs, placés tout autour du patient, sont la combinaison d'un cristal de scintillation qui convertit les radiations incidentes en scintillation de lumière visible et d'un photomultiplicateur (ou de photodiodes en avalanche) qui collecte cette lumière visible et la transforme en une impulsion électrique amplifiée. La largeur décrite par les angles entre un détecteur et le nombre limité de détecteurs de l'autre côté du scanner pouvant détecter une coïncidence au long de l'angle axial du système définit le champ de vue transverse efficace du TEP. Les données brutes recueillies par le système sont des projections des mesures enregistrées à tous les angles autour du patient (Bailey et al., 2006; Cherry, 2001; Mitra and Quon, 2009; Spanoudaki and Ziegler, 2008). La force de l'imagerie TEP est sa grande sensibilité puisqu'elle est capable de détecter une quantité picomolaire de molécules dans un tissu (Peterson and Manning, 2009).

A1-3. Les limitations de l'information inhérentes à la technique

L'imagerie TEP est par nature limitée à une résolution spatiale (capacité du système à distinguer deux sources juxtaposées) assez faible comparée aux autres techniques d'imagerie

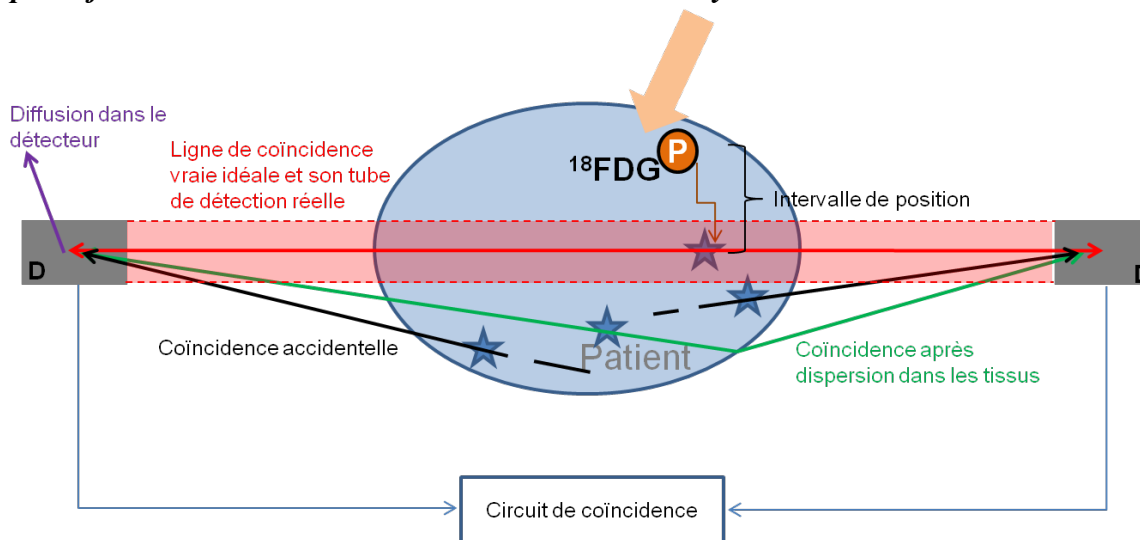
moléculaire. La résolution spatiale est d'environ 3-4 mm pour les instruments cliniques et autour de un mm pour les meilleurs TEP pour petits animaux (Cherry, 2001; Mitra and Quon, 2009; Townsend, 2008). Cette limitation en résolution spatiale est principalement déterminée par 3 facteurs :

i) L'intervalle entre la position réelle du radiotraceur émettant le positron et la position où se produit l'annihilation. Cet intervalle de position est de l'ordre de 0,6 mm en moyenne dans l'eau pour le ^{18}F ce qui limite la résolution axiale à environ 0,7 mm pour de l'imagerie au ^{18}F FDG. L'intervalle de position augmente avec l'énergie du radionucléide (Bailey, 2006; Cherry, 2001; Peterson and Manning, 2009). Comme le ^{18}F possède la plus faible énergie des radionucléides courants utilisés en TEP (0,63 MeV), l'imagerie utilisant ce radionucléide permet une des meilleures résolutions en imagerie TEP pour un système donné (Bailey et al., 2006).

