

Université de Montréal

Modèles chirurgicaux de douleur arthrosique
Évaluation fonctionnelle, biomarqueurs spinaux et développement de nouveaux modèles

par

Julie Anne Gervais

Département de biomédecine vétérinaire

Faculté de médecine vétérinaire

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

Juillet 2016

© Julie Anne Gervais, 2016

Résumé

L'étiologie exacte de la douleur arthrosique n'est que partiellement comprise et le recours à des modèles animaux est fondamental dans l'investigation physiopathologique du modèle nociceptif et le développement de modalités thérapeutiques, en particulier lors de la création d'un modèle de douleur chronique pathologique.

Dans l'investigation de la douleur arthrosique du genou chez le rat, l'utilisation d'un modèle par injection intra-articulaire de mono-iodo-acétate de sodium (MIA) est surreprésentée. Cependant, ce modèle ne représente pas la maladie naturelle chez l'humain puisque l'atteinte est aiguë, induite chimiquement, et temporaire. Nous émettons l'hypothèse que les modèles chirurgicaux possèdent l'avantage d'utiliser des mécanismes mimant la condition naturelle dans l'arthrose post-traumatique.

Le modèle de transection du ligament croisé crânial, de déstabilisation du ménisque médial (par méniscotomie médiale partielle) et leur combinaison ont été évalués lors d'une étude pilote avec l'objectif de comparer les données fonctionnelles et les neuromarqueurs spinaux entre les modèles chirurgicaux et MIA. L'induction chirurgicale a été accompagnée de changements neurophysiologiques quantifiables liés à la douleur pathologique et persistant plus longtemps que le modèle MIA, représentant ainsi plusieurs avantages pouvant être appliqués lors de l'évaluation de modalités thérapeutiques. Les modèles chirurgicaux simples se sont révélés sans intérêt car ils présentent des atteintes fonctionnelles temporaires et sans modification neuroprotéomique.

Mots-clés : Douleur, Arthrose, Modèle animal, Chirurgie, Mono-iodo-acétate de sodium, Évaluations fonctionnelles, Biomarqueurs, Neuropeptides

Abstract

The exact aetiology of osteoarthritic pain is only partially understood and the use of animal models is fundamental in the pathophysiological investigation and the development of therapeutic modalities, particularly the creation of a pathological chronic pain model.

In the investigation of OA knee pain in rats, the intra-articular injection of sodium mono-iodo-acetate (MIA) is an overrepresented model. However, this does not represent the natural disease in humans since the disease is acute, chemically induced, and temporary. We hypothesized that surgical models have the advantage of using mechanisms with better resemblance to the natural post-traumatic osteoarthritis.

The model of transection of the cranial cruciate ligament, destabilization of the medial meniscus (partial medial meniscotomy) and their combination were evaluated in a pilot study with the objective to compare the pain behaviour and spinal neuromarkers between the surgical and MIA models. Surgical induction was accompanied by measurable neurophysiological changes associated with pathological pain and lasting longer than the MIA model, an advantage that can be applied in the evaluation of therapeutic modalities. Simple surgical models have proved to be without interest as they present temporary functional impairment without neuroproteomics modification.

Keywords: Pain, Osteoarthritis, Animal model, Sodium mono-iodo-acetate, Functional evaluations, Biomarkers, Neuropeptides

Table des matières

<i>Résumé</i>	<i>i</i>
<i>Abstract</i>	<i>ii</i>
<i>Table des matières</i>	<i>iii</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>vii</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>viii</i>
<i>Liste des sigles et abréviations</i>	<i>ix</i>
<i>Remerciements</i>	<i>xiii</i>
<i>Section 1 : Introduction</i>	<i>1</i>
<i>Section 2 : Recension de la littérature</i>	<i>3</i>
1. Anatomie et physiologie du genou	3
1.1. Anatomie macroscopique	3
1.2. Composition, biomécanique et histologie des tissus articulaires	7
1.2.1. Os	7
1.2.2. Cartilage articulaire	10
1.2.3. Tendons et ligaments	13
1.2.4. Ménisques	15
1.2.5. Cavité et capsule articulaires	15
1.2.6. Organisation du système nerveux	16
1.2.6.1. Système moteur	16
1.2.6.1.1. Neurone moteur supérieur (NMS)	16
1.2.6.1.2. Neurone moteur inférieur (NMI)	16
1.2.6.2. Système sensoriel	17
1.2.6.2.1. Neurones sensoriels segmentaires	17
1.2.6.3. Faisceaux longs	17
2. Arthrose	17
2.1. Épidémiologie	17
2.2. Étiologie et facteurs de risque	18

2.3. Physiopathologie.....	19
3. Douleur.....	20
3.1. Définitions et nomenclature	20
3.2. Transduction.....	21
3.3. Transmission	23
3.4. Intégration et perception.....	24
3.5. Modulation	24
3.6. La douleur arthrosique.....	29
3.7. Évaluer la douleur arthrosique.....	29
3.7.1. Imagerie	29
3.7.2. Biomarqueurs de douleur et d'inflammation impliqués dans la douleur arthrosique	
30	
3.7.2.1. Substance P (SP)	31
3.7.2.2. Calcitonin gene-related peptide (CGRP).....	33
3.7.2.3. Vasoactive intestinal peptide (VIP).....	33
3.7.2.4. Bradykinine (BK).....	34
3.7.2.5. Dynorphines	35
3.7.2.6. Somatostatine (SST)	36
4. Modèles animaux de douleur adaptés à la pathologie arthrosique.....	37
4.1. Utilisation éthique d'un modèle animal.....	38
4.2. Les caractéristiques idéales du modèle animal.....	38
4.3. Évolution temporelle.....	38
4.3.1. Reproduction des caractéristiques pathologiques et cliniques	39
4.3.2. Prédiction de l'effet thérapeutique.....	40
4.4. Choix de l'espèce	41
4.5. Choix de la méthode d'induction.....	42
4.5.1. Modèles spontanés	42
4.5.2. Modèles induits.....	43
4.5.2.1. Modèles chimiques et enzymatiques.....	43
4.5.2.1.1. Mono-iodo-acétate de sodium (MIA)	43
4.5.2.2. Immobilisation, mise en charge et traumatisme cartilagineux.....	49
4.5.2.3. Modèles chirurgicaux d'instabilité articulaire	50
4.5.2.4. Blessures ligamentaires.....	50
4.5.2.5. Blessure méniscale	51
4.5.2.6. Combinaisons.....	52

4.6.	Design expérimental et mesures	53
4.6.1.	Structure et histopathologie	53
4.6.2.	Analyses fonctionnelles et comportementales de douleur	53
4.6.2.1.	Static Weight Bearing (SWB)	54
4.6.2.2.	Dynamic Weight Bearing (DWB)	54
4.6.2.3.	Kinetic Weight Bearing (KWB)	55
4.6.2.4.	Activité d'exploration (Photobeam Activity System™)	55
4.6.2.5.	Laboratory Animal Behavior Observation Registration and Analysis System (LABORAS)	55
4.6.2.6.	ActualHCA™	55
4.6.2.7.	Autres évaluations comportementales	56
4.6.2.8.	Test d'extension et de flexion de l'articulation	57
4.6.2.9.	Test de von Frey	57
4.6.2.10.	Test de Randall-Selitto	58
4.6.2.11.	Place Escape/Avoidance Paradigm (PEAP)	59
4.6.2.12.	Hyperalgésie thermique (test de Hargreaves)	60
4.6.2.13.	Posture et démarche (CatWalk™)	60
4.6.2.14.	Douleur évoquée par le mouvement (Rotarod™)	61
5.	Problématique	62
6.	Objectifs de l'étude	62
7.	Hypothèses de recherche	63
Section 3: Article		64
1.	Abstract	65
2.	Introduction	66
3.	Material and methods	67
4.	Results	71
5.	Discussion	76
6.	Conclusion	79
7.	Acknowledgements	79
8.	Funding	79

9. References.....	80
Section 4 : Discussion	84
1. Modèles précliniques, recherche translationnelle et justification du choix du modèle.....	84
2. Justification des méthodes d'évaluation	86
2.1. Évaluations comportementales.....	87
2.1.1. Static Weight Bearing (SWB)	87
2.1.2. Paw Withdrawal Threshold (PWT)	88
2.1.3. Place escape / avoidance paradigm (PEAP)	90
2.2. Évaluations des neuropeptides spinaux	91
2.2.1. Tachykinines SP et CGRP.....	91
2.2.2. Bradykinine (BK).....	91
2.2.3. Somatostatine (SST)	92
2.2.4. Transthyrétine (TTR).....	92
3. Biais de la recherche.....	93
3.1. Signification statistique versus signification clinique.....	94
3.2. Étude de puissance statistique	95
4. Limites, difficultés et application du modèle Combo.....	95
Section 5 : Conclusion.....	99
Bibliographie.....	<i>i</i>

Liste des tableaux

Article :

<i>Table 1 : Testing time effect and specific comparison vs. baseline of the static weight bearing for the right hind limb.....</i>	<i>71</i>
<i>Table 2: Testing time effect and specific comparison vs. baseline of the paw withdrawal threshold for the right hind paw.....</i>	<i>73</i>
<i>Table 3: Between-groups comparison of neuropeptide spinal concentrations (mean \pm standard deviation) in surgical and chemical models of osteoarthritis pain in rats.....</i>	<i>75</i>

Liste des figures

*Figure 1 : Articulation du genou droit d'un lapin, anatomiquement similaire au genou du rat, en vue crâniale, latérale et caudale.*²² 5

*Figure 2 : Articulation du genou droit d'un humain en flexion, en vue antérieure avec la patella rétractée distalement (a) ; et Surface tibiale proximale du genou droit d'un humain en vue transverse (b).*²⁷ 6

*Figure 3 : Histologie du cartilage articulaire d'un chien adulte. Les étiquettes I, II, III et IV représentent les zones superficielles, de transition, profonde et calcifiée respectivement. L'étiquette TM représente la ligne d'érosion (tidemark).*²⁸ 11

Article :

Figure 1: Percentage body weight (%BW) (mean \pm standard deviation) of the right hind limb for the static weight bearing by day (D)..... 72

Figure 2: Paw withdrawal threshold (PWT) (mean \pm standard deviation) of the right hind paw by day (D). 74

Liste des sigles et abréviations

µm	micromètre
AC	enzyme Adénylate Cyclase
ACTH	<i>AdrenoCorticoTropic Hormone</i> , hormone adrénocorticotrope
ADAMTS	<i>A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin domain</i> peptidase
AMPA	<i>α-Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazolePropionic Acid</i>
ANOVA	<i>ANalysis Of VAriance</i>
ASIC	<i>Acid-Sensing Ion Channels</i>
BK	<i>BradyKinin</i> - bradikinine
BW	<i>Body Weight</i>
Ca ₁₀ [PO ₄] ₆ [OH] ₂	hydroxyapatite de calcium
CCLT	<i>Cranial Cruciate Ligament Transection</i> , transection du ligament croisé crânial
CGRP	<i>Calcitonin Gene Related Peptide</i>
CIDN	Contrôles Inhibiteurs Diffus Nociceptifs
COX-2	enzyme cyclo-oxygénase 2
DMM	<i>Partial Medial Meniscotomy</i> , méniscotomie médiale partielle
DOR	récepteur opioïde delta
DWB	<i>Dynamic Weight Bearing</i> , port de poids dynamique
dynA	dynorphine A
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i> , facteur de croissance des fibroblastes
GH	<i>Growth Hormone</i> , hormone de croissance
GLM	<i>Generalized Linear Model</i> , modèle linéaire généralisé
GRD	Ganglion de la Racine Dorsale
GREPAQ	Groupe de Recherche en Pharmacologie Animale du Québec

IASP	International Association for the Study of Pain
IGFs	<i>Insulin-like Growth Factors</i> , facteurs de croissance analogues à l'insuline
IL-1	InterLeukine 1
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LABORAS	<i>Laboratory Animal Behavior Observation Registration and Analysis System</i>
m/s	mètre par seconde
M-CSF	<i>Monocyte Colony-Stimulating Factor</i> , facteur stimulant la croissance des monocytes
MIA	mono-iodo-acétate de sodium
MMP	<i>Matrix MetalloProteinase</i> , métalloprotéinase matricielle
MOR	récepteurs opioïdes mu
MTL	<i>MeniscoTibial Ligament</i> , ligament méniscotibial
NFκB	Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, facteur nucléaire kappa de chaîne légère-rehausseur de cellules B activées
NKA	neurokinine A
NK1	<i>NeuroKinin receptor 1</i> , récepteur à la neurokinine 1
NK2	<i>NeuroKinin receptor 2</i> , récepteur à la neurokinine 2
NK3	<i>NeuroKinin receptor 3</i> , récepteur à la neurokinine 3
NMI	Neurone Moteur Inférieur
NMS	Neurone Moteur Supérieur
NMDA	<i>N-Methyl-D-Aspartate</i>
NO	oxyde nitrique
OA	<i>OsteoArthritis</i>
OARSI	<i>OsteoArthritis Research Society International</i>
PEAP	<i>Place Escape Avoidance Paradigm</i> , paradigme de l'évitement ou échappement d'un lieu

PG	ProstaGlandines
PGE2	ProstaGlandine E2
PKA	PhosphoKinase A
PTAE	<i>Punctuate Tactile Allodynia Evaluation</i> , évaluation de l'allodynie tactile ponctuelle
PTH	<i>ParaThyroid Hormone</i> , hormone parathyroïdienne
PTH-rp	peptide associé à la PTH
PWT	<i>Paw Withdrawal Threshold</i> , seuil de retrait de la patte
RANKL	<i>Receptor Activator of NFκB Ligand</i> , ligand du récepteur activateur du facteur nucléaire κB
SP	Substance P
SST	<i>SomatoStaTin</i> , somatostatine
SWB	<i>Static Weight Bearing</i> , port de poids statique
TGF-β	<i>Tumor Growth Factor beta</i> , facteur de croissance tumoral bêta
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> , facteur de nécrose tumoral alpha
TM	<i>TideMark</i> , ligne d'érosion
TRPC	<i>Transient Receptor Potential Cation channel</i>
TRPM8	<i>Transient Receptor Potential Menthol-8</i>
TRPV1	<i>Transient Receptor Potential Vanilloid-1</i>
TSH	<i>Thyroid Stimulating Hormone</i> , hormone stimulant la thyroïde
TTR	<i>TransThyRetin</i> , transthyrétine
VIP	<i>Vasoactive Intestinal Peptide</i> , peptide intestinal vasoactif

*À mes patients passés, présents et futurs qui peut-être,
un jour, bénéficieront d'une meilleure qualité de vie.*

Remerciements

Au Professeur Éric Troncy,

Pour avoir accepté au sein de son équipe un « vilain petit canard » aux aspirations chirurgicales.

Au Professeur Bertrand Lussier,

Pour avoir su pousser le vilain petit canard « en bas du nid ».

Au Docteurs Julie Gervais, Martin Guillot et Maxim Moreau, et à Colombe Otis et Dominique Gauvin,

Pour avoir su me garder en ligne droite dans le labyrinthe, pour leurs petites et grandes contributions qui sont toujours appréciées.

Au Docteur Francis Beaudry,

Pour son expertise particulière.

Au Docteur Jérôme del Castillo,

Pour avoir su me faire peur... juste assez.

À l'équipe d'ArthroLab : Docteur Jean-Pierre Pelletier, Carole Sylvestre, Pascale St-Onge et Patrice Paiement,

Pour m'avoir accueillie comme une des leurs.

Au Docteur Isabelle Demontigny-Bédard, ainsi qu'à Caroline Mérineau et à ma mère Pierrette,

Pour les choses qui n'ont pas de prix.

Section 1 : Introduction

Considérée comme la cause la plus importante de douleur articulaire chronique, l'arthrose entraîne des pertes économiques et de productivité significatives, en plus d'être la source de perte de fonction et d'altération de la qualité de vie chez les individus atteints^{1;2}. Considérant la tendance au vieillissement de la population dans les régions industrialisées du globe, le nombre d'individus atteints et le fardeau socio-économique risquent de continuer d'augmenter au cours des décennies à venir^{1;3}.

L'étiologie de la maladie ne demeure que partiellement comprise malgré la reconnaissance de divers facteurs de risque et elle représente vraisemblablement un ensemble de caractéristiques cliniques et de changements pathologiques liés à des processus dégénératifs se distinguant des conditions inflammatoires, auto-immunes, métaboliques et infectieuses.

La présence de douleur chronique accompagnant l'arthrose demeure également un phénomène qui n'est que partiellement compris. Le cartilage est incapable de générer à lui seul les symptômes reconnus chez les patients arthrosiques. Par contre, les tissus comme l'os sous-chondral, le périoste, les ligaments et la capsule articulaire possèdent une innervation riche et leur contribution à la douleur arthrosique est bien connue.⁴

La présence de neuroplasticité, se traduisant par des signes d'hyperalgésie et allodynie, a été démontrée chez des patients arthrosiques⁵⁻⁷ et évaluée sur divers modèles animaux⁸⁻¹⁴. La composante inflammatoire périphérique est vraisemblablement à l'origine de cette plasticité du système nerveux, mais il semble qu'une composante centralisée participe au maintien de la douleur chronique.^{11; 15-17} Un seul mécanisme ne suffit pas à expliquer l'ensemble des caractéristiques de la douleur arthrosique, ce qui rend complexe l'investigation de la physiopathologie et des cibles thérapeutiques.

Les modèles animaux sont donc une source essentielle d'information et, bien qu'un modèle parfait n'existe pas, la création de modèles reproduisant le plus précisément possible et de manière quantifiable des ensembles de caractéristiques de la maladie humaine possède le potentiel de contribuer à l'avancement des connaissances en ce qui concerne les mécanismes impliqués dans la douleur arthrosique et son traitement

Seront tout d'abord abordées les connaissances actuelles sur la douleur arthrosique, ses bases physiologiques et anatomiques, en particulier pour l'articulation du genou. Ensuite, une revue des modèles animaux disponibles et de leurs caractéristiques sera présentée, avec une attention particulière aux modèles de douleur arthrosique chez les rats. Troisièmement, suivront le protocole et les résultats du projet de recherche de Maîtrise. Ce projet visait à mesurer des données fonctionnelles et des marqueurs spinaux neuroprotéomiques sur de nouveaux modèles chirurgicaux de douleur arthrosique chez le rat et les comparer avec le modèle chimique considéré comme le *gold standard* de l'évaluation de la douleur arthrosique chez le rat. Finalement, les étapes futures dans le développement d'un nouveau modèle chirurgical de douleur arthrosique chez le rat et une discussion sur les implications méthodologiques seront présentées.

Section 2 : Recension de la littérature

1. Anatomie et physiologie du genou

Les articulations peuvent être classées selon différents paramètres tels leur structure (par exemple fibreuses, cartilagineuses ou synoviales) ou leur degré de mobilité (par exemple synarthroses, amphiarthroses ou diarthroses).¹⁸ Chez les mammifères, le genou est décrit comme une diarthrose ou articulation synoviale.¹⁹ Il existe une importante similitude entre le genou murin, humain et celui des léporidés.^{20; 21} Certaines différences sont cependant le résultat de la démarche bipède humaine et seront mises en évidence dans les paragraphes suivants.

1.1. Anatomie macroscopique

L'articulation du genou est en fait composée de deux articulations fonctionnant comme un tout: l'articulation fémoro-tibiale et l'articulation fémoro-patellaire.²¹

Chez le rat, les condyles fémoraux et tibiaux latéraux sont plus volumineux que les médiaux. La zone intercondylienne du tibia de rat forme une dépression distincte. La partie proximale de la diaphyse tibiale présente une convexité crâniale et la partie distale montre une légère convexité caudale. Dans un plan sagittal, le tibia apparaît donc légèrement en forme de "S". Bien que ne faisant pas partie de l'articulation du genou, la fibula, positionnée latéralement et caudalement par rapport au tibia, est attaché proximale à ce dernier par une articulation entre une projection latérale du condyle tibial latéral et la tête de la fibula. Progressant distalement, le tibia et la fibula sont fusionnés. Près de l'articulation talocrurale, les deux os sont à nouveau séparés. La patella, ou rotule, comprend une partie majoritairement osseuse distalement et cartilagineuse proximale et latéralement.²⁰

Un ligament patellaire distinct s'étend de la patella à la tubérosité tibiale. À partir de ce ligament, un coussinet adipeux est localisé dans la fosse intercondylienne fémorale. Proximale, la patella cartilagineuse s'étend, formant la paroi crâniale de la bourse suprapatellaire. Les parties les plus profondes du muscle quadriceps s'insèrent sur la rotule cartilagineuse, alors que les parties les plus superficielles s'attachent à la rotule osseuse.

Lorsque le genou est placé en extension, la partie osseuse de la patella est apposée contre la trochlée fémorale. Lorsque le genou est placé en flexion, c'est majoritairement la rotule cartilagineuse qui est en contact avec la trochlée. Un sésamoïde ou fabella est présent aux origines latérales et médiales du muscle gastrocnémien sur les condyles fémoraux.²⁰

Le ligament collatéral médial prend son origine au niveau de l'épicondyle fémoral médial et s'insère distalement à l'aspect médial du tibia après un trajet linéaire proximo-distal. À l'aspect profond de ce ligament, des fibres de tissu conjonctif se mêlent au ménisque médial. Le ligament collatéral latéral voyage en direction caudale depuis l'épicondyle fémoral latéral jusqu'à la tête de la fibula. Le tendon de l'extenseur long des doigts s'attache sur le condyle fémoral latéral et traverse l'articulation, apposé à l'aspect crânial du ligament collatéral latéral. Profond à l'origine de ce muscle, le muscle poplité, provient d'un tendon mince fixé au condyle fémoral latéral, près de la marge du cartilage articulaire fémoral. Ce tendon suit la circonférence latérale du ménisque latéral caudal et s'insère sur la partie caudale du tibia proximal.²⁰

Chez le rat, les ménisques sont bien développés et le ménisque latéral est plus volumineux. Tous deux contiennent des osselets en forme de pyramide dans leurs cornes. Les osselets dans les cornes crânielles sont proéminents et constamment présents. Il n'est pas toujours possible de discerner un osselet dans la corne caudale du ménisque médial. Les cornes crânielles des deux ménisques sont fixées à la surface condylienne tibiale par des ligaments qui se croisent crânialement aux ligaments croisés. La corne caudale du ménisque médial est ancrée à la zone intercondylienne tibiale par un ligament passant entre le ligament croisé crânial et le ligament croisé caudal. La corne caudale du ménisque latéral est fixée sur le condyle médial du fémur au moyen d'un ligament méniscofémoral qui passe le long du bord caudal du ligament croisé caudal dans la fosse intercondylienne fémorale. Il est également attaché à la surface intercondylienne tibiale par une formation ligamentaire moins distincte, caudalement aux ligaments croisés.²⁰

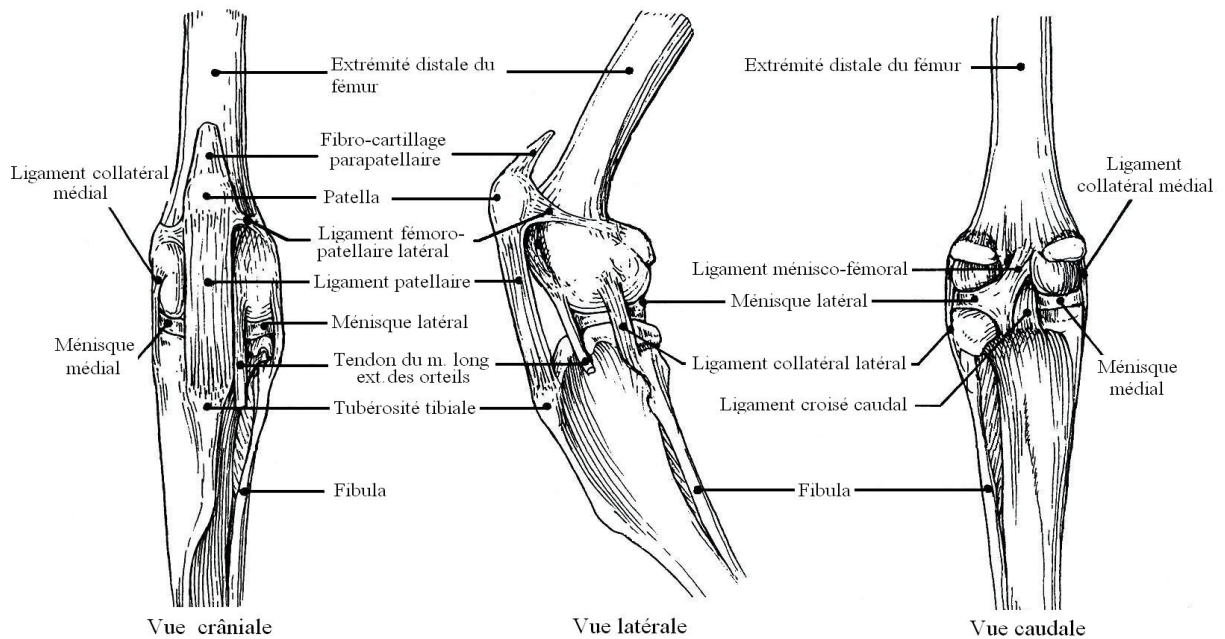


Figure 1 : Articulation du genou droit d'un lapin, anatomiquement similaire au genou du rat, en vue crâniale, latérale et caudale.²²

Les nerfs spinaux sont responsables de l'innervation des muscles et articulations.²³ L'innervation du genou chez les animaux Mammifères émerge majoritairement des segments lombaires, L2 à L6, de la moelle épinière, principaux segments responsables de la formation des nerfs sciatique (L6-S1) et fémoral (L4-L6). Les branches saphènes du nerf fémoral ainsi que le nerf sciatique sont principalement responsables de l'aspect sensitif de l'articulation alors que le nerf sciatique, fémoral et la branche tibiale du nerf fémoral sont responsables de la flexion, l'extension et la rotation du genou.^{10; 20; 23-25}

La présence d'une patella osseuse distalement et cartilagineuse proximale est particulière au rat et diffère de l'humain, chez qui la patella est osseuse uniquement.²⁶ Chez le rat, les cartilages épiphysaires des os long persistent au-delà de la période de croissance, ce qui n'est pas le cas chez l'humain.²⁰ Les ménisques du rat contiennent des ossicules, alors que ces structures sont fibrocartilagineuses chez l'humain.²⁶ L'extenseur long des orteils du rat est intimement associé au ligament collatéral latéral et son ligament traverse l'articulation depuis son origine sur l'épicondyle fémoral latéral.²⁰ Chez l'humain, l'extenseur long des orteils origine du condyle tibial latéral et de la partie proximale de la fibula.²⁶

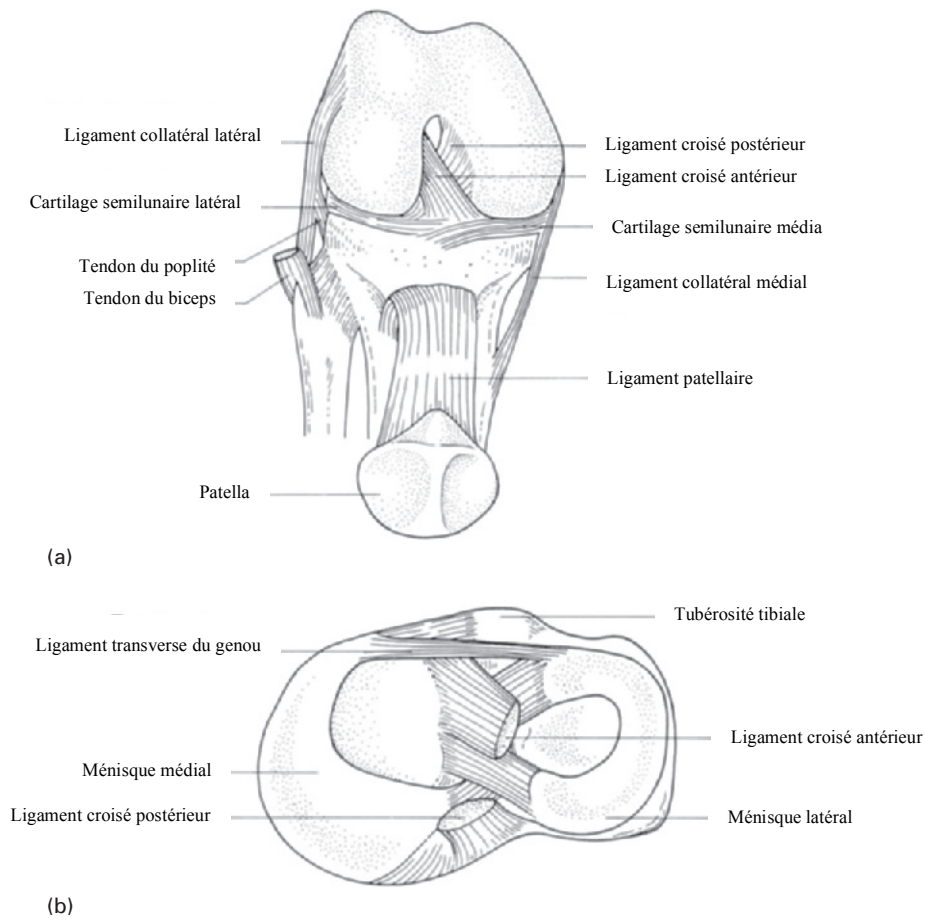


Figure 2 : Articulation du genou droit d'un humain en flexion, en vue antérieure avec la patella rétractée distalement (a) ; et Surface tibiale proximale du genou droit d'un humain en vue transverse (b).²⁷

La majorité de ces différences est liée au fait que le genou murin est maintenu en flexion la plupart du temps alors que le genou humain est surtout en extension lors de la mise en charge.^{20; 26} La démarche quadrupède est aussi reflétée dans les différences entre la géométrie des surfaces articulaires, bien que la majorité des structures soient conservées entre les deux espèces.²⁰

1.2. Composition, biomécanique et histologie des tissus articulaires

1.2.1. Os

Le squelette constitue la trame de base qui prend en charge l'appareil locomoteur et d'un point de vue mécanique, consiste en grande partie en une série de bras de levier visant à contrer la force de gravité et à contraindre et diriger les forces de la contraction musculaire. L'architecture moléculaire de l'os est hautement conservée entre les espèces. Chez l'adulte, l'os existe principalement sous deux formes. L'os cortical, compact, ou ostéonal est composé des unités de Havers, organisées longitudinalement et se chevauchant. Elles sont cylindriques et contiennent un central entouré concentriquement de lamelles osseuses. L'os trabéculaire ou spongieux se trouve principalement dans les régions métaphysaires où il est projeté dans le canal médullaire. Il se compose de fines tiges et plaques interconnectées appelées les trabécules. Les surfaces intérieures et extérieures d'un os sont recouvertes d'une membrane mince, l'endoste et le périoste respectivement. Elles contiennent des cellules ostéoprogénitrices et des ostéoblastes. La matrice extracellulaire du périoste est riche en collagène de type I, en protéoglycanes et en élastine.²⁸

Les principaux types de cellules contenues dans les os incluent les ostéoblastes, ostéocytes et les ostéoclastes. Les activités de ces types de cellules sont à la fois temporellement et spatialement coordonnées pendant la croissance, le remodelage et la réparation de l'os.²⁹ Les ostéoblastes sont responsables de la biosynthèse des composants de la matrice osseuse et expriment également une grande variété de facteurs de croissance et médiateurs ostéogéniques. Leur activité est régulée par une pléthore de signaux extracellulaires, y compris les hormones circulantes, les facteurs endocrines, autocrines et paracrines, des cytokines et des chimiokines. Les ostéocytes sont des ostéoblastes terminalement différenciés qui sont enfermés dans la matrice osseuse au cours de l'ostéosynthèse. Dans le tissu ostéonal, les

ostéocytes occupent des lacunes individuelles contenues dans les lamelles concentriques du système de Havers, communiquent entre eux et avec les ostéoblastes *via* de longs prolongements cytoplasmiques filamenteux qui s'étendent à travers la matrice à l'intérieur des minuscules canalicules remplis de fluide. Les ostéoclastes sont de grandes cellules multinucléées qui dérivent de précurseurs hématopoïétiques de la lignée monocyttaire et sont responsables de la déminéralisation et la dégradation protéolytique de la matrice osseuse. La formation et l'activité des ostéoclastes sont strictement réglementées. Les ostéoblastes sont les principaux orchestrateurs de recrutement des ostéoclastes, de la différenciation, de l'activation et de la production du *monocyte colony-stimulating factor (M-CSF)* et du *receptor activator of NFκB (Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) ligand (RANKL)*. Ainsi, les effets des hormones calcitropiques comme l'hormone parathyroïdienne (PTH) et le peptide associé à la PTH (PTH-rp) sur la mobilisation du calcium de l'os sont largement indirects, et sont médiés par les ostéoblastes par l'expression de RANKL.³⁰

L'os contient relativement peu d'eau (de 5% à 10%) et est composé d'environ 70% de minéral. Le reste est constitué d'une matrice organique avec de petites quantités de constituants cellulaires. Le collagène représente 90% de la matrice organique, essentiellement de type I. Le reste de la matrice organique est constitué de glycoprotéines, de protéoglycanes et de protéines. Le minéral osseux est principalement de l'hydroxyapatite de calcium ($\text{Ca}_{10} [\text{PO}_4]_6 [\text{OH}]_2$) en combinaison avec de petites quantités d'autres minéraux, y compris du carbonate de calcium, du magnésium et d'autres traces d'impuretés. La précipitation initiale des cristaux d'apatite a lieu dans des vésicules spécialisées de la matrice extracellulaire produites par les chondrocytes et les ostéoblastes.²⁸ Les fibrilles de collagène forment l'échafaudage de base sur laquelle la minéralisation se produit. Le composant minéral de la matrice extracellulaire osseuse offre une grande rigidité pour résister principalement aux forces de compression. En revanche, les forces de traction sont supportées principalement par la composante organique. Cette caractéristique supporte le principe que l'os est moins fort lorsque sous tension.³¹ L'os est un tissu dynamique qui subit un remodelage continu. La capacité de l'os à remodeler de manière adaptative en réponse à une charge mécanique (loi de Wolff) a été décrite par le chirurgien allemand Julius Wolff en 1892.³² Depuis, on s'affaire à comprendre les mécanismes

moléculaires complexes et les modes de communication intercellulaire gouvernant le processus de remodelage osseux.

Les données actuelles pointent vers les ostéocytes comme mécano-transducteurs primaires.³³ La sclérostine est un médiateur soluble, produit exclusivement par les ostéocytes, et dont l'expression est régulée par la tension. Elle exerce des effets inhibiteurs puissants sur la prolifération et l'activité des ostéoblastes à proximité. La perte d'ostéocytes peut se produire par des dommages physiques directs ou par l'apoptose. Cette perte facilite l'activation, la prolifération et la régulation positive de la biosynthèse des ostéoblastes.³⁴ L'activation des ostéoblastes implique l'expression de M-CSF et RANKL, les principaux médiateurs de la différenciation ostéoclastique. Dans le contexte d'un traumatisme ou maladie osseuse, de nombreuses cytokines inflammatoires recrutent les ostéoclastes pour résorber l'os au niveau local et créer un puits de résorption ou lacune de Howship. La résorption de la matrice libère de nombreux facteurs de croissance, y compris le facteur de croissance tumoral bêta (TGF- β), les facteurs de croissance analogues à l'insuline (IGFs), les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs), et des fragments de la matrice qui stimulent davantage l'activité des ostéoblastes. A la fin du cycle de résorption, les ostéoclastes subissent une apoptose, et le puits de résorption est préparé pour un nouveau dépôt ostéoïde. Comme les ostéoblastes se voient enfermés dans la matrice qui se minéralise, ils se différencient en ostéocytes, afin de rétablir l'équilibre avec les ostéoblastes à proximité.²⁹

La plupart du remodelage se produit sur des surfaces corticales ou trabéculaire. Toutefois, un processus de remodelage similaire peut également se produire dans les systèmes Haversiens de l'os cortical. Dans ce scénario, les précurseurs ostéoclastiques sont recrutés *via* le système vasculaire Haversien. La différenciation et l'activation de ces cellules conduit à la formation d'un groupe d'ostéoclastes qui peuvent migrer le long d'un canal de Havers, et créer un tunnel de résorption longitudinal dans l'os compact. Cette grappe d'ostéoclastes forme le front d'un cône de coupe et est suivie par des populations d'ostéoblastes qui déposent de nouvelles lamelles d'os.²⁸

1.2.2. Cartilage articulaire

Le cartilage hyalin forme la surface de mise en charge de toutes les articulations diarthrodiales et ses caractéristiques sont hautement conservées entre espèces. L'aspect translucide du cartilage articulaire est principalement dû à sa forte teneur en eau (environ 70%) et la structure fine de son réseau des fibrilles de collagène. Sur une base de poids sec, le cartilage articulaire se compose d'environ 50% de collagène, 35% des protéoglycanes, et 10% d'autres glycoprotéines. Le reste est constitué de minéraux et de lipides divers. Les chondrocytes représentent environ 2% à 10% du cartilage articulaire en volume. Le cartilage articulaire fournit une surface portante à faible frottement et est moyennement résistant à la déformation sous force de compression. Ces propriétés reflètent la composition unique de la matrice extracellulaire, ainsi que la fonction spécialisée des chondrocytes.²⁸

Le cartilage articulaire est structurellement hétérogène avec des variations dans l'architecture moléculaire de différentes articulations et entre les zones articulaires recevant une charge et celles qui n'en reçoivent pas. Le cartilage articulaire est subdivisé en trois zones non minéralisées (I à III), qui sont délimités du cartilage calcifié (zone IV) par la ligne d'érosion (*tidemark*). La limite profonde du cartilage calcifié est formée à l'issue d'ossification endochondrale de la plaque de croissance épiphysaire arrivée à maturité. Chez les Mammifères adultes, la zone I (zone superficielle) a la plus forte densité de cellules. Les chondrocytes sont relativement petits et plats, et sont orientés avec l'axe longitudinal parallèle à la surface. La zone II (zone de transition) montre des profils cellulaires plus volumineux et arrondis. Dans la zone III (zone d'hypertrophie et maturation), les cellules sont plus grandes et sont disposées avec leurs axes longitudinaux perpendiculaires à la surface.²⁸

L'architecture du cartilage articulaire est complémentaire à l'organisation de la matrice de fibrilles de collagène. L'organisation géométrique des fibrilles varie selon le site anatomique et la profondeur dans le tissu, ainsi que la présence d'une surface de mise en charge ou non. Dans la zone superficielle (zone I), les fibrilles de collagène sont essentiellement tangentes à la surface articulaire. Cette zone est soumise à une tension parallèle à la surface articulaire. Dans la zone de transition (zone II), des forces de cisaillement et de compression sont induites et les fibrilles sont organisées en un réseau isotrope tridimensionnel, avec un grand nombre de fibrilles plus grandes perpendiculaires à la surface, tandis que les petites fibrilles se déploient

comme les branches d'un arbre. Dans les zones profonde et calcifiée (zones III et IV), où les forces de compression dominant, les fibrilles sont plus grandes, sont essentiellement perpendiculaires à la surface et forment un maillage plus rigide, qui peut être partiellement minéralisé. Ainsi, la couche superficielle est résistante à l'usure et forme une barrière de protection tandis que les fibrilles dans les zones intermédiaires et profondes sont organisées pour résister à la compression.³⁵ La concentration de protéoglycanes augmente avec la profondeur et les fibrilles de collagène sont plus concentrées à la surface. La concentration accrue de protéoglycanes dans le cartilage plus profond est spécifiquement associée à une résistance à la compression.