ii) La non-colinéarité exacte des photons d'annihilation puisque l'évènement se produit avec un angle de $180 \pm 0,25^\circ$ ce qui crée une incertitude sur la détection de la ligne d'évènement réelle (Cherry, 2001; Peterson and Manning, 2009).

iii) La caractéristique des détecteurs : distance, profondeur, puissance d'arrêt des photons, et leur nombre. Par exemple l'erreur de positionnement augmente linéairement avec le diamètre total des détecteurs; plus le cristal de détection possède une section efficace petite, meilleure est la résolution spatiale (mais la sensibilité de détection diminue); et plus la longueur du cristal est longue moins bonne est la résolution spatiale (mais la sensibilité de détection augmente). Ainsi les caractéristiques matérielles soulignent le choix équilibré qu'il faut faire entre résolution spatiale et sensibilité de détection (Bailey, 2006; Cherry, 2001).

Figure A1-1 : Schématisation des principaux biais de détection de coïncidences inhérents à la physique suite à l'administration de ^{18}F FDG pouvant conduire à une mauvaise localisation et quantification radiotraceur à l'intérieur d'un tissu l'ayant accumulé.



D : détecteur; P : positron; les étoiles représentent l'événement d'annihilation du positron lors de sa rencontre avec un électron du tissu.

Note : Le schéma ne respecte pas les échelles et seulement 2 détecteurs sont représentés pour ne pas alourdir le schéma.

A1-4. La formation des images

L'imagerie TEP étant tomographique, l'information est par nature tridimensionnelle, et peut aussi être délivrée en quatre dimensions (en fonction du temps; Cherry, 2001). Deux approches de reconstruction sont disponibles (Cherry, 2001; Defrise et al., 2006):

i) Une approche analytique qui utilise le plus souvent une rétroprojection filtrée. Elle a pour avantage de produire des images de manière rapide et prévisible. Mais avec cette technique les images sont généralement très bruitées. De plus, cette méthode de reconstruction ne permet pas de modéliser le système d'imagerie.

ii) Une approche algébrique itérative utilisant le maximum de vraisemblance qui est maintenant la plus répandue. Différentes techniques sont décrites en fonction de l'approche statistique utilisée (par exemple ML-EM et OSEM) Ces techniques ont l'avantage de pouvoir modéliser de manière exacte le système utilisé, *i.e.* la prise en compte de la géométrie du scanner, des spécificités des détecteurs (efficacité, atténuation et diffusion), de l'atténuation dans le sujet, de la diffusion dans le sujet, des événements aléatoires, de l'intervalle de

position et de la colinéarité des photons d'annihilation. Les approches itératives permettent ainsi d'obtenir des images de meilleure qualité. Par contre, elles sont très consommatrices de ressources informatiques et en temps, car la convergence est lente. de plus, avec les méthodes itératives la qualité de l'image dépend du nombre d'itérations.

Pour permettre une analyse quantitative du métabolisme glucidique suite à l'injection de ^{18}F FDG, les données produites pour former les images devront donc être normalisées selon l'efficacité de détection et des pertes liées au temps mort de détection, compensées pour la décroissance radioactive, allégées des événements aléatoires, corrigées pour l'atténuation, nettoyées des événements de diffusion, et corrigées si possible des effets de volume partiel (Cherry, 2001; Defrise et al., 2006; Meikle and D.B., 2006; Peterson and Manning, 2009).

A1-5. La nécessité d'améliorer l'information anatomique

Bien que le ^{18}F FDG possède une excellente résolution spatiale comparée aux autres radiotraceurs TEP, l'information anatomique des images produites est peu satisfaisante pour permettre une localisation précise des tissus mis en valeur par son accumulation. Actuellement, la plupart des systèmes TEP sont combinés avec un CT-scan permettant de combiner l'information métabolique obtenue à une information anatomique dans la même image. De plus, le CT-scan produit des données précises sur l'atténuation régionale du sujet qui peuvent être utilisées pour améliorer les corrections d'atténuation des données TEP. La qualité des images est ainsi améliorée. Cependant, ce type de correction peut aussi introduire des erreurs de quantification dans l'image liées aux artefacts propres du CT-scan (Mittra and Quon, 2009; Townsend, 2008; Townsend and Beyer, 2006).

Si des séquences d'imagerie par résonance magnétique de la région d'intérêt sont obtenues, les informations métaboliques et anatomiques peuvent être combinées par différentes méthodes d'alignement (par exemple, les algorithmes basés sur la similarité des voxels). En plus d'améliorer la localisation anatomique de l'assimilation de ^{18}F FDG par un tissu donné, ces techniques facilitent les études transversales et les comparaisons de groupes (Hawkes 2006, Shimada 2000).

A1-6. L'analyse des images

A1-6.1. L'approche qualitative

L'approche la plus simple pour analyser les images produites par l'imagerie TEP au ^{18}F FDG est probablement l'analyse qualitative. En effet, après 30-40 minutes post-injection, il peut être considéré qu'il n'y a plus de ^{18}F FDG dans le compartiment vasculaire et que seuls les tissus cibles contiennent du ^{18}F FDG sous forme phosphorylée. Ainsi, l'imagerie TEP au ^{18}F FDG peut être considérée comme une imagerie par contraste où les tissus les plus actifs participent majoritairement au signal. Donc, lorsqu'une image au ^{18}F FDG est observée, le rehaussement des tissus sera plus important pour les tissus très actifs. Cette évaluation est la base du diagnostic oncologique et permet de détecter des infarctus du myocarde. Cependant, ce genre d'approche ne permet pas de comparer de manière objective des images dans le temps ou différents groupes, et souffre d'une grande variabilité entre les lecteurs (Bombardieri et al., 2003; Obrzut et al., 2010; Peterson and Manning, 2009; Weber et al., 2000).

A1-6.2. L'approche semi-quantitative

L'assimilation de ^{18}F FDG dans un tissu peut être estimée en valeur standardisée de rehaussement (VUS). La VUS est une mesure de la concentration en radioactivité d'un tissu donné à un temps donné qui est normalisée à la dose injectée et au poids corporel ou à la surface corporelle au sein d'une région ou d'un volume d'intérêt (Boellaard, 2009; Vriens et al., 2010; Weber et al., 2000).

$$VUS = \frac{\text{Activité moyenne au sein d'un volume d'intérêt (kBq/mL)}}{\text{Dose } ^{18}\text{F} \text{FDG (MBq) / Poids corporel (kg)}}$$

Les plus grands avantages de l'utilisation des VUS sont d'apporter une mesure simple applicable en clinique et de permettre le suivi d'un patient pré et post traitement. Il est ainsi démontré que l'accumulation de ^{18}F FDG en VUS dans une tumeur est corrélée négativement à l'efficacité de certains traitements anticancéreux et positivement au comportement malin de certaines tumeurs (Bombardieri et al., 2003). La quantification en VUS au sein d'une région d'intérêt d'un tissu est aussi fortement corrélée à la technique de référence (modélisation cinétique) et est considérée comme suffisante pour la quantification du ^{18}F FDG dans la plupart

des situations cliniques et de recherche (Vriens et al., 2010). Cependant, il a été mis en évidence que ces mesures sont soumises à une forte variabilité liée à des facteurs techniques (calibration et méthode d'injection), biologiques (glycémie, temps de mesure, stress et inflammation) et physiques (paramètres d'acquisition et de reconstruction, définition de la région d'intérêt et facteurs de normalisations). Il est donc nécessaire d'avoir une stricte standardisation de l'ensemble de ces facteurs pour permettre une comparaison fiable des données obtenues dans le temps, entre individus ou entre institutions (Boellaard, 2009; Krak et al., 2005; Vriens et al., 2010).