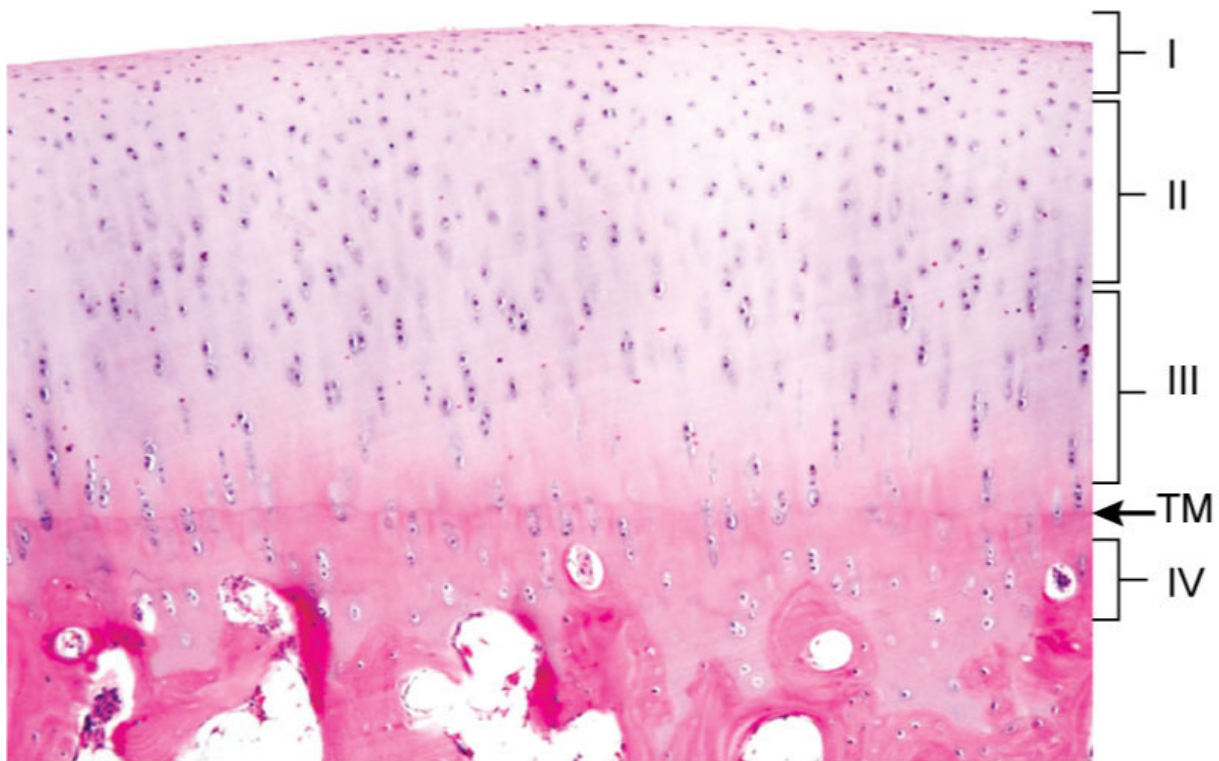


Figure 3 : Histologie du cartilage articulaire d'un chien adulte. Les étiquettes I, II, III et IV représentent les zones superficielles, de transition, profonde et calcifiée respectivement. L'étiquette TM représente la ligne d'érosion (*tidemark*).²⁸

Les chondrocytes synthétisent, organisent et régulent la composition de la matrice dans l'environnement avasculaire et relativement hypoxique du cartilage articulaire. À chaque étape

de la croissance, du développement et de la maturation, la synthèse et la dégradation de la matrice sont ajustées pour produire un équilibre. Chez l'animal adulte, le taux de renouvellement du collagène est très lent (environ 120 ans chez le chien, 400 ans chez l'humain) mais le renouvellement des protéoglycanes est plus rapide (environ 300 jours chez le chien).^{36; 37} Lors d'une perte de protéoglycanes de la matrice cartilagineuse, elles peuvent être remplacées par synthèse *de novo*. Toutefois, une perte marquée est irréversible et résulte en une dégénération du cartilage.³⁸ Dans des conditions normales, le renouvellement de la matrice extracellulaire est conditionné par le stress mécanique, des cytokines et des facteurs de croissance produits par les chondrocytes et les cellules de la membrane synoviale, régulé en un équilibre strict et continu.^{32; 36}

La majeure partie du collagène dans le cartilage articulaire est de type II (85% à 90% du total); de petites quantités de types VI, IX, XI, XII et XIV sont également présentes.³⁹ Le collagène de type XI occupe une position centrale à l'intérieur des fibrilles de collagène, où il participe à l'auto-assemblage du tropocollagène (l'unité structurelle de base) et limite la croissance latérale des fibrilles.⁴⁰ Le collagène de type IX est une molécule plus petite avec une triple hélice interrompue et une chaîne latérale de sulfate de chondroïtine qui se trouve sur la surface de la fibrille. Il a également un domaine globulaire, qui s'étend depuis la surface de la fibrille dans la matrice périfibrillaire. Le collagène de type IX stabilise aussi la croissance latérale des fibrilles et est important dans la stabilité de l'organisation tridimensionnelle de la matrice. Les agrécans, le principal protéoglycane du cartilage articulaire, sont riches en sulfate de chondroïtine et en chaînes latérales de sulfate de kératane. Les monomères isolés d'agrécans sont hétérogènes en taille et sont constitués approximativement de 90% de glucides. Jusqu'à 100 monomères peuvent être liés à une seule épine dorsale de l'acide hyaluronique et générer des complexes moléculaires massifs.²⁸

Plusieurs petites protéoglycanes riches en leucine sont présentes dans le cartilage articulaire et peuvent être divisées en deux groupes : les petites protéoglycanes riches en leucine et sulfate de chondroïtine et de dermatane, et les protéoglycanes riches en leucine et sulfate de kératane.⁴¹⁻⁴³ Les fonctions de ces petites protéoglycanes dans le cartilage articulaire ne sont pas complètement comprises. Des souris *knock-out* avec des mutations nulles, pour la plupart des petites protéoglycanes riches en leucine, ont des phénotypes musculo-squelettiques

complexes et des changements souvent subtiles, qui reflètent la redondance fonctionnelle des membres de la famille des protéoglycanes riches en leucine. Des protéines non collagènes et non protéoglycanes telles des protéines-liens, fibronectines, protéines de la matrice du cartilage oligomérique, thrombospondine et ténascine, constituent une petite mais importante partie du cartilage et contribuent aux interactions avec les autres composantes articulaires.⁴⁴

La lubrification est essentielle pour l'environnement à faible frottement de l'articulation. Un film de fluide est produit par exsudation entre les surfaces en contact lors de la mise en charge du cartilage.⁴⁵ En situation de contact direct, la lubricine et divers surfactants phospholipides fournissent la lubrification du cartilage.²⁸

Le cartilage articulaire peut soutenir de grandes déformations volumétriques et de cisaillement pendant l'activité normale, des déformations élastiques et les changements sont donc réversibles. Les charges appliquées à la surface articulaire sont partagées entre les différents composants de la matrice. Le module d'élasticité relativement faible du cartilage articulaire permet la déformation des tissus, ce qui augmente la congruence des surfaces opposées. Cette augmentation de la surface améliore la stabilité des articulations et diminue le stress sur la surface. En outre, cette déformation redistribue les fluides depuis la région comprimée vers les régions adjacentes. Ceci est facilité par la faible perméabilité et haute pression de gonflement interne du cartilage. Ces deux propriétés reflètent la capacité du cartilage de maintenir son hydratation sous pression, grâce à une faible perméabilité hydraulique et une haute pression osmotique des protéoglycanes.⁴⁶ La force de résistance dépend de l'organisation structurale, de la rigidité et la force du réseau de collagène. Un défaut dans l'un ou l'autre de ces éléments diminue l'intégrité mécanique du cartilage et peut conduire à la dégénérescence et perte de fonction articulaire.⁴⁷

1.2.3. Tendons et ligaments

Les tendons sont des bandes denses riches en collagène qui relient les muscles aux os, ou forme des connexions entre les muscles. Certains tendons sont entourés d'une gaine synoviale qui fournit un environnement à faible friction. La fonction principale des tendons est de transférer la force de la contraction musculaire au squelette. Leur composition en fibres élastiques et rigides varie selon la localisation et la fonction spécifique de chaque tendon.^{48; 49}

Les ligaments sont des bandes de tissu conjonctif qui prennent leur origine ou s'insèrent sur les os. Ils recouvrent généralement une articulation où ils contribuent à sa stabilité et limitent sa mobilité. Les ligaments capsulaires sont des épaisissements focaux du composant fibreux de la capsule articulaire. Les ligaments intra-articulaires, tels que les ligaments croisés, traversent une articulation dans les limites de la cavité synoviale et sont recouverts d'une gaine mince et vascularisée qui se confond avec le périoste à son insertion.⁵⁰

Les composants cellulaires et extracellulaires des tendons et ligaments sont très similaires.^{51; 52} Les ténocytes et ligamentocytes sont des cellules fibroblastiques allongées qui sont alignées avec des fibres de collagène et sont reliées entre elles par de longues extensions cytoplasmiques. La matrice extracellulaire des tendons et ligaments se compose principalement de collagène dense de type I, avec de petites quantités de types II, III, V, VI, IX et XI. Le diamètre des fibrilles de collagène dans le tendon et ligament suit une distribution bimodale lorsqu'on les observe en coupe transversale, ce qui augmente l'efficacité de remplissage des fibrilles.⁵³ Les tendons et ligaments peuvent aussi contenir des fibres élastiques, selon les réquisitions fonctionnelles du tissu.⁵²

Les tendons et les ligaments sont des structures anisotropes. Ils ont de grandes rigidité et résistance lorsque soumis à des charges de traction longitudinales, mais montrent une rigidité relativement négligeable lorsque chargés transversalement. Ils présentent également des propriétés viscoélastiques puisque la rapidité d'application d'une charge affecte la réponse du tissu. Ces propriétés anisotropes et de traction en fonction du temps découlent de l'alignement des fibrilles de collagène.

Les tendons et ligaments illustrent les avantages qui résultent de la hiérarchisation des fibrilles de collagène. Des fibrilles de plus grand diamètre permettent une plus grande rigidité et prédominent dans les grands tendons et ligaments qui sont soumis à des charges élevées. De nombreuses fibrilles de plus petit diamètre fournissent une plus grande surface fibrillaire et contrôlent finement les propriétés viscoélastiques. Notamment, les fibrilles de collagène d'un ligament ou d'un tendon guérissant après une blessure présentent un diamètre globalement plus faible que les fibrilles natives. Ceci contribue vraisemblablement aux propriétés mécaniques inférieures des régions cicatrisées des tendons et ligaments.^{53; 54}

Les enthèses sont des régions spécialisées d'un tendon ou un ligament au site de leur insertion sur l'os.⁵⁵ Elles peuvent être fibreuses ou fibrocartilagineuses. Les enthèses fibreuses prédominent aux sites d'attachement diaphysaire et sont composées de denses bandes de collagène, les fibres de Sharpey, qui fusionnent avec la membrane périostée. Les enthèses fibrocartilagineuses forment une zone de transition entre les fibres de collagène du tendon ou ligament et l'os. Elles prédominent aux sites d'insertion apophysaires et métaphysaires.^{55; 56}

1.2.4. Ménisques

Le fibrocartilage est un composant de nombreux tissus musculo-squelettiques, incluant les ménisques de l'articulation fémoro-tibiale et les insertions fibrocartilagineuses parapatellaires des muscles du groupe quadriceps. Le fibrocartilage est une forme spécialisée de cartilage qui se compose de chondrocytes en suspension dans une matrice extracellulaire dense et riche en collagène de type I. En comparaison avec le cartilage articulaire, il contient des quantités relativement faibles de protéoglycanes. Les fibrilles de collagène sont orientées en grande partie conformément aux charges supportées par le tissu.⁵⁷ À noter que du fibrocartilage se développe aussi pendant le processus de guérison de nombreux tissus y compris les os, les tendons et ligaments, et est le matériau prédominant déposé suivant des défauts de pleine épaisseur du cartilage articulaire.²⁸

1.2.5. Cavité et capsule articulaires

La cavité articulaire est l'espace défini par les cartilages articulaires et les membranes synoviales. Elle contient le liquide synovial, nécessaire à la mobilité des structures articulaires et à leur nutrition.¹⁸

La capsule articulaire est l'enveloppe contenant l'articulation. Elle se constitue de deux couches distinctes : une membrane fibreuse composant la couche externe et une membrane synoviale ou couche interne. La membrane fibreuse est en continuité avec le périoste, et est résistante et peu élastique.¹⁸ Ses fonctions de protection sont prédominantes et sont supportées par les composantes ligamentaires.⁵⁸ La couche externe contient de multiples terminaisons nerveuses et est nécessaire à la proprioception. La membrane synoviale produit la synovie. Elle recouvre la surface interne de la couche externe et les structures osseuses articulaires non recouvertes de cartilage. Elle peut être elle-même divisée en deux couches : une partie interne

formée par du tissu conjonctif lâche et une partie externe composée d'un tissu élastique.¹⁸ Une riche vascularisation est présente ainsi qu'une innervation extensive, provenant des mêmes nerfs qui contrôlent la musculature associée à l'articulation.⁵⁸

1.2.6. Organisation du système nerveux

Différents types de classifications sont employés pour décrire le système nerveux central. Les divisions motrices (efférentes), sensorielles (afférentes) sont classiquement reconnues. Le système moteur se divise en somatique (volontaire) et autonome (involontaire, sympathique ou parasympathique). D'un point de vue neuro-anatomique, les divisions peuvent être basées sur le développement embryologique.^{23; 26}

L'organisation du système nerveux central est segmentaire, avec une paire de nerfs spinaux séparant chacun des segments. Chaque nerf spinal comprend une racine dorsale ou motrice et une racine ventrale ou sensorielle.²³

La plupart des muscles sont innervés par des nerfs qui proviennent de plusieurs segments, une adaptation rendant le système nerveux moins vulnérable.^{20; 23}

1.2.6.1. Système moteur

1.2.6.1.1. Neurone moteur supérieur (NMS)

Les neurones moteurs supérieurs sont responsables de l'initiation de fonctions motrices volontaires et de la modulation de l'activité des neurones moteurs inférieurs (NMI). Ils sont localisés dans les cortex cérébraux et le tronc cérébral des systèmes somatiques et autonomes. Leurs axones sont divisés en faisceaux et font synapse dans la matière grise de la moelle épinière par le biais d'inter-neurones ou directement sur les NMI.²³

1.2.6.1.2. Neurone moteur inférieur (NMI)

Toutes les activités motrices sont ultimement exprimées à travers les NMI. Les corps de ces neurones sont localisés dans les cornes intermédiaires et ventrales de la matière grise dans les différents segments spinaux. Leurs axones forment les nerfs spinaux.²³

1.2.6.2. Système sensoriel

Les systèmes sensoriels peuvent être divisés en système sensoriel général (segmentaire et faisceaux longs), système proprioceptif général et systèmes sensoriels spéciaux (l'ouïe par exemple).²³

1.2.6.2.1. Neurones sensoriels segmentaires

Ces neurones sont localisés dans les ganglions spinaux des racines dorsales de la moelle épinière. Leurs récepteurs sont sensibles à la pression, au toucher, à la température et à la douleur. Leurs axones sont contenus dans les nerfs périphériques et font synapse sur des interneurons avant de rejoindre les composantes motrices du système nerveux ou les centres supraspinaux.²³

1.2.6.3. Faisceaux longs

Deux types de fibres relaient l'information nociceptive le long de la moelle épinière. Ils sont dits superficiels ou profonds, dépendant de leur localisation. Le système superficiel voyage depuis la peau (par exemple secondairement à un pincement), la moelle épinière et le thalamus jusqu'au cortex cérébral contro-latéral où la douleur sera reconnue. Le système profond (par exemple la douleur provenant des os et articulations) est bilatéral et multi-synaptique. Il projette à la formation réticulée, au thalamus puis au cortex cérébral. Ce système est hautement résilient et permet la perception de stimuli nociceptifs même en présence d'un dommage significatif au système nerveux.^{23; 26}

2. Arthrose

2.1. Épidémiologie

L'arthrose est une pathologie d'importance tant chez les patients vétérinaires que humains. On estime qu'un chien adulte sur cinq est atteint d'arthrose.⁵⁹ Chez le chat, la condition est moins bien documentée cliniquement,⁶⁰ bien que certaines études fassent mention d'une prévalence de signes radiographiques d'arthrose atteignant près de 34% et de signes cliniques autour de 16%, majoritairement chez des chats de 10 ans et plus.⁶¹ Aux États-Unis, l'arthrose est la cause la plus importante de douleur articulaire chronique et de perte de fonction articulaire chez l'humain.⁶²⁻⁶⁴ Cette maladie occasionne des pertes économiques et de productivité

considérables. La douleur qui y est liée représente le motif de consultation médicale le plus fréquent pour les personnes âgées. En 2005, il était estimé que 37% des Américains de 60 ans et plus présentaient des symptômes liés à l'arthrose du genou, pour un total d'environ 27 millions d'individus atteints d'arthrose clinique aux Etats-Unis.⁶² Au Canada, 4,2 millions de patients ont reçu un diagnostic d'arthrose, ce qui représente 16% de la population.¹ La prévalence de l'arthrose représente 3,2 fois plus que celle des maladies cardiovasculaires au pays.⁶⁵ Considérant la tendance au vieillissement de la population et à l'allongement de l'espérance de vie moyenne au Canada, ces chiffres risquent de continuer d'augmenter au cours des décennies à venir.^{1;3}

2.2. Étiologie et facteurs de risque

L'arthrose fait partie d'une large catégorie comprenant une centaine de maladies qu'on regroupe sous le terme d'arthrites. Elle se distingue cependant des maladies inflammatoires, auto-immunes, métaboliques et infectieuses. L'arthrose est une condition dégénérative qui affecte la structure et la fonction de l'articulation et qui cause de la douleur.⁶⁶ L'étiologie ne demeure cependant que partiellement comprise et il n'y a pas de consensus quant aux critères de définition exacts de la maladie.⁶⁷ L'arthrose n'est pas une maladie unique, mais plutôt un ensemble caractéristique de signes cliniques et de changements pathologiques dans les tissus articulaires. Plusieurs sous-types, classifiés entre autres par la cause et le degré d'inflammation, ont été suggérés.⁶⁸ La pathogenèse moléculaire de l'arthrose peut être différente selon le facteur déclenchant. Ce dernier peut être biomécanique, post-traumatique, par exemple une blessure ligamentaire ou méniscale, post-inflammatoire ou génétique comme lors d'arthrose associée au polymorphisme d'un seul nucléotide. En plus d'avoir des causes diverses, les méthodes diagnostiques actuelles sont relativement insensibles aux changements présents avant la modification morphologique de l'articulation.⁶⁹

Certains facteurs de risque individuels d'origine génétique ou socioculturelle ont été mis en évidence chez les patients humains tels que l'âge, le sexe, la présence d'un surpoids et l'ethnicité.⁶⁷

De manière générale, un déséquilibre entre les forces appliquées à une articulation et la capacité du cartilage à gérer ces forces mènera à de l'arthrose. Cela peut se produire lorsqu'un

cartilage normal est soumis à une mise en charge anormale ou qu'un cartilage présentant des altérations structurelles ou métaboliques est soumis à une mise en charge normale.^{4; 70} Structurellement, l'arthrose se caractérise par le remodelage de l'os sous-chondral, la dégradation du cartilage, la présence d'ostéophytes et l'inflammation (ou «activation») des structures synoviales. Elle implique donc tous les tissus de l'articulation. Ces changements sont le reflet du processus dégénératif et des tentatives de réparation des lésions par l'organisme et font partie d'un processus dynamique et continu, variable selon le stade de progression de la maladie.^{71; 72}