Dans le cerveau, il a été proposé d'évaluer la concentration en radioactivité en utilisant une approche statistique de cartographie paramétrique (Duncan et al., 1998; Soto-Montenegro et al., 2009). Les résultats obtenus sont concordants avec les analyses par région ou volumes d'intérêts. Cette approche statistique est beaucoup plus puissante et permet d'analyser globalement l'ensemble du cerveau sans avoir à définir de multiples régions d'intérêt a priori. L'inconvénient est que cette approche nécessite la création d'un atlas anatomique de référence sur lequel les données TEP sont alignées (Soto-Montenegro et al., 2009).

A1-6.3. Approches quantitatives

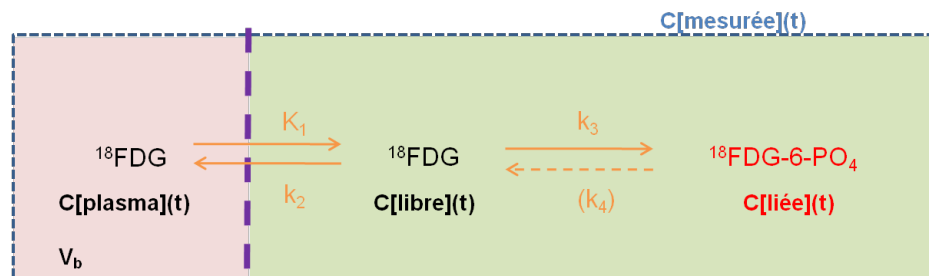
La technique de référence pour mesurer le métabolisme du glucose par TEP au ^{18}F FDG est l'utilisation d'un modèle pharmacocinétique multicompartimental suite à une acquisition dynamique (Boellaard, 2009; Carson, 2006; Cherry, 2001; Vriens et al., 2010; Weber et al., 2000).

L'assimilation tissulaire du ^{18}F FDG peut être décrite par le modèle à deux compartiments décrit par la figure 2. Compte tenu de l'irréversibilité assumée de la formation de ^{18}F FDG-6- PO_4 , le modèle régissant cette cinétique peut être décrit de manière satisfaisante comme suit (Carson, 2006; Cherry, 2001; Vriens et al., 2010):

$$C [\text{liée}](t) = \frac{(K_1 \times k_3)}{(k_2 + k_3)} \times (1 - e^{-((k_2 + k_3)t})} * C[\text{plasma}](t)$$

Où $C[\text{liée}]$ est la concentration de ^{18}F FDG-6- PO_4 et $C[\text{plasma}]$ est la concentration plasmatique de ^{18}F FDG.

Figure A1-2 : Schématisation du modèle à deux compartiments décrivant le catabolisme du ^{18}FDG .



$C[\text{plasma}](t)$ est la concentration d'activité de ^{18}FDG dans le plasma sanguin; $C[\text{libre}](t)$ est la concentration intracellulaire d'activité de ^{18}FDG libre; $C[\text{lié}](t)$ est la concentration intracellulaire d'activité de $^{18}\text{FDG-6-PO}_4$; K_1 , k_2 , k_3 et k_4 sont les constantes de vitesse des équilibres; $C[\text{mesurée}](t)$ (pointillés bleu) est la concentration d'activité mesurée par le TEP et est une combinaison de $C[\text{libre}](t)$, $C[\text{lié}](t)$ et d'une fraction de $C[\text{plasma}](t)$ (V_b ou fraction de volume sanguin représentée en rosée); en vert est représenté le milieu cellulaire et le trait mauve en pointillés représente la membrane cellulaire.

La détermination des coefficients est effectuée en faisant correspondre la concentration de ^{18}FDG en fonction du temps par une méthode statistique non-linéaire. Il est important de pouvoir déterminer la concentration plasmatique de ^{18}FDG au cours du temps (fonction d'entrée) pour permettre cette analyse. La technique la plus exacte, mais aussi la plus invasive, est de prendre une série de prises de sang artériel durant la procédure TEP et de déterminer la concentration d'activité du plasma après centrifugation. D'autres méthodes ont été développées et validées, comme l'utilisation d'échantillons de sang veineux, la modélisation de cette fonction d'entrée au sein d'une population donnée, et l'extraction de cette fonction dans les images au niveau d'une artère majeure ou du ventricule gauche (Cherry, 2001; Meyer et al., 2006; Vriens et al., 2010; Weber et al., 2000).