Il semble de plus en plus évident que les tissus mous de l'articulation (synovie, ligaments et tissus adipeux) jouent un rôle non négligeable dans la physiopathologie et contribuent aux changements structurels et biochimiques du cartilage et de l'os sous-chondral.⁴

2.3. Physiopathologie

Le cartilage mature est composé d'un seul type cellulaire : les chondrocytes. Ces cellules sont responsables du maintien de la matrice cartilagineuse. En situation pathologique, les chondrocytes participent à la destruction de cette matrice. En réponse aux cytokines pro-inflammatoires et chimiokines relâchées par la synovie, les chondrocytes pourront d'eux-mêmes produire des facteurs pro-inflammatoires.⁷³ Différents cytokines, facteurs de croissance et composants de la matrice cartilagineuse [interleukine 1 (IL-1), facteur de nécrose tumoral alpha (TNF- α), *Toll-like receptors*, TGF- β , etc.) servent de molécules de signalisation pour divers processus allant de la différenciation cellulaire à l'apoptose en passant par la protection du cartilage, et trouvent un rôle dans la pathogénie de l'arthrose.⁷⁴

Dans un cartilage normal, les chondrocytes sont quiescents. Lorsqu'exposés à différentes insultes telles des cytokines inflammatoires, un stress mécanique sévère ou des produits de dégradation de la matrice, un large éventail de changements dans la signalisation cellulaire mènera à des modifications phénotypiques des chondrocytes, l'apoptose et une expression génique aberrante. Ces événements causeront un déséquilibre entre les réponses anaboliques et cataboliques des cellules typiquement retrouvées lors d'arthrose. Bien que le rôle pro-inflammatoire des cytokines dans la pathogénie soit bien établi, les mécanismes sous-jacents ne sont pas encore bien définis.⁷⁵

La dégradation et la perte du cartilage articulaire est causée majoritairement par la protéolyse des molécules structurelles les plus importantes : le collagène de type II et les aggrecanes.⁷⁶ L'enzyme métalloprotéinase de la matrice 13 (MMP-13) est la principale responsable de la dégradation du cartilage. ADAMTS-4 et ADAMTS-5 (*a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin domain* peptidase), quant à elles, clivent les aggrecanes.⁷⁷ Actuellement, il n'est pas clair si la dégradation du cartilage est majoritairement le résultat de l'activité MMP-13, ADAMTS-4 et ADAMTS-5 ou bien les deux ou lesquelles sont les mieux corrélées avec la progression des lésions arthrosiques. Cependant, les produits de dégradation du cartilage par ces enzymes génèrent des molécules caractéristiques qui pourraient servir de biomarqueurs qui seraient potentiellement utiles dans le monitoring de l'incidence et la progression de l'arthrose et l'efficacité thérapeutique de produits anti-cataboliques.⁷⁸

3. Douleur

3.1. Définitions et nomenclature

L'*International Association for the Study of Pain* (IASP) définit la douleur comme une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire existant ou potentiel ou décrit en termes d'un tel dommage.⁷⁹

Tout d'abord une expérience sensorielle, la douleur est fondamentalement liée au dommage physique mais n'est pas limitée à la présence d'un stimulus.⁷⁹ La composante émotionnelle (expérience désagréable) définit la douleur comme un phénomène subjectif et l'unique implication des voies nociceptives (nociception ou détection d'un stimulus nociceptif) ne suffit pas à créer de la douleur (l'expérience).⁸⁰ Aussi, l'expression verbale du phénomène n'est pas requise pour que la douleur existe.⁷⁹

Pour être perçue, la douleur requière donc la composante périphérique, la transduction et la transmission du message nociceptif, et la composante centrale, la modulation et l'intégration du message douloureux conduisant à sa perception. La nociception regroupe les phases de transduction, transmission et modulation. Bien qu'essentiellement centrale aux étages supérieur ou spinal, la modulation peut aussi avoir des répercussions sur la composante périphérique. Bien que subjective, la douleur est mesurable.⁷⁹

3.2. Transduction

Tout commence d'abord par une stimulation. Toute stimulation ne sera pas interprétée comme douloureuse. La nociception est le processus par lequel des stimuli thermiques, mécaniques, ou chimiques potentiellement dommageables sont détectés par des fibres nerveuses périphériques appelées nocicepteurs.⁸¹ Chez différentes espèces animales, 80% des fibres afférentes de l'articulation sont nociceptives, ce qui suggère l'importance évolutive de la détection de mouvements ou stimuli potentiellement dommageables.⁸² Des types anatomiquement distincts de fibres afférentes émanent de l'articulation et transmettent de l'information sensorielle spécifique. Premièrement, des fibres myélinisées de large diamètre, les fibres A-beta, sont responsables de la transmission d'information sur la position et les vibrations des articulations et sont retrouvées dans les ligaments et la capsule articulaire. Elles transmettent aussi des informations sur des stimuli mécaniques inoffensifs comme le toucher. Ensuite, des fibres non myélinisées (fibres C) et des fibres myélinisées de faible diamètre (fibres A-delta) sont responsables de la transmission d'information qui sera ultimement interprétée comme douloureuse.⁸³⁻⁸⁵ Les fibres A-delta de diamètre 1 à 5 μm permettent de transmettre la douleur bien localisée et aiguë rapidement (5 à 30 m/s). Elles sont distribuées un peu partout dans l'articulation, à l'exception du cartilage. Les fibres C (0,25 à 1,5 μm) véhiculent plus lentement (0,5 à 2 m/s) une douleur mal localisée, lente ou lancinante.

La myéline est une couverture composée de lipides et de protéines entourant certains axones. Elle est une extension des cellules de Schwann et permet une transmission plus rapide de l'influx nerveux.²⁶

La plupart des nocicepteurs sont des canaux ioniques peu sélectifs influencés par des stimuli comme la température, la pression ou certaines substances chimiques. Une fois activés, les canaux s'ouvrent vers l'intérieur et le flux entrant d'ions sodium et calcium produit un courant qui dépolarise la membrane. La présence, la spécificité et le seuil de ces transducteurs définissent les différentes catégories de fibres afférentes primaires. La plupart des fibres sont considérées polymodales et répondent à de divers types de stimuli, alors que certaines sont unimodales et répondent à une seule forme de stimulus.⁸⁶

Il est possible de subdiviser les nocicepteurs A-delta en deux types basés sur leurs propriétés électrophysiologiques. Le type I répond à des stimuli mécaniques et chimiques et à des températures relativement élevées (plus de 50 °C). Cependant, si le stimulus thermique est maintenu, une réaction sera possible à des températures plus basses. Ces nocicepteurs vont aussi se sensibiliser secondairement à des lésions tissulaires et le seuil thermique ou mécanique va baisser. Ils participent vraisemblablement à la médiation de la première douleur, celle associée à un stimulus mécanique intense comme une piqûre avec une aiguille.⁸⁶ Les nocicepteurs de type II ont un seuil thermique beaucoup plus faible, mais un seuil mécanique très élevé. Ils sont considérés comme les « premiers répondants » en cas de douleur aiguë ou de chaleur nocive.⁸⁷

Les fibres non myélinisées de type C sont pour la plupart polymodales et comprennent une population qui est à la fois sensible à la chaleur et aux stimuli mécaniques.⁸⁸ Certains de ces nocicepteurs sont sensibles à la chaleur mais mécaniquement insensibles, à moins d'un mouvement de torsion de l'articulation ou d'un mouvement allant au-delà de l'amplitude normale. Ils sont dits « nocicepteurs silencieux ». Ils peuvent aussi être activés par d'autres stimuli comme l'inflammation et développer une sensibilité mécanique suivant une blessure. Ils sont aussi sensibles aux stimuli chimiques et entrent en jeu lorsque l'inflammation modifie leurs propriétés.^{84; 89}

Les fibres C composent un groupe particulièrement hétérogène. Une sous-population est dite « peptidergique » car ces nocicepteurs C libèrent des peptides tachykinines tels la substance P (SP) et le *calcitonin-gene related peptide* (CGRP). Toutes les fibres C ne sont pas des nocicepteurs et certaines ne réagissent qu'au froid ou au toucher léger.⁸⁶

L'activation de canaux ioniques peut aussi produire une stimulation des neurones sensoriels périphériques. Les types voltage-dépendants et les canaux calciques sont tous deux sur-régulés en condition inflammatoire et le blocage des canaux résulte en une activité analgésique.⁹⁰⁻⁹²

Les nocicepteurs peuvent également être distingués selon leur expression différentielle de canaux qui confèrent une sensibilité à la chaleur (*transient receptor potential vanilloid-1* [TRPV1]), au froid (*transient receptor potential menthol-8* [TRPM8]), à l'acidité (*acid-sensing ion channels* [ASIC] et TRPV) et à différents irritants chimiques (*transient receptor*

potential cation channel [TRPC]).⁸⁷ Les inhibiteurs de TRPV1 ont montré une activité analgésique dans différents modèles animaux de douleur incluant des modèles d'arthrose. Des inhibiteurs sélectifs ont été testés chez l'humain, mais ces études ont toutes été suspendues à cause de l'hyperthermie qu'ils engendraient.⁹³

Les fibres afférentes primaires ont une morphologie unique, appelée pseudo-unipolaire, par laquelle deux bornes, une centrale et une périphérique, émanent d'un axone commun. La communication est donc bidirectionnelle, depuis la périphérie vers le système nerveux central et aussi en sens inverse. La majorité des protéines synthétisées par la cellule du ganglion de la racine dorsale est distribuée aux deux bornes. Le nocicepteur peut donc envoyer et recevoir des messages de chaque extrémité, ce qui distingue ces fibres du neurone typique où la branche du neurone qui reçoit (dendrites) est biochimiquement distincte de la branche de transmission (axone). Par exemple, l'extrémité centrale relâche des neurotransmetteurs qui permettront à l'extrémité périphérique de relâcher différentes molécules qui influenceront leur environnement local. L'inflammation neurogène se réfère au processus par lequel la libération de neuropeptides périphériques, tels le CGRP et la SP, la bradykinine (BK), *etc.* induit une vasodilatation et une extravasation de protéines plasmatiques.⁸¹ Alors que seule l'extrémité périphérique du nocicepteur répondra aux stimuli de l'environnement, à la fois les terminaux centraux et périphériques peuvent être ciblés par une foule de molécules endogènes (tels que le pH, des lipides et des neurotransmetteurs) qui vont faire varier sa sensibilité. Les agents thérapeutiques dirigés aux deux extrémités peuvent donc influencer la transmission de messages de douleur.^{84; 86}

3.3. Transmission

Une fois le stimulus transformé en impulsion électrique, il doit voyager, par l'entremise des fibres A-delta et C, vers le ganglion de la racine dorsale (GRD) et la corne dorsale de la moelle épinière. Tous les nocicepteurs sensoriels primaires font connexion synaptique avec les neurones dans la matière grise (corne dorsale) de la moelle épinière. Une partie des neurones de la corne dorsale projettent leurs axones et transmettent des messages douloureux aux centres supérieurs, y compris la formation réticulée, le thalamus et le cortex cérébral.⁸¹

3.4. Intégration et perception

Les signaux sont ensuite transmis au cerveau (cortex cérébral), qui est responsable de la perception, de la localisation et de la détermination de la sévérité de la douleur. Il s'agit d'une interprétation consciente du stimulus qui va au-delà de la sensation.²⁶

3.5. Modulation

La modulation est le phénomène par lequel un message est modifié au niveau de la moelle épinière comme douloureux ou non douloureux.²⁸ Contrairement à d'autres sens comme la vision, les récepteurs pour des dommages tissulaires ne reviennent pas nécessairement à leur état de pré-stimulus après l'activation, mais restent « allumés » pour une certaine période de temps. Non seulement la sensibilité des terminaisons nerveuses sensorielles est-elle changée après une blessure, mais les connexions synaptiques à l'intérieur du système nerveux central peuvent aussi être sensiblement modifiées et réorganisées.²⁸ La plasticité est la capacité du système de détection de la douleur de se transformer suivant des stimuli. Ces changements influencent l'activité et la réactivité du système nerveux au niveau anatomique et fonctionnel, ce qui potentiellement transforme la douleur physiologique et protectrice en une douleur pathologique.^{28; 94}

La plasticité du système nerveux soumis à des influx nociceptifs chroniques a été mise en évidence dans de nombreuses études chez diverses espèces animales et chez l'humain. La douleur nociceptive, une douleur par exemple localisée à l'articulation atteinte et variant en intensité selon l'usage de l'articulation, n'est plus la seule mise en cause puisqu'un certain nombre de patients présentent de la douleur référée et de la douleur au repos, ce qui suggère une composante neuropathique.^{16; 85} Ces observations reflètent probablement la présence de sensibilisation des neurones impliqués dans les voies de la douleur périphérique et centrale.⁸³⁻⁸⁵

La douleur, tout comme la composante structurelle de l'arthrose, est un phénomène dynamique. L'intensité et le type de douleur changent avec le temps et varient selon les individus, ce qui pose un défi supplémentaire dans son traitement. Il existe donc

vraisemblablement une multitude de mécanismes plutôt qu'un seul pour expliquer la genèse et le maintien de la douleur arthrosique.⁸²

On décrit comme sensibilisation périphérique un état dans lequel le seuil d'activation des nocicepteurs est diminué et dans lequel les fibres nerveuses deviennent plus sensibles aux stimuli nociceptifs et non nociceptifs. Cliniquement, cette plasticité du système nerveux est détectable par la présence d'allodynie (une réponse douloureuse à un stimulus qui est normalement non nociceptif) ou d'hyperalgésie (une réponse douloureuse exagérée à un stimulus nociceptif donné). Localement, la sensibilisation périphérique s'installe secondairement à la production de médiateurs inflammatoires tels la BK, les prostaglandines (PG) et les cytokines. Ces médiateurs tendent à amplifier la sensibilité des nocicepteurs articulaires aux stimuli mécaniques appliqués à l'articulation.

Ces phénomènes ont été démontrés dans des modèles inflammatoire et arthrosique en plus de la présence d'une activité neuronale en l'absence de mouvement, ce qui suggère l'activation de nocicepteurs silencieux.^{95; 96} Ces observations concordent avec le manque de corrélation entre la sévérité de la condition, l'activité des nocicepteurs et les changements radiographiques chez les animaux et les humains.^{97; 98}

La sensibilisation centralisée prend vraisemblablement origine au niveau périphérique. Les corps cellulaires des afférents se retrouvant dans l'articulation sont localisés dans le GRD. Ce dernier projette des axones à la corne dorsale de la moelle épinière où il y a synapse avec des neurones spinaux de 2^e ordre. Ce neurone transmet alors l'influx nociceptif vers le cerveau par les voies ascendantes de douleur (les voies spinothalamique, spinoréticulaire et spinocervicale) ou sert d'interneurone dans la modulation de l'influx sensoriel. Le message douloureux peut donc être amplifié ou diminué en réponse à l'influx provenant de la périphérie.⁸³⁻⁸⁵

Les conséquences de cette modulation peuvent se refléter dans la sensibilisation centralisée comme une diminution du seuil nécessaire pour que l'information transmise soit interprétée comme douloureuse par le cerveau ou par l'expansion de champ du récepteur (c'est-à-dire la projection de neurones qui ne stimulent normalement pas de réponse douloureuse et qui sont maintenant impliqués dans la transmission de nociception au cerveau). Une des réponses protectrices du système nerveux central peut être expliquée en utilisant l'hypothèse de la

théorie du portillon dans l'apaisement d'une expérience douloureuse. Une stimulation mécanique non nociceptive, comme le fait de froter ou appuyer légèrement une région douloureuse, recrute les fibres de gros diamètre utilisant le même inter-neurone que les fibres transmettant la douleur. Ces grosses fibres facilement recrutées modifient la transmission du message, participant à la modulation du signal.¹⁶

Les modèles animaux ont permis de mettre en évidence une augmentation de la relâche de neurotransmetteurs par les afférents périphériques sensibilisés en plus de la diminution du seuil d'activation au niveau post-synaptique du neurone spinal. Plusieurs neurotransmetteurs, incluant des neuropeptides tels la SP, le CGRP et la neurokinine A (NKA) ainsi que des acides aminés excitateurs, des prostanoïdes et leurs récepteurs sont impliqués. En particulier, la prostaglandine E2 (PGE2) pro-inflammatoire se retrouve précocement lors de processus inflammatoires et une augmentation des niveaux spinaux de l'enzyme cyclo-oxygénase 2 (COX-2) joue probablement un rôle dans le développement de la sensibilisation centralisée. Certains prostanoïdes pourraient aussi avoir l'effet inverse, mais leur activité demeure encore sous investigation.^{84; 85; 89}

Les neuropeptides sont une classe de molécules regroupant plusieurs petits peptides et des molécules «*peptide-like*» qui sont exprimés par les neurones et servent à moduler la communication neuronale par le biais d'une interaction spécifique avec un récepteur situé à la surface de la cellule. Plus de 90 différents neuropeptides ont été identifiés jusqu'à présent et plusieurs jouent un rôle dans les trajets neuronaux impliqués dans la douleur, étant retrouvés dans les tissus articulaires en association avec de l'arthrose dans différents modèles.⁸⁴

Les mécanismes périphériques et spinaux sont essentiels au développement de la douleur arthrosique mais ne sont pas suffisants pour permettre la perception de douleur. L'intensité, la qualité, la localisation spatiale et les changements comportementaux reliés à la douleur nécessitent des mécanismes supraspinaux. La douleur aiguë et la douleur chronique activent des portions distinctes du cerveau.¹⁵ Lors d'induction expérimentale d'une douleur aiguë (douleur thermique), les zones somato-sensorielles du cerveau responsables de l'interprétation de la douleur étaient activées tel qu'attendu.⁹⁹ En contraste, l'induction d'une douleur chronique neuropathique conduit à une activation préférentielle du cortex frontal et du système

limbique incluant les zones responsables de l'analyse émotionnelle de l'environnement. De plus, les états douloureux chroniques provoquent des changements anatomiques et fonctionnels au niveau de cerveau et des zones définies de l'organe présentent une perte de volume des matières grises et blanches proportionnelle à la durée et l'étendue de la douleur.¹⁰⁰

La douleur arthrosique, en comparaison avec d'autres types de douleur chronique, a la particularité d'avoir une composante ressemblant à la douleur aiguë qui est manifestée par l'exacerbation de la douleur lorsque l'articulation atteinte est utilisée. Cependant, des études de neuro-imagerie ont montré une activité cérébrale chez des patients arthrosiques qui est différente après une stimulation thermique aiguë en comparaison avec la douleur spontanée par les mêmes patients. Lorsque l'étude de la composante psychologique et de l'activité cérébrale de patients souffrant d'arthrose du genou et soumis à un stimulus mécanique a été effectuée, il n'y avait pas de différence entre les patterns d'activation cérébrale des sujets arthrosiques par rapport aux contrôles. Par contre, une différence était présente lorsque la douleur spontanée de ces sujets était évaluée, et les zones activées étaient distinctes en comparaison à celles activées lors de douleur évoquée. Il y avait aussi une interaction positive entre la douleur spontanée et la douleur évoquée, ce qui est cohérent avec l'observation clinique d'augmentation de la douleur lorsque l'articulation atteinte est utilisée. Différentes composantes des voies centrales de la douleur pourraient possiblement servir de cibles thérapeutiques. L'utilisation d'un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et noradrénaline tel la duloxetine est déjà employée pour aider à la gestion de la douleur arthrosique, bien que la physiopathologie et les mécanismes impliqués dans la modulation de la douleur ne soient que partiellement compris.¹⁰¹

Dans la forme la plus simple, le système sensoriel utilise des lignes pour la transduction de stimuli afin de susciter des comportements à travers des circuits distincts et définis. Par exemple, dans le sens du goût, l'échange d'un récepteur pour la saveur amère dans une population de récepteurs pour la saveur sucrée ne modifie pas le comportement provoqué par l'activation des récepteurs et la saveur sucrée est perçue comme anticipée dans ce circuit distinct.¹⁰²

Dans les voies de la douleur, il y a également des évidences soutenant la présence de circuits définis. Comme mentionné plus tôt, la chaleur et le froid sont détectés par des sous-ensembles distincts de fibres afférentes primaires. De plus, l'élimination des sous-ensembles spécifiques de nocicepteurs peut produire des déficits sélectifs dans la réponse comportementale à une modalité nociceptive spécifique. Par exemple, la destruction des nocicepteurs TRPV1 produit une perte profonde de la douleur engendrée par la chaleur mais ne provoque pas de changement dans la sensibilité aux stimuli douloureux mécaniques ou froids.¹⁰³

Une autre preuve de ségrégation fonctionnelle au niveau des nocicepteurs est illustrée par l'analyse de deux sous-types de récepteurs opioïdes. Les récepteurs opioïdes mu (MOR) prédominent dans la population peptidergiques, tandis que le récepteur opioïde delta (DOR) est exprimé dans les nocicepteurs non peptidergiques. Des agonistes sélectifs MOR bloquent la douleur provoquée par la chaleur, alors que des agonistes sélectifs DOR bloquent la douleur mécanique.¹⁰⁴

Ces observations portent à croire qu'il existe une spécificité comportementale significative au niveau des nocicepteurs. Il s'agit cependant d'une simplification excessive pour deux raisons. Premièrement, de nombreux nocicepteurs sont polymodaux et peuvent donc être activés par des stimuli thermiques, mécaniques, ou chimiques. Comment l'élimination d'une quantité importante de nocicepteurs produit-elle des effets spécifiques à la modalité nociceptive ? Une contribution substantielle au processus par lequel les signaux nociceptifs sont codés selon des modalités distinctes est vraisemblablement apportée par les circuits spinaux. Une meilleure caractérisation des sous-types de neurones présents dans la corne dorsale et leurs interactions avec d'autres sous-populations de nocicepteurs définies fonctionnellement ou moléculairement reste à investiguer. Deuxièmement, le système nociceptif montre une énorme capacité de changement, en particulier dans le cadre de blessure. Comment un système composé de circuits définis peut-il acquérir une aussi grande plasticité et répondre à des changements en produisant une douleur chronique et mal adaptée ? Par exemple, nous savons que l'élimination de récepteurs pour la substance P présents dans la corne dorsale de la moelle épinière peut réduire à la fois l'hypersensibilité à la douleur thermique et mécanique qui se produit après une lésion tissulaire ou nerveuse. Ces observations suggèrent que dans le cadre d'une blessure, la

spécificité du circuit n'est pas strictement maintenue lorsque l'information est transmise aux niveaux plus élevés de l'axe cérébrospinal.¹⁰⁵

De toute évidence, les réponses à ces questions nécessiteront l'utilisation combinée des connaissances anatomiques, électrophysiologiques et comportementales pour cartographier le circuit physique et fonctionnel qui permet la nociception et la douleur.⁸⁶

3.6. La douleur arthrosique clinique

La présence d'hyperalgésie et d'allodynie a été démontrée chez des patients arthrosiques par rapport aux sujets contrôles.^{106; 107} Une autre trouvaille intéressante qui met en évidence une neuroplasticité chez les patients arthrosiques a été démontrée par la présence de différence dans la sensation de douleur causée par l'ischémie au niveau du bras par rapport à des patients contrôles non arthrosiques. L'induction d'un modèle de douleur ischémique mène normalement à un contrôle endogène descendant accru qui diminue la sensation de douleur d'origine arthrosique. Cela reflète vraisemblablement des anomalies au niveau des contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN), facilitant ainsi la transmission de la périphérie vers le cerveau à cause d'un seuil d'activation au niveau spinal qui est abaissé.⁵ Ces mêmes patients, lorsque soumis à un remplacement total de l'articulation, étaient sans douleur en période postopératoire et les anomalies sensorielles préalablement documentées n'étaient plus présentes.^{5; 107} D'ailleurs, la présence de lésions, par exemple celles qu'on évalue à la radiographie, n'est qu'imparfaitement corrélée à la symptomatologie, ce qui renforce l'hypothèse que des mécanismes neurophysiologiques sont impliqués.

3.7. Évaluer la douleur arthrosique

3.7.1. Imagerie

L'arthrose est une maladie progressive et ses symptômes présentent une longue période silencieuse. Le diagnostic est généralement basé sur les symptômes cliniques et les changements radiographiques, cette modalité demeurant la référence malgré ses limites. La radiographie présente de faibles sensibilité et spécificité qui nuisent à une détection précoce de l'arthrose ou à un suivi efficace des traitements potentiels. Les limites des outils qui sont actuellement disponibles pour l'évaluation de l'arthrose ont été l'impulsion pour identifier des

marqueurs biologiques spécifiques qui reflètent les variations quantitatives et dynamiques dans le remodelage articulaire ainsi que la douleur associée à la maladie.

Des études humaines ont montré qu'il existait une corrélation entre les changements structuraux détectés par imagerie par résonance magnétique (IRM) et la douleur.¹⁰⁸⁻¹¹¹ Ces changements incluent des atteintes cartilagineuses (baisse du volume, défauts dans le cartilage, érosions) et des lésions de la moelle osseuse de l'os sous-chondral traduisant un remodelage osseux. L'IRM permet d'étudier les structures articulaires et les lésions cartilagineuses de manière subjective, d'effectuer une évaluation semi-quantitative, de quantifier la morphologie cartilagineuse et d'évaluer la composition du cartilage.¹¹² Un travail similaire a été fait chez le chien^{113; 114} et le chat¹¹⁵ arthrosiques.

3.7.2. Biomarqueurs de douleur et d'inflammation impliqués dans la douleur arthrosique

Un grand volume de recherches sur les composantes structurelles de la matrice du cartilage est disponible, en particulier des marqueurs de dégradation du collagène de type II. En raison des chevauchements importants entre les concentrations de biomarqueurs chez les sujets contrôles et les patients arthrosiques, le diagnostic de l'arthrose chez un patient ne peut être fait par les marqueurs actuellement disponibles. Le manque de traitements chondroprotecteurs avec un effet pleinement établi altère également la validation et la qualification des marqueurs comme outils de suivi de traitement.¹¹⁶ Cependant, la combinaison de marqueurs spécifiques semble améliorer la prédiction de la progression de la maladie au niveau individuel.¹¹⁷

Depuis plusieurs années, la communauté scientifique s'intéresse aussi à l'évaluation de marqueurs de douleur, qu'elle soit aiguë ou chronique, inflammatoire ou neuropathique. Bien que plusieurs pistes existent au sujet de plusieurs de ces marqueurs, il n'existe actuellement pas d'application diagnostique ou d'emploi pour le suivi thérapeutique chez les patients arthrosique.¹¹⁶ Cependant, l'espoir que porte la recherche actuelle est d'utiliser des biomarqueurs afin de caractériser et quantifier la douleur.

Différents modèles animaux de douleur arthrosique ont été employés dans l'investigation de biomarqueurs de douleur. Un lien entre les comportements douloureux chez des rats ainsi que la concentration de CGRP et l'expression de TRPV1 dans le GRD a été établi après induction

de douleur arthrosique par l'injection intra-articulaire de mono-iodo-acétate de sodium (MIA).¹¹⁸ À l'aide du même modèle animal, des altérations phénotypiques au niveau des cellules du GRD et de l'expression de CGRP ont été mises en évidence comme des changements fonctionnels potentiellement significatifs dans le développement de douleur arthrosique.¹¹⁹ La SP, le peptide intestinal vasoactif (VIP), la somatostatine (SST), la dynorphine A (dynA) et la BK semblent tous de potentiels marqueurs de douleur associée à l'arthrose, par l'entremise d'inflammation neurogénique, amplification de la réponse inflammatoire et immunitaire ou la modification de l'expression génétique de différents récepteurs. Ces marqueurs possèdent aussi le potentiel de servir de cible thérapeutique.^{84; 120-123}

Des dommages tissulaires périphériques mènent à des changements biochimiques à l'intérieur de la moelle épinière et ces modifications peuvent être visibles dans l'expression de récepteurs, neurotransmetteurs et neuromodulateurs. Des neuropeptides liés à la douleur sont retrouvés dans la moelle épinière et leur libération est associée à la modulation de la réponse nociceptive.⁹⁵ Certains de ces peptides participent à la douleur arthrosique et il est attendu que leur concentration augmente chez l'animal douloureux.⁹

3.7.2.1. Substance P (SP)

La SP est libérée par les terminaisons nerveuses des fibres A-delta et C, présentes dans les tissus nerveux périphériques et les neurones du système nerveux central. Elle peut aussi être retrouvée dans certaines cellules endothéliales et inflammatoires.^{124; 125} Son rôle au niveau périphérique inclut une augmentation de la production d'autres substances algogènes et médiateurs qui sensibilisent ou excitent les nocicepteurs lors d'inflammation aiguë et chronique.¹²⁴ Des réflexes neuronaux locaux sont responsables de la libération périphérique de neuropeptides, ce qui mène à de l'inflammation neurogénique. La SP, le CGRP et le VIP ont été localisés dans les tissus articulaires et leurs niveaux augmentent lors de douleur arthrosique.¹²⁶

L'administration locale de SP chez des rats n'a pas provoqué de changement dans les patrons de décharge neuronale, mais a causé de la sensibilisation des nerfs en réponse aux mouvements articulaires dans des genoux normaux et enflammés.¹²⁷

La SP, la NKA et le CGRP agissent sur les mastocytes et permettent la production d'autres médiateurs inflammatoires. Ces médiateurs incluent des interleukines, l'oxyde nitrique (NO), divers éicosanoïdes et le TNF- α et ils ont aussi un impact sur d'autres cellules du système immunitaire comme les monocytes, les lymphocytes, les neutrophiles et les éosinophiles. La SP a la capacité d'augmenter la réponse immunitaire innée et la perméabilité vasculaire. Combinée à la vasodilatation procurée par le CGRP, elle augmente l'œdème au site lésé. Les autres médiateurs inflammatoires présents suite aux stimuli nociceptifs ont alors l'occasion d'augmenter la libération de SP et CGRP.⁸⁴

Lors de procédures expérimentales sur un modèle d'inflammation articulaire, l'œdème était réduit chez les sujets chez qui les nocicepteurs contenant la SP et le CGRP avaient été détruits et leur seuil de tolérance à la douleur était amélioré.¹²⁸

Au niveau central, la SP produit une dépolarisation prolongée des terminaisons nerveuses postsynaptiques, modulant ainsi l'information au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière.¹²⁵ Les fibres afférentes nociceptives sont localisées dans les zones superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière (principalement les *laminae* I et II). La SP se lie aux récepteurs à la neurokinine 1 (NK1), retrouvés en grande quantité dans la *lamina* I avec le plus d'affinité bien que la liaison aux récepteurs NK2 et NK3 soit aussi possible. Ce récepteur, lorsqu'il est activé par la SP suivant une stimulation nociceptive, est internalisé par les neurones de la corne dorsale.^{129; 130} Une fois activé, le récepteur NK1 augmente la production de PGs et le récepteur NK3 la synthèse de NO. Ces molécules agissent ensuite comme messagers rétrogrades et facilitent les voies nociceptives dans la moelle épinière. En plus de favoriser le message douloureux, la SP et le CGRP activent différents facteurs de transcription qui, à leur tour, changent l'expression des gènes nécessaires aux changements à long terme dans l'excitabilité des voies spinales et à l'établissement puis au maintien de l'hyperalgésie.¹³¹

En conditions physiologiques normales, le récepteur est internalisé au niveau des neurones de la *lamina* I uniquement suite à des stimuli nociceptifs. Suite à des lésions inflammatoires, les récepteurs NK1 sont aussi internalisés dans les *laminae* plus profondes et suite à des stimuli non douloureux. Au final, l'effet de la SP sur le processus nociceptif dépend de sa concentration. Une faible quantité stimule la production de peptides opioïdes endogènes, qui

peuvent à leur tour diminuer la libération de SP. En forte concentration, la SP amplifie la réponse douloureuse.¹²⁵

3.7.2.2. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)

Le CGRP est un résultat du processus alternatif du gène codant pour la calcitonine qui active les enzymes adénylate cyclase (AC) et phosphokinase A (PKA) lorsqu'il lie son récepteur.

Dans les fibres afférentes, le CGRP est présent avec la SP et contribue de manière similaire et de façon synergique au processus inflammatoire. Un rôle anti-inflammatoire est aussi possible par l'inhibition des effets de l'histamine, la sérotonine et certaines cellules inflammatoires.^{132;}

133

Au niveau central, le rôle du CGRP est essentiellement de faciliter les effets excitateurs d'acides aminés comme le glutamate et d'encourager la libération de SP par les fibres afférentes, accentuant ainsi l'excitabilité des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière. Les récepteurs sont localisés dans les régions superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière et leur densité peut varier selon leur degré d'activation, contribuant au maintien de la sensibilisation centralisée suite à une lésion périphérique. Normalement, les récepteurs subissent une régulation à la baisse après une activation intense, comme observée avec les récepteurs NK1 et la SP. Cependant, malgré une libération rapide et persistante de CGRP au niveau de la moelle épinière suivant l'induction d'inflammation périphérique, les récepteurs à haute affinité du CGRP sont maintenus pour plusieurs jours et diminuent ensuite de manière transitoire.¹³¹

Lorsque le CGRP dans un véhicule ionophore est introduit à proximité des neurones recevant un influx depuis le genou dans la moelle épinière, ces neurones subissent une augmentation de la fréquence de décharge.¹³⁴ Des molécules antagonistes du CGRP ont montré une capacité à bloquer l'hyperréactivité de ces neurones, montrant le rôle du CGRP dans la transmission de l'information nociceptive depuis le genou.^{84; 131}

3.7.2.3. Vasoactive intestinal peptide (VIP)

Le VIP est contenu dans les fibres nerveuses postganglioniques sympathiques et les fibres sensibles à la capsaïcine innervant la capsule articulaire du genou. Des rats recevant le VIP de

source exogène ont montré des réponses nociceptives augmentées et une augmentation de la fréquence de décharge neuronale lorsque leur genou était manipulé.^{84; 135} Ces trouvailles ont aussi été confirmées avec des mesures comportementales et la documentation d'un report de poids sur le membre controlatéral et la réduction du PWT (*paw withdrawal threshold*) chez des rats avec le modèle MIA, montrant de l'allodynie au niveau du genou et de l'hyperalgésie secondaire.¹³⁶ Aussi, le traitement de genoux arthrosiques avec un antagoniste du VIP a provoqué une réduction de la douleur, une piste potentiellement intéressante pour le traitement de la douleur arthrosique.^{135; 136}

3.7.2.4. Bradykinine (BK)

La sensibilisation périphérique est une conséquence des changements post-translationnels des diverses protéines. Les kinines, en particulier la BK, sont des peptides libérés au site de lésions tissulaires et inflammatoires agissant sur les récepteurs des neurones sensoriels afférents primaires périphériques et contribuent à la sensibilisation périphérique.

L'influx sensoriel ensuite transporté vers la moelle épinière induit une augmentation dans l'efficacité des synapses des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière et l'altération de la réponse des récepteurs du glutamate N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) est responsable de l'hyperalgésie secondaire et de l'allodynie créée par la sensibilisation maintenant centralisée.

La BK agit principalement au niveau périphérique comme un médiateur inflammatoire. Par contre, un rôle possible dans la transmission de la douleur au niveau central est supporté par le fait que l'administration intrathécale d'un agoniste de la BK induit une hyperalgésie thermique alors que celle d'un antagoniste produit une diminution de l'hyperalgésie dans un modèle de douleur inflammatoire aiguë.^{137; 138} Au niveau de la moelle épinière, la BK est un modulateur de la transmission synaptique utilisant le glutamate et a des effets pré et post synaptiques, ce qui est compatible avec la localisation des récepteurs dans les *laminae* superficielles de la corne dorsale.¹³⁹ L'activation des récepteurs situés sur les neurones sensoriels augmente l'influx entrant de calcium exerçant un rôle pro-nocicepteur au niveau spinal et agit en association avec d'autres molécules comme les dynorphines. Le maintien d'un état de douleur chronique chez des rats du modèle MIA est suspecté suivant ces mécanismes.¹⁴⁰

La BK est aussi retrouvée dans le liquide synovial de patients atteints d'arthrose et des modulateurs spécifiques de récepteurs de la BK semblent avoir un potentiel thérapeutique vu la présence de douleur et d'inflammation chez les sujets arthrosiques.¹²²

3.7.2.5. Dynorphines

Les opioïdes endogènes comme les enképhalines, endorphines et dynorphines, sont connues pour être impliqués dans différentes fonctions autonomes et motrices. La dynA possède une haute affinité pour les récepteurs opioïdes mu, delta et kappa mais sa participation dans la nociception n'est pas clairement définie. Dans la moelle épinière, la dynA possède des effets excitateurs qui ne semblent pas liés aux récepteurs opioïdes et inhibiteurs.

Lorsqu'administrée de manière intrathécale, la dynA ne produit qu'un effet antinociceptif modeste, mais une excitation intense produisant de la douleur et des dysfonctions motrices. Elle contribue aussi à la libération d'acides aminés excitateurs et de PGs.

Différents modèles de douleur chronique ont montré une élévation de la dynA dans la moelle épinière et ont suggéré qu'elle est nécessaire au maintien d'un état de douleur chronique puisque l'administration de molécules bloquant la dynA réduisait la douleur créée par une lésion nerveuse périphérique et l'hyperalgésie induite par les opioïdes.¹²³ Chez des souris mutantes ne possédant pas le gène nécessaire pour la prodynorphine, les tissus nerveux lésés produisaient de la douleur mais celle-ci n'était pas maintenue, suggérant la nécessité des dynorphines dans la production de douleur neuropathique.¹⁴¹

Il a été décrit que la dynA est un neuropeptide qui possède la capacité d'activer 2 classes de récepteurs ayant des structures et fonctions différentes. La dynA a donc un effet inhibiteur en tant qu'opioïde endogène et est aussi un agoniste du récepteur de la BK. Elle a aussi la capacité d'accroître la relâche de CGRP depuis les afférents primaires présents dans la corne dorsale de la moelle épinière et de contribuer à l'hyperalgésie. Lors d'administration intrathécale de dynA dans un modèle de neuropathie périphérique, l'effet pronociceptif était bloqué par un antagoniste des récepteurs de BK, suggérant qu'il est possible de bloquer sélectivement les effets négatifs de dynA tout en préservant les effets sur les récepteurs opioïdes.¹²³

3.7.2.6. Somatostatine (SST)

La SST est un peptide produit en réponse à des ions, nutriments, neuropeptides, neurotransmetteurs, hormones, facteurs de croissance et cytokines. La production ne se limite pas à l'hypothalamus comme il avait été originalement décrit, mais s'étend à différents tissus nerveux centraux, neurones sensitifs primaires et divers organes. Le rôle physiologique de la SST est bien décrit. Elle atteint la glande pituitaire par la circulation porte et inhibe la sécrétion de l'hormone de croissance (GH), l'hormone stimulant la thyroïde (TSH), la prolactine et l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). Au niveau du système nerveux central, elle a généralement des effets inhibiteurs. Une petite population de neurones de la racine dorsale possédant des fibres C contient de la SST. Cette dernière et la SP ont été retrouvées dans des populations similaires et différentes de neurones afférents primaires. Il est proposé que la SST exerce un effet au niveau présynaptique sur les terminaisons nerveuses efférentes et inhibe la libération de différents neurotransmetteurs, se traduisant par une action anti-inflammatoire et anti-nociceptive.¹⁴²

L'administration exogène de SST inhibe la vasodilatation et l'extravasation de protéines plasmatiques chez des modèles induits d'inflammation. Aussi, une inhibition de la libération de SP depuis des terminaisons nerveuses centrales et périphériques est documentée. En plus d'influencer les cellules endothéliales, la SST inhibe différents types cellulaires capables de produire des médiateurs pro-inflammatoires et des neuropeptides comme la SP et le CGRP.^{142;}
143

Des propriétés anti-inflammatoires en situation aiguë et chronique ont été montrées lors d'administration de SST exogène ou d'analogues de la SST, possiblement par une inhibition de la libération de peptides pro-inflammatoires au niveau périphérique et central.^{137; 142}

Les efforts en recherche sur l'impact de la SST sur la nociception se sont concentrés sur des modèles strictement inflammatoires d'arthropathie.¹⁴⁴ Cependant, vu l'interaction attendue avec d'autres peptides comme la SP et le CGRP, l'investigation de la SST avec d'autres modèles de douleurs chroniques pourrait se montrer intéressante.