Pour obtenir la « vraie » valeur du métabolisme du glucose il faut cependant introduire une fonction de correction du ^{18}FDG (LC). Cette fonction est définie à l'état d'équilibre par le taux net d'extraction de ^{18}FDG par rapport à celui du glucose lorsque les concentrations des 2 substrats sont égales (Vriens et al., 2010). Ainsi :

$$\text{Métabolisme réel du glucose} = \frac{(K_1 \times k_3)}{(k_2 + k_3)} \times \frac{\text{Concentration [glucose]}}{LC}$$

Cette fonction de correction, bien que constante pour des conditions données, varie selon les tissus et l'état physiopathologique du sujet. Elle devrait donc être estimée à chaque

procédure. Cela n'est pas fait en pratique et le métabolisme glucidique est alors estimé par celui du ^{18}FDG qui peut alors être considéré comme un estimateur biaisé mais précis et fiable (Cherry, 2001; Vriens et al., 2010).

Diverses approches simplifiées ont été proposées à partir du modèle pharmacocinétique à deux compartiments. La plus appliquée dans le cas du ^{18}FDG est la méthode graphique proposée par Patlak *et al.* (1983) Cette méthode utilise une méthode de régression linéaire pour analyser la pharmacocinétique décrite par tout modèle compartimental avec une étape irréversible. Dans le cas du ^{18}FDG , cette étape irréversible est la formation de $^{18}\text{FDG-6-PO}_4$ qui conduit à l'emprisonnement de la radioactivité dans la cellule. Lorsque les conditions d'état d'équilibre sont assumées ($dC[\text{plasma}](t)/dt$ relativement petit par rapport au tissu), le modèle se résume à :

$$\frac{C[\text{mesurée}](t)}{C[\text{plasma}](t)} = \left(\frac{K_1 \times k_3}{k_2 + k_3}\right) \times (1 - V_b) \times \frac{\int_0^t C[\text{plasma}](\tau) d\tau}{C[\text{plasma}](t)} + \left(\frac{(1 - V_b) \times K_1 \times k_2}{(k_2 + k_3)^2} + V_b\right)$$

Où $C[\text{mesurée}]$ est la concentration de ^{18}FDG mesurée dans l'image, $C[\text{plasma}]$ est la concentration plasmatique de ^{18}FDG et V_b la fraction de volume sanguin.

Cela revient à déterminer la pente du graphique $C[\text{mesurée}](t) \times C[\text{plasma}](t)^{-1}$ en fonction de $\int_0^t C[\text{plasma}](\tau) d\tau \times C[\text{plasma}](t)^{-1}$ (appelé espace de Patlak). Ainsi avec un estimé de V_b et le suivi dans le temps de la fonction d'entrée, le métabolisme du glucose peut être déterminé (Vriens *et al* 2010).

A1-7. Notion de radiotracteur idéal

Pour permettre une estimation convenable de la fonction ciblée, le radiotracteur doit respecter au mieux certaines caractéristiques (Carson, 2006; Sossi, 2003):

i) Le seul facteur contrôlant l'assimilation et la distribution du radiotracteur dans l'organisme doit être le processus étudié. Il est attendu que pour un bon radiotracteur l'effet net des facteurs extrinsèques perturbant sa cinétique (flux sanguin régional, la liaison aux protéines plasmatiques, des liaisons non spécifiques, le taux de clairance de l'organisme et le métabolisme du radiotracteur) soit minimal.

ii) Un radiotracteur doit être l'équivalent du composé naturel directement marqué (comme le ^{11}C glucose pour le glucose) ou un analogue (comme le ^{18}F FDG pour le glucose).

iii) Le paramètre d'intérêt doit être le déterminant primaire de l'assimilation et de la rétention du radiotracteur, ce qui implique qu'après une période de temps appropriée, la concentration de traceur dans le tissu cible est une fonction linéaire du paramètre d'intérêt.

iv) Le radiotracteur doit pouvoir s'accumuler dans le tissu cible pour permettre une concentration de radioactivité produisant suffisamment d'évènements statistiquement utilisables pour un système d'une largeur raisonnable après un temps raisonnable.

v) La quantité nette de radiotracteur administrée doit être relativement petite pour ne pas perturber le processus étudié.

A1-8. Sources documentaires

Bailey DL. (2006) Data acquisition and performance characterization. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 41-62.

Bailey DL, Karp JS and Surti S. (2006) Physics and instrumentation in PET. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 13-40.

Boellaard R. (2009) Standards for PET image acquisition and quantitative data analysis. *J Nucl Med* 50 Suppl 1: 11S-20S.

Bombardieri E, Aktolun C, Baum RP, et al. (2003) FDG-PET: procedure guidelines for tumour imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 30: BP115-124.

Carson RE. (2006) Tracer kinetic modeling in PET. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 127-160.

Cherry SR. (2001) Fundamentals of positron emission tomography and applications in preclinical drug development. *J Clin Pharmacol* 41: 482-491.

Defrise M, Kinahan PE and Michel CJ. (2006) Image reconstruction algorithms in PET. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 63-92.

- Duncan GH, Kupers RC, Marchand S, et al. (1998) Stimulation of human thalamus for pain relief: possible modulatory circuits revealed by positron emission tomography. *J Neurophysiol* 80: 3326-3330.
- Kessler RM. (2003) Imaging methods for evaluating brain function in man. *Neurobiol Aging* 24 Suppl 1: S21-35; discussion S37-29.
- Krak NC, Boellaard R, Hoekstra OS, et al. (2005) Effects of ROI definition and reconstruction method on quantitative outcome and applicability in a response monitoring trial. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32: 294-301.
- Meikle SR and D.B. R. (2006) Quantitative techniques in PET. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 93-126.
- Meyer PT, Circiumaru V, Cardi CA, et al. (2006) Simplified quantification of small animal [18F]FDG PET studies using a standard arterial input function. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 33: 948-954.
- Mitra E and Quon A. (2009) Positron emission tomography/computed tomography: the current technology and applications. *Radiol Clin North Am* 47: 147-160.
- Obrzut S, Jamshidi N, Karimi A, et al. (2010) Imaging and modeling of myocardial metabolism. *J Cardiovasc Transl Res* 3: 384-396.
- Patlak CS, Blasberg RG and Fenstermacher JD. (1983) Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. *J Cereb Blood Flow Metab* 3: 1-7.
- Peterson TE and Manning HC. (2009) Molecular imaging: 18F-FDG PET and a whole lot more. *J Nucl Med Technol* 37: 151-161.
- Sossi V. (2003) Positron emission tomography (PET) advances in neurological applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A* 510: 107-115.
- Soto-Montenegro ML, Vaquero JJ, Pascau J, et al. (2009) Detection of visual activation in the rat brain using 2-deoxy-2-[(18F)fluoro-D: -glucose and statistical parametric mapping (SPM). *Mol Imaging Biol* 11: 94-99.
- Spanoudaki VC and Ziegler SI. (2008) PET & SPECT instrumentation. *Handb Exp Pharmacol*: 53-74.
- Townsend DW. (2008) Positron emission tomography/computed tomography. *Semin Nucl Med* 38: 152-166.

- Townsend DW and Beyer T. (2006) Anato-molecular imaging: combining structure and function. In: Bailey DL, Townsend DW, Valk PE, et al. (eds) *Positron emission tomography: Basic Sciences*. New York, NY, USA.: Edition Springer, 179-202.
- Vriens D, Visser EP, de Geus-Oei LF, et al. (2010) Methodological considerations in quantification of oncological FDG PET studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37: 1408-1425.
- Weber WA, Schwaiger M and Avril N. (2000) Quantitative assessment of tumor metabolism using FDG-PET imaging. *Nucl Med Biol* 27: 683-687.