4. Modèles animaux de douleur adaptés à la pathologie arthrosique

L'arthrose humaine est complexe, demande plusieurs décennies pour développer des lésions et possède une progression et une symptomatologie variables. Le tout est influencé par des facteurs de risque incluant des prédispositions génétiques, le statut hormonal, l'occupation et l'utilisation répétitive, l'indice de masse corporelle et des pathologies structurelles comme un mal alignement. La nécessité de clarifier les événements moléculaires qui sont responsables de l'apparition, la symptomatologie et la progression de l'arthrose nécessite l'utilisation de modèles qui reproduisent les caractéristiques de la maladie humaine, bien que ce soit de façon imparfaite.

Les études *in vitro* et en cultures cellulaires apportent des éléments précieux dans la définition de certains événements moléculaires. Par contre, pour bien comprendre l'interrelation complexe entre les différents mécanismes, les tissus articulaires et le reste de l'organisme, les études *in vivo* sur des modèles animaux validés sont nécessaires. La douleur arthrosique n'est pas une conséquence simple et inévitable du vieillissement, mais un processus actif qui peut potentiellement se prêter à une intervention thérapeutique qui demande elle aussi l'utilisation d'un modèle de la maladie humaine.

Certaines questions se doivent cependant d'être posées quant à l'utilisation de ces modèles et l'interprétation qu'on fait des résultats. Alors qu'il est clair que l'arthrose représente une maladie de l'ensemble de l'articulation, la caractéristique pathologique centrale de l'arthrose est encore souvent considérée comme la destruction progressive du cartilage articulaire. Sans surprise, un grand nombre de recherches utilisant des modèles animaux continuent à se concentrer sur la définition des mécanismes moléculaires de la dégénérescence du cartilage dans l'arthrose.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷ Cependant, les grandes études longitudinales chez l'Homme ont montré que ce sont les lésions à l'os sous-chondral et la synovite, la pathologie méniscale à moindre degré plutôt que l'érosion du cartilage ou la présence d'ostéophytes qui ont la meilleure corrélation la douleur lors d'arthrose du genou.^{108; 109}

4.1. Utilisation éthique d'un modèle animal

Jusqu'à présent, aucun modèle animal d'arthrose ou de douleur arthrosique n'a démontré un bénéfice prédictif clinique clair puisqu'il n'y a pas de thérapie modificatrice de la maladie qui s'est avérée efficace lors des essais chez l'humain. Rétrospectivement, ces résultats peuvent fournir de l'information importante sur le «meilleur» modèle d'arthrose et de douleur.^{146; 148; 149}

La conscience de la responsabilité éthique et la mise en place de mesures visant l'amélioration de l'éthique animale en recherche, tant au niveau de la perception publique que la valeur morale des publications, sont primordiales. Le principe des «3R» vise la **R**éduction du nombre d'animaux utilisés, le **R**affinement des procédures et protocoles pour minimiser les souffrances et maximiser la valeur des résultats, et le **R**emplacement des études employant des animaux au profit de d'autres méthodes lorsque cela est possible. L'aspect essentiel des études *in vivo* dans le cadre de la douleur arthrosique est indéniable.¹⁵⁰ Il faudra s'assurer de tirer le plus grand bénéfice du modèle employé et de limiter au maximum l'utilisation des animaux.¹⁵¹

4.2. Les caractéristiques idéales du modèle animal

Dans un modèle animal idéal, la réponse à l'intervention thérapeutique devrait être similaire entre les sujets, se produire à des moments équivalents chez les animaux traités de façon similaire, et les effets devraient être mesurables à la fois structurellement et fonctionnellement en utilisant des méthodes standards au cours de la période de l'étude.

4.3. Évolution temporelle

Le modèle devrait provoquer la maladie de manière consistante et reproductible dans un laps de temps raisonnable pour des études à haut débit. Ces propriétés contrastent cependant avec l'arthrose humaine où le délai est extrêmement variable, mais généralement beaucoup plus long que dans des modèles animaux à la fois pour le développement et la progression de la condition. Considérant cette importante différence, l'interprétation de l'efficacité d'un traitement appelle à la prudence. Des composés qui ne sont pas efficaces pour un modèle animal à progression rapide pourraient en fait s'avérer utiles dans l'arthrose humaine. Inversement, la pathologie présente dans des maladies à progression très rapide peut ne pas

être aussi importante dans l'équivalent humain progressant plus lentement. La maladie induite devrait progresser au cours de la période de l'étude pour permettre l'enquête de la physiopathologie de début, milieu et fin et les effets du traitement. Les modèles animaux qui sont trop agressifs ou progressent trop rapidement en condition terminale peuvent ne pas fournir suffisamment de temps pour détecter des effets thérapeutiques. Inversement, si la maladie est trop peu sévère, elle peut ne pas refléter la vraie nature progressive de l'arthrose chez l'humain, ni fournir une « dynamique » suffisante pour détecter un effet du traitement, ou peut représenter uniquement les stades initiaux de la maladie. Les modèles où la maladie atteint un plateau stable peuvent être aussi être trompeurs, avec un bénéfice thérapeutique précoce qui peut ne pas être évident plus tard.^{148; 152}

4.3.1. Reproduction des caractéristiques pathologiques et cliniques

Le modèle devrait reproduire à la fois les caractéristiques pathologiques et cliniques de l'arthrose humaine. On ne sait pas exactement comment sont reliées les pathologies dans les différents tissus de l'articulation, ce qui se produit en premier et comment le changement d'un seul facteur peut conduire à des changements dans un autre. Néanmoins, un modèle qui ne produit pas la gamme complète des changements pathologiques ne fournit que partiellement l'information sur la maladie articulaire dans son ensemble et ne serait certainement pas aussi utile pour des études thérapeutiques. La possibilité d'établir une corrélation entre structure et fonction (changements moléculaires et histologiques avec les résultats cliniques) est souhaitable afin d'améliorer la compréhension des changements se rapportant à la maladie clinique.

Il y a très peu de modèles animaux d'arthrose où la douleur a été validée comme un résultat clinique.^{10; 149; 153-158}

Le modèle de douleur arthrosique induit par l'injection intra-articulaire de MIA est actuellement considéré comme un «*gold standard*». Il repose sur l'inhibition chimique de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase dans les chondrocytes, ce qui entraîne la mort cellulaire suite à la perturbation de la glycolyse cellulaire.¹⁵⁸ Par contre, il demeure incertain qu'il soit un modèle adéquat de la pathologie.¹⁴⁹

L'événement déclencheur devrait refléter un processus qui est pertinent pour l'arthrose humaine, c'est-à-dire imitant un événement ou un mécanisme physiopathologique qui est connu pour prédisposer à l'arthrose chez l'Homme.

Il semblerait logique que plus le modèle animal est semblable à la maladie humaine, plus le modèle sera en mesure de refléter les mécanismes physiopathologiques structurels et fonctionnels et prévoir les résultats thérapeutiques. Cependant, certains modèles induits par des mécanismes inexistant chez l'humain se sont avérés d'une valeur prédictive adéquate et d'une utilité indéniable.¹⁵⁹ Il existe donc un certain nombre de modèles où le stade terminal de la maladie est atteint et ressemble à l'arthrose humaine bien que le mécanisme soit totalement différent, comme par exemple le modèle MIA. Vraisemblablement, la plupart des modèles représentent une ou quelques caractéristiques de la maladie seulement ou un stade particulier de la maladie.¹⁵⁰

Il est donc probablement plus réaliste de créer des modèles de certaines caractéristiques spécifiques de l'arthrose plutôt que des modèles d'arthrose au sens propre. Certaines méthodes comme l'injection de collagénase bactérienne dans les articulations murines ne provoquent pas directement une dégradation du cartilage, mais son effet sur le collagène ligamentaire provoque une instabilité articulaire sans l'emploi de chirurgie, un facteur de risque classique pour l'arthrose chez l'Homme.^{160; 161} Récemment, il a été suggéré que des modèles d'arthrose induite par une collagénase pourrait différer de l'instabilité créée chirurgicalement en provoquant une synovite plus profonde.¹⁶² Ce type de modèle pourrait représenter une caractéristique intéressante pour l'évaluation de la douleur vu la relation significative entre la synovite et la douleur arthrosique chez l'humain.¹⁰⁹

4.3.2. Prédiction de l'effet thérapeutique

Le modèle devrait être prédictif de l'effet thérapeutique chez l'Homme ou l'espèce à laquelle le traitement est destiné; à savoir ce qui fonctionne chez l'animal modèle fonctionne aussi chez les patients ciblés. L'échec ne signifie cependant pas nécessairement que les modèles disponibles ne seront pas prédictifs, mais possiblement que les traitements n'ont pas modifié avec succès la maladie chez l'Homme et ainsi rétrospectivement validé les modèles précliniques. L'échec thérapeutique clinique n'indique toutefois pas que la thérapie n'est pas

utile. Les objectifs cliniques du traitement visant la modification structurelle et symptomatique de l'arthrose sont difficiles à atteindre ou peut-être même inappropriés. En outre, il existe une tendance à regrouper un large éventail de maladies sous la terminologie arthrose, alors que nous savons très bien qu'il existe différents sous-types avec des particularités distinctes.^{163; 164} Encore une fois, la valeur du modèle repose probablement en sa capacité à reproduire un aspect précis d'une maladie bien définie.

4.4. Choix de l'espèce

Idéalement, un modèle d'arthrose devrait utiliser une espèce Mammifère qui est docile, peu coûteuse, facile à garder en captivité, de taille assez grande pour permettre les analyses souhaitées et la mesure des variables recherchées, avoir un génome entièrement séquencé qui est disponible au domaine public pour faciliter les études physiopathologiques et rendre possible l'examen clinique à la recherche de certains symptômes spécifiques (douleur, anomalies de la démarche, distension articulaire, etc.). Clairement, une seule espèce ne remplit pas tous ces critères et chacune comporte des avantages et inconvénients potentiels. Outre les questions de commodité et de coût, il est important d'être conscient des grandes différences génétiques présentes entre les humains et les diverses espèces animales qui peuvent altérer la pathologie de la maladie et la validité translationnelle des résultats.^{68; 146; 165; 166}

A titre d'exemple, les rats adultes et les souris n'expriment pas la MMP-1 connue pour être exprimée dans l'arthrose humaine.¹⁶⁷ Aussi, les plaques de croissance des os longs de souris consanguines communes et souches de rats utilisés en recherche ne se fusionnent pas^{168; 169} et le cartilage chez les lapins et certaines souches de souris montre une capacité réparatrice spontanée significative contrairement aux humains.¹⁷⁰⁻¹⁷² Il reste à établir si ces différences inhérentes à l'espèce diminueront la capacité d'extrapoler les résultats des lapins et des rongeurs à l'Homme, particulièrement en ce qui a trait à la relation structure et douleur.

La section du ligament croisé crânial chez les ovins et la caprins induit peu ou pas d'arthrose même lorsqu'évaluée sur une période prolongée.^{173; 174} La même procédure chez le chien conduit à une érosion du cartilage, à une résorption de l'os sous chondral accompagnée de sclérose et au développement d'ostéophytes.^{175; 176} Chez la souris, la transsection du ligament croisé crânial (CCLT) provoque une érosion rapide et importante du cartilage qui s'étend

jusqu'à la plaque de croissance.¹⁷⁷ Sans doute, d'autres différences importantes qui doivent encore être définies existent entre les humains et la plupart des espèces expérimentales couramment utilisées, et celles-ci doivent être prises en compte lors de l'interprétation des résultats des études animales.

4.5. Choix de la méthode d'induction

Afin d'optimiser les résultats de recherche, la question posée doit correspondre au modèle choisi puisqu'il n'existe pas de modèle animal parfait.¹⁶³ L'âge, le sexe, la maturité squelettique des animaux, ainsi que le niveau d'exercice ou d'activité peuvent moduler la sévérité et la progression de la maladie. Ces paramètres devraient autant que possible être contrôlés.⁶⁸ Les modèles d'arthrose (structurelle) possèdent le potentiel de servir aussi de modèle de douleur arthrosique, bien que la relation structure et douleur ne soit pas linéaire.¹⁶³

4.5.1. Modèles spontanés

De l'arthrose spontanée se produit dans diverses souches de souris consanguines, les cobayes et les macaques. La condition est aussi bien documentée chez les cochons d'Inde Duncan-Hartley. Ces modèles spontanés ont l'avantage d'être une maladie «naturelle», mais le mécanisme sous-jacent défini pour l'espèce particulière ou la souche animale n'est pas nécessairement la même que pour l'arthrose chez l'Homme. La prévalence de l'arthrose chez le cochon d'Inde semble être liée à la laxité des ligaments croisés, suggérant un développement d'arthrose secondairement à une altération de la biomécanique du genou.^{178; 179}

La rupture spontanée du ligament croisé crânial chez les chiens est un problème clinique fréquent, en particulier pour les canins de grandes races. Les fractures ostéochondrales et l'arthrose sont aussi souvent observées chez les chevaux de sport. Ces problèmes cliniques communs sont d'excellents modèles d'arthrose post-traumatique naturelle, mais avec les mêmes désavantages dus à la variabilité que les autres formes de la maladie spontanée.¹⁸⁰

Un inconvénient de l'utilisation des modèles d'arthrose spontanée est l'incidence plus faible de la condition et la progression des lésions sur une période plus variable comparativement aux modèles induits. En conséquent, un plus grand nombre d'animaux doit être utilisé afin d'assurer une puissance statistique adéquate. Ceci, additionné à la progression variable des

lésions et au moment non défini du début de la maladie, augmente considérablement les coûts liés aux études.^{163; 180}

4.5.2. Modèles induits

4.5.2.1. Modèles chimiques et enzymatiques

L'induction de changements pathologiques par l'injection intra-articulaire d'une variété d'agents a été tentée, y compris des enzymes (papaïne, collagénase, trypsine, hyaluronidase), des cytokines et des facteurs de croissance (par exemple, l'interleukine-1 et le *transforming growth factor β*) et des produits chimiques par exemple le MIA.¹⁴⁸

L'injection d'agents qui dégradent de manière sélective des composants de la matrice extracellulaire du cartilage n'est pas nécessairement globalement pertinente pour la modélisation de l'arthrose humaine. En outre, les réactifs utilisés peuvent différer substantiellement de ceux qui sont impliqués dans la maladie humaine (par exemple pour le modèle MIA) et l'induction potentielle d'inflammation significativement plus sévère que ce qui est observé chez l'humain contribue aussi aux imperfections de ces modèles. Cependant, ces modèles peuvent être utiles pour l'étude de certains éléments précis comme par exemple la douleur arthrosique.

4.5.2.1.1. Mono-iodo-acétate de sodium (MIA)

L'injection intra-articulaire de MIA chez des rats, des cobayes et des souris a été largement utilisée pour étudier les douleurs articulaires.^{10; 181-183} Dans ce modèle, il y a une perte de protéoglycanes du cartilage et une érosion entraînée par les enzymes MMP et ADAMTS impliquées dans l'érosion du cartilage dans l'arthrose humaine.¹⁸⁴ Cependant, cet agent agit *via* une inhibition dose-dépendante de la glycolyse causant la mort des chondrocytes, une néovascularisation étendue, une invasion des couches profondes du cartilage, une nécrose et un collapse de l'os sous-chondral et ainsi qu'une inflammation sévère et rapide.^{182; 185} Ces changements ne sont pas typiques de l'arthrose et des études récentes ont mis en évidence les différences dans le transcriptome du cartilage entre le modèle MIA et l'arthrose humaine.¹⁸⁶ La pertinence physiologique du modèle MIA à l'arthrose humaine est discutable compte tenu de la disparité de la cause et des mécanismes moléculaires de la maladie. Il reste à confirmer si les mécanismes de la douleur sont directement le reflet de l'arthrose.¹¹

Des lésions reconnues dans la pathologie arthrosique humaines sont retrouvées chez des rats du modèle MIA. Celles-ci incluent la perte de chondrocytes et de protéoglycanes et la fibrillation du cartilage,^{181; 187} bien que l'induction soit rapide et la progression agressive. La sévérité des lésions et de la douleur est liée à la dose administrée.¹⁸⁸ Le MIA est un agent alkylant non spécifique mais lorsqu'administré à doses et concentrations faibles dans l'articulation, il a la capacité d'induire des changements sélectifs. Lorsque la dose s'accroît, la sélectivité est perdue et une destruction cellulaire massive est engendrée.^{181; 188} Il apparaît que le modèle MIA est particulièrement utile dans l'évaluation de traitements ayant pour objectif le soulagement de la douleur plutôt que la modification de la maladie. D'autres avantages incluent un haut degré de reproductibilité et une réponse documentée aux thérapies analgésiques conventionnelles.¹⁸⁶

Lors de l'induction de l'arthrose avec le modèle MIA, la pathologie semble biphasique. Le premier stade est caractérisé par l'induction d'une réponse inflammatoire qui atteint son nadir 24 heures après l'injection, puis régresse au jour 3 post injection.¹⁸¹ Des changements tels l'infiltration des membranes synoviales par des macrophages, neutrophiles, plasmocytes et des lymphocytes ainsi qu'une distension de l'articulation par des fluides contenant des protéines et de la fibrine sont notés. Sept jours après l'injection, l'inflammation est majoritairement résolue et la deuxième phase, caractérisée par des changements structuraux, débute.^{181; 189} Les changements sont visibles au niveau histologique dès le jour 7. Les dommages continuent de progresser jusqu'à la perte du cartilage, l'exposition de l'os sous-chondral et la formation d'ostéophytes vers le jour 28.^{13; 182; 189} D'autres changements, comme la perte de protéoglycanes et la dégénérescence du cartilage sont visibles entre temps. Les lésions sont diffuses dans l'articulation bien que le compartiment médial semble plus sévèrement affecté.^{181; 184; 187; 189}

Du point de vue douleur, l'augmentation de l'inconfort est dose et temps dépendant, tel que démontré par le changement dans la distribution du poids sur les membres affectés. Une dose de 1 mg par articulation semble produire l'effet maximal. La distribution du poids ne semblait cependant pas changer après le 7^e jour post-injection, le degré de douleur semblant constant jusqu'à 6 semaines après l'injection.¹⁸¹

Les changements causés par l'injection de MIA ont aussi été décrits par l'évaluation de la force de préhension comme indicateur comportemental de douleur évoquée par le mouvement. Les rats MIA ont démontré une force de préhension moindre que celle des rats contrôles et naïfs entre les jours 4 et 20 post-injection.¹⁹⁰