ANNEXE 2 : *Curriculum vitae* abrégé

Cursus universitaire

- 2009-2014: *Philosophiae Doctor* en Sciences Vétérinaires option pharmacologie, Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal – Canada (FMV).
- 2006-2008 : Maîtrise en Sciences Vétérinaires option biomédecine (FMV).
- 2005-2006 : Internat de Perfectionnement en Sciences Appliquées Vétérinaires option animaux de compagnie (FMV).
- 2000-2005: Doctorat Vétérinaire d'État, École Nationale Vétérinaire de Toulouse – France.
- 1998-2000 : Diplôme d'étude universitaire général en sciences de la vie option biochimie, Université Montpellier II - France.

Prix et bourses

- 2013 : Bourse de recherche postdoctorale du Centre de recherche clinique Étienne-Le Bel (2014-2016).
- 2012 :
 - ✓ Bourse d'excellence de participation à une conférence de l'*International Association for the Study of Pain*.
 - ✓ Bourse de participation à une conférence du réseau québécois de recherche (FRQ-S) sur la douleur.
 - ✓ Prix Meril Canada de recherche en douleur animale.
- 2011 : Prix Vetoquinol N.A. de recherche en gériatrie animale.
- 2010 :
 - ✓ Meilleure présentation par affiche lors du *Pain and pain management in non-human species special interest group Official satellite symposium of the 13th world congress on pain*, Montreal, Canada (29 août 2010).
 - ✓ Bourse de participation à une conférence du réseau québécois de recherche (FQRS) sur la douleur.
 - ✓ Bourse du Fond Québécois sur la Recherche Naturelle et les Technologies (Refusée : cumul interdit)
 - ✓ **Bourse BESC Alexander-Graham-Bell du Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie (CRSNG) du Canada (2010-2013)**
 - ✓ **Bourse MENTOR de formation des Instituts en Recherche en Santé du Canada (IRSC) en évaluation et traitement des troubles de la mobilité et de la posture (2010-2013)**
 - ✓ Bourse d'excellence d'entrée au doctorat de la Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales de l'UdeM (FESP)
- 2009 : Liste du doyen de la FESP soulignant l'excellence des travaux de maîtrise en Sciences Vétérinaires.

Publications scientifiques

Articles dans des revues avec comité de lecture, mémoires et thèses

1. Ferchichi S., Troncy E., **Guillot M.**, Riolland P., Truchetti G., Del Castillo J.R.E. (2013) Excitement in dogs recovering from alfaxalone anaesthesia: is the absent drug blamed in error? *Veterinary Anaesthesia Analgesia* Aug 21. doi: 10.1111/vaa.12085 (Letter to the Editor).
2. Moreau M., **Guillot M.**, Pelletier J-P., Martel-Pelletier J., Troncy É. (2013) Kinetic peak vertical force measurement in cats afflicted by coxarthrosis: data management and acquisition protocols. *Research in Veterinary Science*, 95(1): 219-224.
3. **Guillot M.**, Moreau M., Martel-Pelletier J., Pelletier J-P., Troncy É. (2013) Characterisation of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Veterinary Journal*,

196(3): 360-367. **Souigné dans l'éditorial** : Pelligand, L., Lees, P. (2013) Monitoring and treating chronic pain in cats: bring on the challenge! *Veterinary Journal* 196(3):275-627.

4. Rialland P., Authier S.; **Guillot M.**, del Castillo J.R.E, Veilleux-Lemieux D., Frank D., Klinck M., Gauvin D., Troncy É. (2012) Validation of orthopedic postoperative pain assessment methods for dogs: a prospective, blinded, randomized, placebo-controlled study. *PLoS-One* 7(11):e49480. doi:10.1371/journal.pone.0049480.