L'analyse de la démarche a confirmé un déficit fonctionnel, caractérisé par un report de poids sur les membres thoraciques présent chez les rats MIA dès 2 semaines après l'injection et persistant 6 semaines. Ces résultats confirment une sensibilité du modèle MIA à la mise en charge du membre affecté.¹⁹¹

Un changement dans l'activité motrice spontanée de rats ayant reçu une injection de MIA d'au moins 0.1 mg a été démontré¹⁸⁷ ainsi qu'une composante de douleur spontanée (fibres C) et de douleur évoquée par le mouvement (fibres A).¹⁹²

Le modèle MIA, à des doses entre 0.5 et 2mg par genou, a démontré des différences significatives lorsque comparé à des rats non traités, dans l'apparition d'allodynie mécanique (filaments de von Frey) débutant au jour 7 post-injection et se manifestant jusqu'au jour 70 avec un effet maximal entre les jours 14 et 42.^{8; 158} Un report du poids (sur *incapacitance tester*) sur le membre controlatéral était aussi détectable et suivait un pattern temporel semblable à l'allodynie mécanique. Une composante neuropathique de la douleur arthrosique chronique, et de l'hyperalgésie thermique ont aussi été démontrées.^{8; 11; 183}

La substance P et le CGRP ont été documentés en plus grande quantité dans la moelle épinière des rats MIA comparativement à des rats naïfs ou contrôles, renforçant l'hypothèse du processus de sensibilisation.^{9; 118; 119; 158}

Le modèle MIA a aussi fait l'objet de différentes études de validation par l'évaluation de la réponse pharmacologique à différents agents analgésiques. Cette réponse analgésique varie selon le traitement, la mesure d'efficacité employée et le moment où l'évaluation thérapeutique est effectuée. tels le tramadol, la morphine et d'autres opioïdes, la gabapentine, l'amitriptyline et divers anti-inflammatoires non stéroïdiens.^{8-10; 140; 189; 190; 193-196} Dans une étude de validation employant 2mg de MIA par genou comme modèle, l'injection intra-articulaire de lidocaïne, aux jours 7, 14 et 21, a confirmé un effet analgésique à l'aide de

changements significatifs à la baisse de la SP au niveau de la moelle épinière au jour 21, lorsque comparé à des rats recevant le MIA seul et/ou des rats du groupe Sham. Des changements significatifs dans le *Place Escape Avoidance Paradigm* (PEAP) indiquant une grande sensibilité de ce test pour l'administration d'un analgésique et *Ponctuate Tactile Allodynia Evaluation* (PTAE) ont été rapportés. Les auteurs concluent aussi à l'implication de mécanismes centraux de sensibilisation et à l'utilité potentielle des biomarqueurs dans l'évaluation d'interventions thérapeutiques.¹⁵⁸ À l'aide un modèle MIA (1mg par genou), l'effet d'un traitement oral isolé de naproxène (0,3, 3 ou 10mg/kg), celecoxib (1, 3 ou 10 mg/kg), amitriptyline (3, 10 ou 30mg/kg), gabapentin (10, 30 ou 100 mg/kg) ou d'un placebo ont été administrés au jours 14, 21 et 28 post induction. Afin de déterminer s'il y avait résolution de manière aiguë de la douleur, des mesures comportementales ont été effectuées à 1, 2, et 4 heures après l'administration du médicament ou placebo. L'amitriptyline et le gabapentin ont eu un effet dose-dépendant soutenu au cours de l'étude lorsque le *Static Weight Bearing* (SWB) était évalué. Le naproxène était efficace à 10mg/kg aux jours 14 et 28 seulement bien que des doses plus faibles provoquaient aussi des changements significatifs une heure après l'administration. Le célécoxib n'a pas changé le SWB. Ces réponses renforcent l'hypothèse d'une douleur liée à une sensibilisation plutôt qu'une douleur inflammatoire chez les rats du modèle MIA.¹⁸⁹ Le modèle MIA (3mg par genou) a aussi été utilisé dans l'investigation de l'effet du célécoxib (30mg/kg), administré quotidiennement pour une durée de 28 jours. Un effet sur certains paramètres de la démarche a été noté, reflétant un soulagement de l'allodynie mécanique. Cependant, cet effet était significatif aux jours 1 et 3 post induction seulement bien qu'une tendance au soulagement était présente pour la première moitié de l'étude. Le CGRP des rats traités avec le célécoxib était comparable aux rats non douloureux, suggérant une diminution de l'allodynie suite à son administration et l'importance du CGRP dans la sensibilisation centralisée lors de douleur arthrosique. Les auteurs concluent que le modèle MIA était approprié pour des études de douleur à court terme et que le célécoxib possédait la capacité de moduler l'allodynie mécanique par l'entremise de mécanismes centraux.⁹ Dans une étude avec design similaire employant l'eugénol, un analgésique avec un mécanisme d'action basée sur les canaux sodium et calcium à haut voltage et les récepteurs TRPV1, l'administration orale journalière d'une haute dose

(40mg/kg) a montré la capacité de diminuer la douleur arthrosique, illustrée par une diminution soutenue de la SP et du CGRP, les paramètres de la démarche et l'évaluation de l'allodynie mécanique. De plus, les rats n'ont pas montré de signe de toxicité suite à l'administration de 40mg/kg d'eugénol, bien que la dose ou fréquence d'administration idéale restent à être déterminées.¹⁴⁰ Une étude portant sur la validation du modèle MIA (2mg par genou) par l'administration de morphine ou gabapentin sur plusieurs jours consécutifs a aussi été menée. Une allodynie mécanique, augmentation de la sensibilité au froid et une douleur évoquée par le mouvement et l'ambulation ont été améliorées par l'administration chronique de gabapentin (30mg/kg par voie sous cutanée par jour) ou de morphine (3mg/kg par voie sous cutanée 2 fois par jour) ainsi que l'administration ponctuelle de morphine. Les auteurs ont conclu que, bien que l'effet de la morphine semblait diminuer avec le temps et l'effet du gabapentin augmenter, ils permettaient tous deux de valider le modèle et permettre d'avancer l'hypothèse d'une composante périphérique et d'une composante centralisée de la douleur arthrosique.¹⁹⁴ Une étude portant sur la validation du modèle MIA (3mg par genou) par la quantification de la douleur évoquée par le mouvement (force de préhension) aux jours 4, 7, 15, 11 et 20 post induction, a comparé la modulation pharmacologique de la douleur à l'aide de drogues avec différents mécanismes d'action : tramadol, célécoxib, diclofénac, indométhacine, acétaminophène, ibuprofène, gabapentin, duloxétine et lamotrigine. Les évaluations de l'effet immédiat (entre 20 et 180 minutes après l'administration) et de l'administration chronique (célécoxib 10 ou 30 μ mol/kg, oralement, 2 fois par jour) ont montré une activité analgésique menant à une force de préhension comparable aux rats n'ayant pas reçu de MIA pour le tramadol, célécoxib et le diclofénac. L'indométhacine, la duloxétine et le gabapentin avaient une efficacité modérée et l'acétaminophène, l'ibuprofène et la lamotrigine n'avaient que peu ou pas d'effet. L'administration chronique de célécoxib permettait le maintien de l'analgésie. En conclusion, le modèle utilisé était utile pour l'évaluation de cibles thérapeutiques et pourrait aussi permettre l'évaluation des mécanismes de douleur arthritique chronique.¹⁹⁰ Dans un modèle MIA (2mg par genou), l'allodynie (PWT) persistait du jour 7 jusqu'au jour 70 post induction et l'altération dans le port de poids (SWB) du jour 7 au jour 63 bien que l'effet soit maximal entre 14 et 42 jours. Tous deux étaient modifiés par l'administration de morphine (0.3 à 3mg/kg par voie sous cutanée) et de tramadol (3 à 100mg/kg par voie orale) bien que seulement le PWT était similaire aux valeurs de base.

L'effet était dose-dépendant et la dose minimale efficace de morphine était de 1mg/kg et de tramadol de 10mg/kg. Les auteurs conclurent à des changements persistants liés à la douleur et à l'utilité du modèle pour l'investigation de la douleur chronique.⁸ Fernihough *et al.* ont utilisé le modèle MIA pour l'évaluation du port de poids, de l'hyperalgésie mécanique, l'allodynie tactile dans la validation du modèle avec une intervention thérapeutique. Les changements dans le port de poids étaient modestes mais des modifications marquées reflétant l'hyperalgésie mécanique et l'allodynie tactile ont été documentés. La morphine (6mg/kg par voie sous cutanée) était capable d'atténuer l'hyperalgésie aux jours 3, 14 et 28 après l'induction et de reverser l'allodynie aux jours 14 et 28, supportant une modification des mesures comportementales causées par la douleur. Le diclofénac (30mg/kg par voie sous cutanée) et le paracétamol (300mg/kg par voie orale) étaient efficaces seulement au jour 3, ce qui coïncidait aussi avec l'enflure maximale de l'articulation. Le gabapentin (100mg/kg par voie orale) était capable d'atténuer l'allodynie seulement. Les auteurs conclurent que le modèle était approprié pour l'investigation de la douleur aiguë et chronique et était pertinent d'un point de vue clinique pour l'investigation d'interventions analgésiques.¹⁰ Le modèle MIA à des doses de 1 ou 2 mg par genou a été utilisé pour la validation pharmacologique de la douleur neuropathique arthrosique. Cependant, la dose de 2mg provoquait des changements significativement plus intenses. L'allodynie tactile, port de poids et les changements dans un marqueur de blessure neuronale (*Activating Transcription Factor 3*, ATF-3) au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière ont été comparés à un modèle placebo (saline), aux jours 3, 7 et 14. La composante neuropathique a été confirmée par la présence de blessures neuronales significatives dans les ganglions des racines dorsales impliquées dans l'innervation de la patte affectée. Particulièrement lorsque plus de 1mg de MIA par genou sont employés, les auteurs mettent en lumière la composante neuropathique de la douleur arthrosique.¹⁹⁶

Bien que la perte de cartilage soit l'une des modifications pathologiques caractéristiques de l'arthrose, le cartilage hyalin est aneural. D'autres mécanismes, non liés au cartilage, sont donc responsables de la médiation de la douleur dans ce modèle. D'autres structures adjacentes au cartilage, cependant, sont innervées y compris la membrane synoviale, l'os sous-chondral, le ménisque et des ligaments. Comme mentionné précédemment, il y a une réponse inflammatoire importante dans l'articulation tôt dans la pathogenèse du modèle, mais cela est

généralement résolu au cours des 3 premiers jours post-injection et ne serait donc pas être appelé à jouer un rôle dans la médiation de douleurs articulaires plus tardives.¹⁸¹ Sachant que des lésions de la moelle osseuse peuvent jouer un rôle dans la médiation de la douleur associée à l'arthrose, elles représentent une possible explication quant à la source anatomique de la douleur dans ce modèle.¹⁹⁷ La contribution de la douleur neuropathique et d'autres mécanismes neurologiques au développement de la douleur dans ce modèle s'avère donc une perspective intéressante.

4.5.2.2. Immobilisation, mise en charge et traumatisme cartilagineux

L'immobilisation articulaire induit des changements atrophiques au niveau du cartilage articulaire qui imitent de manière superficielle l'arthrose. La mise en charge répétée, les blessures dues à un impact anormal et la scarification directe du cartilage peuvent aussi induire la pathologie. Ces modèles tendent cependant à être autolimitants ou requérir un dommage supérieur à un trauma normal afin d'induire une maladie progressive. Il est probable que ces modèles soient plus représentatifs de la maladie post-traumatique.⁶⁶

Différents modèles de trauma, allant de fractures intra-articulaires à des impacts externes divers ont été évalués chez différentes espèces incluant le chien, le cheval, le lapin, la souris et le mouton.^{66; 198} Chez le chien, le modèle de scarification du cartilage le plus connu (*Canine Groove Model*) emploie la création de défauts cartilagineux de taille contrôlée sur la surface étant assujettie à la mise en charge des condyles médial et latéral du fémur.¹⁹⁹

L'immobilisation prolongée d'un membre a été utilisée comme modèle d'arthrose chez le lapin. Après 5 à 6 semaines d'immobilisation à l'aide d'une attelle, des changements arthrosiques modérés à sévères sont notés, incluant la perte de cartilage et la formation d'ostéophytes.^{200; 201}

Chez le rat, il a été démontré que la mobilisation forcée du genou après CCLT et ménissectomie partielle accélère le développement de l'arthrose.²⁰² De plus, la mobilisation forcée d'une articulation instable promeut le développement de tissus de réparation (fibrocartilage) et l'affaissement du support sous-chondral, des caractéristiques observées chez les humains arthrosiques qui ne sont pas notées chez les modèles animaux sans mobilisation.

De l'exercice répétitif à faible impact et faible intensité s'est avéré le plus délétère pour les articulations instables de rats dans certaines études.²⁰²⁻²⁰⁴ Selon l'intensité et le type, l'exercice peut cependant aussi avoir un effet chondroprotecteur.²⁰⁴ L'effet de la mobilisation sur l'intensité ou les caractéristiques de la douleur n'a pas été directement évalué.

4.5.2.3. Modèles chirurgicaux d'instabilité articulaire

L'instabilité articulaire créée chirurgicalement entraîne une modification de la mécanique articulaire, l'une des causes les plus fréquentes de l'arthrose secondaire chez l'Homme. De nombreuses méthodes d'induction tentent de reproduire les blessures connues chez l'homme, comme la rupture du ligament croisé antérieur et les déchirures méniscales. Malgré cela, des différences moléculaires dans le modèle expérimental par rapport aux blessures d'origine naturelle ont été rapportées chez le chien.²⁰⁵

Un avantage de ces modèles est le contrôle temporel de l'induction de la maladie et, en général, une progression prévisible de la maladie. Des inconvénients tels la présence d'une arthrotomie sont documentés. Cela peut cependant mimer les changements associés à une hémorragie ou une inflammation articulaire, des conditions qui peuvent jouer un rôle important dans le développement à long terme de l'arthrose post-traumatique.²⁰⁶

Il peut y avoir une courbe d'apprentissage dans l'exécution de certains de ces modèles, en particulier chez les plus petites espèces où des microscopes opératoires sont nécessaires. Ceci peut entraîner des variations dans le temps des changements liés au traumatisme chirurgical (et à l'inflammation secondaire), avec des différences subséquentes de sévérité de la maladie. Compte tenu du rôle de la biomécanique dans ces modèles chirurgicalement induits, même des changements mineurs dans l'exercice postopératoire tels que l'enrichissement du milieu de vie peuvent avoir un impact majeur sur la progression de la maladie et doivent être contrôlés et pris en compte.²⁰⁷

4.5.2.4. Blessures ligamentaires

La procédure la plus répandue employant une blessure ligamentaire afin d'induire de l'arthrose est la CCLT.²⁰⁸ Chez le chien, bien que la rupture du ligament croisé crânial constitue aussi un modèle d'arthrose naturelle, l'induction chirurgicale est souvent nommée

« modèle de Pond-Nuki » en référence aux auteurs de sa première description.²⁰⁹ La CCLT est aussi couramment employée chez le rat. Ce modèle a été utilisé afin de définir ses caractéristiques d'IRM,²¹⁰⁻²¹² l'évaluation de traitements chondroprotecteurs et modulateurs de la pathologie,^{211; 213-218} la modulation de la sévérité de la pathologie arthrosique par l'exercice²⁰⁴ et la pathophysiologie de l'arthrose.^{219; 220} Le même modèle a été utilisé chez la souris afin d'évaluer la douleur et la modification de la fonction motrice et de la démarche.²²¹

L'emploi de ce modèle a permis l'évaluation de bio-marqueurs d'arthrose²²²⁻²²⁴ et de douleur arthrosique²²⁴ ainsi que de différents moyens de quantification de la douleur arthrosique.²²⁵ Une étude évaluant la présence de douleur arthrosique à long terme avec un modèle CCLT a permis de démontrer la présence d'allodynie mécanique, bien que les symptômes prennent plusieurs mois pour se développer.²²⁵ Des bio-marqueurs de dégradation du collagène ont été démontrés dès 7 jours post-chirurgie, bien que les lésions arthrosiques typiques prennent au minimum 14 jours avant d'être détectables²²² et plus vraisemblablement 2 mois dépendant des méthodes d'évaluation utilisées.²²³ Aussi, une augmentation des niveaux de certains neuropeptides marqueurs de douleur comme la SP et le CGPR a-t-elle été démontrée avec le modèle de CCLT et une influence des estrogènes sur la présence de ces bio-marqueurs a aussi été suspectée.²²⁴

Chez le lapin, la transection du ligament collatéral latéral du grasset et du tendon du poplité a été étudiée, mais n'a pas démontré de changements arthrosiques significatifs en comparaison avec le membre controlatéral.²²⁶ Le chat et le cochon d'Inde ont aussi été employés dans des modèles CCLT.^{227; 228}

4.5.2.5. Blessure méniscale

Chez le rat, la méniscectomie partielle a été utilisée comme modèle d'arthrose pour l'évaluation de la douleur et des modifications structurelles suivent l'administration d'agents chondroprotecteurs.²²⁹

Toujours chez le rat, la déchirure du ménisque médial a été employée comme modèle pour l'évaluation de molécules modificatrices de la maladie et des symptômes,^{230; 231} l'investigation des événements moléculaires et bio-marqueurs de progression de l'arthrose.^{232; 233} Dans une

étude évaluant des mesures comportementales et neuropeptides de douleur, une corrélation temps-dépendante entre la progression des lésions arthrosiques et les marqueurs de douleur a été mise en évidence. Aussi, l'administration d'acide zolédronique a-t-elle semblé améliorer les symptômes d'arthrose possiblement en modifiant la pathologie structurale à condition d'être administrée tôt dans le cours de la maladie.²³¹ Des conclusions semblables ont été tirées suite à l'emploi du même modèle pour l'évaluation d'un inhibiteur de MMP-13.²³⁰

L'hypothèse de la diminution de la douleur suite à des modifications structurelles ou le ralentissement de la progression des dommages structuraux a aussi été supportée par l'administration intra-articulaire de chitosan à des rats suivant l'induction d'une déchirure méniscale.²³² Bien qu'utile, ce modèle semble produire une pathologie peu sévère lorsque comparé à d'autres modèles et demande un délai important avant l'induction d'une atteinte significative.²⁰³

La déstabilisation méniscale (transsection du ligament ménisco-tibial crânial médial) chez la souris s'est aussi avérée être un modèle utile vue la possibilité d'obtenir des souris génétiquement modifiées pour des études physiopathologiques spécifiques et l'évaluation de nouvelles cibles thérapeutiques. Encore une fois, la pathologie produite semble de sévérité limitée et prend plusieurs semaines pour se développer.¹⁷⁷

D'autres espèces, telles le chien, le mouton, le singe, le lapin et le cochon d'Inde, sont aussi employées dans des modèles d'arthrose post-méniscectomie partielle ou totale, avec des résultats variables.¹⁴⁶

4.5.2.6. Combinaisons

Chez le rat, la souris, le cochon d'Inde et le lapin, diverses combinaisons de procédures chirurgicales ont mené à la création de modèles d'arthrose. La CCLT avec méniscectomie partielle chez le rat a été employée pour l'investigation de facteurs accélérant la pathogénie de l'arthrose et ses événements moléculaires,²³⁴ de marqueurs de douleur et modification de la démarche⁹ et de changements osseux arthrosiques.²³⁵

Chez le rat, la transsection du ligament collatéral médial du grasset combinée à la déchirure méniscale a permis d'évaluer des traitements chondroprotecteurs.²³⁶ Ce modèle est peu

agressif quant à la sévérité des lésions et ces dernières tendent à demeurer stable entre 1 et 6 semaines post-chirurgie.²³⁷ Une étude a permis de quantifier et corréler les altérations de la démarche, utilisées comme un indice de douleur, et les lésions structurelles. Bien que modestes, les changements induits se sont avérés significatifs en environ 4 semaines.²³⁸ Un patron biphasique de comportements de douleurs illustrés par une asymétrie du port de poids a été détecté, avec des changements reliés à la procédure chirurgicale et l'inflammation synoviale secondaire au cours des 7 premiers jours, et ensuite un changement persistant dans le port de poids à partir du jour 28.²³⁹

La combinaison de la CCLT et de la méniscectomie a aussi permis d'investiguer les changements osseux lors de pathologie arthrosique.²²⁰ Le modèle de CCLT, déchirure méniscale et transection du ligament collatéral médial du genou a aussi été employé pour l'évaluation de traitements chondroprotecteurs.²⁴⁰

Pour le modèle de CCLT et méniscectomie partielle, des changements dégénératifs légers similaires à ceux de l'arthrose humaine sont visibles dès 2 à 4 semaines, des changements modérés vers 8 semaines, et des changements sévères sont notés de 12 à 20 semaines après la chirurgie.²³⁴

4.6. Design expérimental et mesures

4.6.1. Structure et histopathologie

Des efforts sont déployés pour normaliser les études précliniques d'arthrose. L'histopathologie demeure l'étalon d'or dans l'évaluation de la maladie et l'*Osteoarthritis Research Society International* (OARSI) a récemment publié des lignes directrices pour l'évaluation histologique standard des modèles d'arthrose dans une variété d'espèces.^{241; 242} Mais même avec les systèmes de classement histopathologique les plus couramment utilisés, la relation entre les paramètres pathologiques et la maladie cliniquement exprimée (douleur, atteinte fonctionnelle) doit cependant être établie. Il n'existe actuellement pas de lignes directrices semblables pour l'évaluation de la douleur.