5. Rialland P., Bichot S., Moreau M., **Guillot M.**, Lussier B., Gauvin D., Martel-Pelletier J., Pelletier J.-P., Troncy É. (2012) Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine osteoarthritis. *BMC Veterinary Research*, Sep 10;8(1):162.

6. Klinck M.P., Frank D., **Guillot M.**, Troncy É. (2012) Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Canadian Veterinary Journal*, 53(11):1181-1186.

7. **Guillot M.**, Moreau M., d'Anjou M-A., Martel-Pelletier J., Pelletier J.-P., Troncy É. (2012) Evaluation of osteoarthritis in cats: Novel information from a pilot study. *Veterinary Surgery* 41:328-335.

8. **Guillot M.**, Rialland P., Nadeau M-E, del Castillo J.R.E., Gauvin D., Troncy É. (2011) Pain induced by a minor medical procedure (bone marrow aspiration) in dogs: Comparison of pain scales in a pilot study. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25:1050-1056.

9. **Guillot M.**, Alexander K., Pomar C., del Castillo J.R.E. (2011) In growing pigs, chlortetracycline induces a reversible green bone discoloration and persistent increase of bone mineral density dependent of dosing regimen. *Research in Veterinary Sciences* Jun;90(3):484-90.

10. **Guillot M.**, Alexander K., Pomar C., Castillo J.R.E. (2010) Dietary chlortetracycline induces differential effects on the accuracy of quantitative computed tomography and dual energy X-ray absorptiometry in assessing vertebral bone mineral density in growing pigs. *Veterinary Journal* 185:169-173.

11. Alexander K., Authier S., del Castillo J.R.E., Arora V., Qi S., **Guillot M.**, Beauchamp G., Troncy E. (2010) Patlak plot analysis CT-GFR for the determination of renal function: Comparison of normal dogs with autologous kidney transplant dogs. *Contrast Media Mol Imaging* May;5(3):133-9.

12. **Guillot M.**, d'Anjou M-A., Alexander K., Bédard C., Desnoyers M., Beauregard G., del Castillo J. R.E. (2009) Can sonographic findings predict the results of liver aspirates in dogs with suspected liver disease? *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 50(5): 513–518.

13. **Guillot M.** (2008) Suivi physique et densitométrique aux rayons-X des effets sur l'os de la chlortétracycline chez le porc. Mémoire de maîtrise. Université de Montréal, Qc, Canada.

14. **Guillot M.** (2005) *La rupture du ligament croisé crânial chez le chien : aborder sereinement son traitement chirurgical (DVD-rom interactif)*. Thèse de doctorat. École Nationale Vétérinaire de Toulouse, France.

Articles soumis à des revues avec comité de lecture

1. **Guillot M.**, Taylor P.M., Rialland P., Klinck M.P., Martel-Pelletier J., Pelletier J-P., Troncy E. (2013) Evoked temporal summation in cats to highlight central sensitization related to osteoarthritis-associated chronic pain: A preliminary study. *PLoS-One* (accepté avec revisions mineures).

2. **Guillot M.**, Chartrand G., Chav R., Rousseau J., Beaudoin J-F., Martel-Pelletier J., Pelletier J-P., Lecomte R., de Guise J.A., Troncy E. (2013) [¹⁸F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography of the cat brain: feasibility study to investigate osteoarthritis-associated pain. *Veterinary Journal*.

3. Gervais, J., Otis, C., **Guillot, M.**, Gervais, J-A., Gauvin, G., Péthel, C., Authier, S., Marc-André Dansereau, M-A., Sarret, P. Troncy, E. (2013) Concurrent validity of different pain assessment methods in the rat osteoarthritis mia model. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*.

4. **Guillot, M.**, de Guise, J.A., Gravel, P., Gauthier, M-L., Leblond, H., Rossignol, S., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J-P., Troncy, E. (2013) Coxofemoral joint kinematic using video-fluoroscopic images in treadmill walking cats: development of a technique to generate hypotheses in OA-associated disability. *Journal of Feline Medicine and Surgery* (accepté avec revisions mineures).