4.6.2. Analyses fonctionnelles et comportementales de douleur

Vu l'important volume de recherches employant le rat dans des modèles de douleur arthrosique, une revue limitée aux tests décrits pour cette espèce sera présentée. La répétabilité des données collectées peut être influencée par différents paramètres, autres que le test lui-même. Dans une étude portant sur la fiabilité des méthodes d'évaluation de la douleur chez le rat, l'influence de l'environnement, de l'exercice, du rythme circadien, de l'évaluateur en plus de différents protocoles d'acclimatation ont été évalués en utilisant divers tests évaluant la douleur.¹⁵⁸ Les résultats n'étaient pas influencés par un rythme circadien inversé (test effectués durant le jour bien que le rat soit un animal nocturne).

4.6.2.1. Static Weight Bearing (SWB)

Des changements dans la distribution du poids sur les membres pelviens sont utilisés comme indice de douleur articulaire à l'aide d'un *Incapacitance meter*TM ou *Incapacitance tester*TM. L'appareil consiste en une chambre de plexiglass qui permet à chacune des pattes arrière de reposer sur une plaque de force indépendante. Les membres thoraciques reposent sur une surface inclinée afin de forcer l'animal à se tenir sur les pattes arrière. La force exercée par chacun des membres pelviens est mesurée en grammes et une moyenne sur 3 à 5 secondes est enregistrée. Les résultats consistent en une différence entre la patte arrière droite et la gauche par rapport à la masse corporelle ou la différence entre les valeurs pré et post-induction.^{153; 158; 229}. Des données sont disponibles pour des modèles d'arthrose chez le rat.^{10; 13; 158; 191} Il a été démontré que la répétabilité du test est meilleure si l'observateur et le sujet sont soumis à une période d'acclimatation d'au moins une semaine.¹⁵⁸

4.6.2.2. Dynamic Weight Bearing (DWB)

Le DWB est un système informatique permettant l'observation du comportement de l'animal lors de locomotion quadrupède spontanée. Les changements dans la redistribution du poids sur la surface des 4 pattes sont un indicateur de douleur car un rat souffrant de douleur arthrosique aura un patron de distribution différent d'un rat non douloureux. Les données sont recueillies pour chaque patte en même temps qu'une caméra vidéo capture les déplacements du rat. Les données sont ensuite synchronisées aux images et analysées. Cette méthode a l'avantage d'éviter le biais de l'observateur grâce à l'informatisation du système. Cependant, elle demande un équipement spécialisé et coûteux.^{243; 244}

4.6.2.3. Kinetic Weight Bearing (KWB)

Le KWB fournit des informations sur le poids appliqué sur chaque patte ainsi que la vitesse et l'accélération de chaque patte alors que l'animal se déplace. Ceci permet d'évaluer aussi la coordination et la comparaison dynamique et en temps réel de la démarche pour chaque patte lors de mouvement spontané. L'appareil consiste en un tapis contenant plusieurs milliers de capteurs dispersés à travers un couloir. Des images provenant d'une caméra et les données provenant du tapis sont ensuite transmises à un ordinateur pour l'analyse.²⁴⁵ Ce système fait présentement l'objet de validation au GREPAQ.

4.6.2.4. Activité d'exploration (Photobeam Activity System™)

La mesure de l'activité d'exploration spontanée peut être utilisée pour l'analyse de la douleur persistante.^{246; 247} Les rongeurs sont placés dans des cages de plastique transparent et des faisceaux de lumière sont disposés à intervalle de 5 cm au niveau du plancher de la cage et en hauteur (11 cm pour les rats) afin de capter les activités de locomotion et de déplacement en hauteur sur les pattes arrière respectivement. Chaque interruption dans les faisceaux est automatiquement enregistrée sur une période de temps définie.²⁴³

4.6.2.5. Laboratory Animal Behavior Observation Registration and Analysis System (LABORAS)

Le LABORAS est un système automatisé qui reconnaît une quantité de comportements normaux des rats et souris par l'analyse de forces générées par le mouvement. Un logiciel de reconnaissance des patrons de mouvement peut ensuite différencier et quantifier les changements comportementaux possiblement induits par la douleur comme le léchage, l'alimentation, le secouage de la tête ou du corps, la mastication et le toilettage. La position de l'animal dans la cage est aussi enregistrée, permettant d'évaluer sa vitesse, la distance parcourue et le temps passé dans chaque région de la cage ou à effectuer chaque type de comportement.¹⁵³

4.6.2.6. ActualHCA™

Le système ActualHCA permet l'évaluation continue de divers comportements et paramètres (locomotion, sommeil, vitesse, interactions entre individus, abreuvement, évitement, température sous-cutanée, etc.) alors que le rongeur demeure dans sa cage et même au sein

d'un groupe (idéalement 3 rats par cage). La première étape consiste à injecter une micro-puce sous-cutanée afin d'identifier et suivre chaque animal. La cage contient tout l'équipement (vidéo, caméra infrarouge, capteurs) pour la collection des données. Les cages sont logées dans un support spécialement conçu pour la transmission des données à un ordinateur. Le logiciel associé permet ensuite l'analyse des données.²⁴⁸⁻²⁵⁰ Les données obtenues par le ActualHCA ont été comparées avec des données recueillies manuellement et la corrélation s'est avérée excellente chez la souris.²⁴⁸

4.6.2.7. Autres évaluations comportementales

À l'aide de différents modèles de douleur inflammatoire et post-opératoire, un répertoire des expressions faciales (*Rat Grimace Scale*) liées à la douleur et un système de détection automatisé (*Rodent Face Finder*™) de ces expressions a été développé et validé par l'administration de morphine. Le répertoire tient compte de la forme de l'orbite, la position des vibrisses, du nez et des oreilles afin de générer un score de 0, 1 ou 2, qualifiant la douleur d'absente, modérée ou évidente.²⁵¹ Dans la recherche de méthodes d'évaluation de la douleur tenant compte du registre éthologique normal de l'espèce utilisée en recherche, le comportement de fouille et creuse (*burrowing*) a été évalué chez le rat avec un modèle de douleur MIA et un modèle de douleur inflammatoire et de douleur neuropathique.^{252; 253} L'hypothèse principale repose sur la prémisse qu'un rat présentant de la douleur sera moins prompt à exécuter ses activités normales et déplacera moins de sable qu'un rat contrôle. Ceci s'est avéré vrai pour des rats ayant reçu 3mg de MIA dans chaque genou, mais pas pour ceux ayant reçu une injection unilatérale. Le comportement de creuse était aussi amélioré par l'administration d'ibuprofène et de célécoxib. Le gabapénin et la morphine n'augmentaient pas le comportement de *burrowing*, même qu'une dose élevée de morphine (3mg/kg) le diminuait.²⁵³ Dans le modèle inflammatoire tout comme dans le modèle de douleur neuropathique, des doses analgésiques contrôlées (n'induisant pas de sédation) ont aussi amélioré le comportement de *burrowing* bien que l'évaluation de l'hypersensibilité mécanique (von Frey) n'était pas directement corrélée, indiquant que le comportement de fouille et creuse est un paradigme évaluant multiples aspects de la douleur.²⁵²

4.6.2.8. Test d'extension et de flexion de l'articulation

L'allodynie mécanique primaire est difficile à évaluer dans un contexte de recherche. Le test de flexion du genou (*knee bend test*), permet de documenter la douleur évoquée par le mouvement au site primaire. Un score est attribué à la réaction à la flexion et l'extension manuelle du genou. Le nombre de réactions, le type de réactions (cris, tentatives d'échapper à la procédure) et le type de manipulations (flexion, extension et leur amplitude) provoquant la réaction sont compilés pour produire un score de 0 à 20 pour 5 flexions et extensions. Un score de 0 est attribué si aucune réponse aux manipulations n'est produite. Un score de 0,5 est assigné si l'animal tente d'échapper à l'intervention lors de la flexion ou l'extension maximale. Un score de 1 est alloué si le rat tente de s'échapper lors de flexion ou extension modérée et crie lors de flexion ou extension maximale. Finalement, un score de 2 est attribué aux sujets présentant des vocalisations et tentant de s'échapper lors de flexion ou extension modérées.^{119; 254}

Le test d'extension du genou est effectué alors que le manipulateur tient la cuisse de l'animal à examiner. Le genou est initialement placé en légère flexion et est ensuite mis en extension. Le nombre de vocalisations ou tentatives d'évasion durant 5 extensions consécutives est enregistré. Ces nombres peuvent ensuite être comparés aux données pré-induction ou aux données du membre controlatéral. Il a été avancé que ce test pourrait être représentatif des limitations à l'amplitude de mouvement causées par l'arthrose. Un désavantage important réside dans la nécessité de contention de l'animal, ce qui induit un stress important et par conséquent un biais conséquent dans les données collectées.^{11; 254; 255} Les qualités métrologiques (reproductibilité inter-observateurs, répétabilité dans le temps et fiabilité) n'ont pas, à notre connaissance, été testées.

4.6.2.9. Test de von Frey

Les filaments de von Frey sont couramment utilisés pour l'évaluation de l'allodynie mécanique secondaire chez les animaux de laboratoire. L'allodynie est qualifiée de secondaire puisque le stimulus est appliqué à un site distant de la lésion et n'est pas en soi nociceptif. Des filaments de nylon calibrés sont appliqués pendant quelques secondes à la surface plantaire du membre opéré. La réaction attendue est le retrait de la patte, ce qui correspond à la stimulation nociceptive nécessaire pour que l'animal tente d'échapper au stimulus nociceptif (seuil de

retrait, PWT). Si l'animal réagit, la taille du filament est notée et correspond au seuil de retrait au niveau de la valeur médiane entre celle-ci qui a donné une réponse et la précédente / suivante qui n'en donne pas. Si l'animal ne retire pas la patte, un filament plus gros est testé, jusqu'à ce que le réflexe attendu soit produit.^{9; 10}

Une version électronique des filaments de von Frey a été développée afin d'éliminer certains des inconvénients du test (longue durée d'expérimentation, difficulté de standardisation, sensibilisation due à la répétition des stimuli). Il s'agit d'un instrument équipé d'un filament unique de nylon ou polypropylène de taille définie appliqué de manière similaire aux filaments de von Frey traditionnels à la surface plantaire du membre opéré une fois l'appareil calibré et connecté à un système information de collection des informations. La force appliquée est convertie en un signal digital et une valeur numérique unique est affichée. Cette méthode a été comparée aux filaments traditionnels avec un modèle de douleur neuropathique chez le rat.²⁵⁶ Bien que les deux tests fournissent de l'information légèrement différente, les données fournies par la version électronique des filaments de von Frey se sont avérées précises en plus d'être plus pratiques. Chez l'humain, la version électronique s'est avérée plus fiable et rapide.²⁵⁷ Des données sont disponibles pour des modèles d'arthrose chez le rat.^{8; 10; 13} Tout comme le SWB, il a été noté qu'une période d'acclimatation pour le rat et l'observateur augmentait la répétabilité du test, qui devenait excellente à partir de 15 jours après le début de l'étude. L'exercice n'influençait pas les résultats dans l'étude d'Otis *et al.* tout comme l'observateur ou la patte testée.¹⁵⁸

4.6.2.10. Test de Randall-Selitto

L'hyperalgésie secondaire peut être évaluée par le test de Randall-Selitto, en utilisant un algésimètre spécifiquement conçu. La contention de l'animal est partielle et la patte à tester est placée sur une surface plane. L'algésimètre, qui comprend une surface à bout mousse, est appliqué à la surface dorsale de la patte avec une pression croissante. Le temps nécessaire pour que l'animal retire la patte est noté, ainsi que la pression en gramme nécessaire au retrait. Ce test a originalement été développé pour l'évaluation de douleur inflammatoire²⁵⁸ mais des données ont été par la suite générées pour des modèles d'arthrose.^{10; 14} Toutefois, ses qualités métrologiques se sont révélées faibles et il apparaît préférable de ne pas envisager son utilisation dans l'évaluation de l'hyperalgésie mécanique secondaire.¹⁵⁸

4.6.2.11. Place Escape/Avoidance Paradigm (PEAP)

Différents tests impliquant un conditionnement de l'animal ont été développés afin de mieux évaluer la dimension chronique et émotionnelle de la douleur chronique et neuropathique. Un paradigme d'évitement ou d'échappement du lieu où le stimulus aversif est appliqué a été décrit afin d'évaluer le désir d'échapper au lieu où la stimulation mécanique hyperalgésique survient, même si l'échappement cause de la douleur ou le lieu d'échappement est moins confortable émotionnellement. Le rat est placé dans une chambre, divisée en 2 parties d'aire égale, munie d'un plancher de grillage. Un côté de la chambre est clair (murs blancs et lampe) et l'autre côté est sombre (murs noirs sans éclairage direct). Le rat a libre accès aux 2 environnements *via* un tunnel. À l'aide d'un fil de von Frey de 60 g, un stimulus est appliqué à la surface plantaire du rat à toutes les 15 secondes et la localisation du rat est notée. La patte du côté induit (douloureux) est stimulée lorsque le rat est situé dans le côté sombre de la chambre et la patte controlatérale lorsqu'il est situé dans la section claire. Le résultat mesuré est le temps passé dans chaque environnement. Une trouvaille constante du test est que les rats tendent à passer un temps similaire dans les 2 côtés de la chambre au début de la session. Si le rat ne présente pas de douleur, alors il va fortement préférer le côté sombre.¹⁵⁸ Par la suite, les rats restent plus longtemps du côté où la patte controlatérale à la lésion est stimulée, même si l'environnement est moins agréable, démontrant ainsi, du moins de manière temporelle, une tendance à éviter l'environnement douloureux. Par contre, si l'animal induit reçoit un analgésique efficace, il montrera une préférence à rester plus souvent dans la section sombre tel que montré dans l'étude de Otis *et al.* pendant laquelle le PEAP était le test le plus sensible pour détecter une différence entre un group Sham, un groupe MIA et un groupe MIA après l'administration intra-articulaire de lidocaïne. Le PEAP avait aussi une bonne répétabilité.¹⁵⁸ Une session dure 20 minutes et permet d'évaluer la douleur aiguë et chronique. Aucune séance d'entraînement du rat n'est nécessaire. Par contre, il n'existe pas d'appareil automatique permettant d'effectuer ce test. Un seul animal peut être testé à la fois par un manipulateur, ce qui rend la procédure exigeante en terme de temps et d'énergie humaine.²⁵⁹⁻²⁶²

Le PEAP a été évalué avec différents modèles de douleur ainsi qu'avec l'administration d'analgésique afin d'évaluer la prévention du comportement d'évitement.²⁶² L'évaluation de différents médicaments a permis de définir que certaines avait une efficacité plus prononcée

pour diminuer la dimension affective *versus* sensorielle de la douleur.²⁶¹⁻²⁶³ Dans une étude sur l'effet de l'administration d'Aspirine évalué avec le PEAP avec un modèle de douleur inflammatoire, les chercheurs ont noté que les rats traités, bien que démontrant de l'hyperalgésie lorsque comparés au groupe contrôle, étaient moins susceptibles d'éviter la stimulation de la patte douloureuse associée au côté sombre de la chambre que les rats ne recevant pas d'Aspirine.²⁶³ Des conclusions similaires ont été tirées par Pederson *et al.* lors de l'utilisation du PEAP avec un modèle de douleur neuropathique. Les médicaments influençant préférentiellement l'humeur comme la duloxétine avait une influence plus importante sur les résultats du PEAP que les médicaments affectant strictement la composante sensitive de la douleur comme la morphine.²⁶² Aussi, une excellente répétabilité, particulièrement si les 5 premières et dernières minutes du test sont exclues, a été démontrée.¹⁵⁸

4.6.2.12. Hyperalgésie thermique (test de Hargreaves)

Le seuil de douleur déclenché par une température élevée peut être évalué à l'aide de l'appareil de Hargreaves, une cage avec un plancher de verre. Un stimulus thermique nociceptif est ensuite appliqué à la surface plantaire à travers le verre jusqu'à ce que l'animal soulève la patte pour échapper à la chaleur, ce qui indique le temps de retrait de la patte (temps de latence, en secondes).^{243; 264}

Une version plus simple du test de Hargreaves peut être effectuée à l'aide d'une plaque chauffante placée dans un environnement restreint. Le temps écoulé entre le moment où l'animal est placé dans l'appareil et l'apparition de mouvements brusques tels que le soulèvement des pattes, le léchage ou les tremblements, à différentes températures, est enregistré.²⁴³

4.6.2.13. Posture et démarche (CatWalk™)

L'appareil CatWalk™ est constitué d'un corridor avec un plancher de verre avec à une extrémité une entrée et à l'autre une cage protégée par une porte coulissante. Un câble à fibre optique produit de la lumière tout le long du corridor et celle-ci est reflétée presque entièrement par le verre, à l'exception des endroits où un objet touche le verre. L'animal marche à travers le corridor alors qu'un système informatique enregistre les données. L'intensité de la lumière aux points de contact reflète la pression exercée à chaque point.²⁶⁵

Plus il y a de pression, plus la surface de contact entre la peau de l'animal et le plancher de verre est grande, ce qui produit un pixel plus brillant lors de l'analyse des données par le logiciel CatWalk™. Le plancher peut aussi être enregistré sur vidéo par une caméra placée en dessous de l'appareil.²⁴³

Le CatWalk™ est un appareil qui permet de quantifier les comportements douloureux grâce à l'analyse de différents paramètres de la démarche. Chacune des pattes de l'animal peut être évaluée individuellement dans le cadre d'une analyse dynamique du patron de marche. Ces paramètres incluent entre autres la surface de contact de la patte avec le plancher de l'appareil, l'intensité de l'appui sur chaque membre, la durée de la phase d'appui, la régularité ainsi que la symétrie de la démarche.^{266; 267} Cette modalité d'évaluation de la douleur a été utilisée lors de plusieurs études avec des rongeurs atteints de diverses pathologies²⁶⁶⁻²⁷⁰ et une corrélation entre la perception de douleur évaluée par le test de retrait de la patte (filament de von Frey) et certains paramètres du CatWalk™ a été démontrée dans un modèle de douleur neuropathique chez le rat.²⁷¹ D'autres auteurs questionnent la corrélation entre ces deux modalités, mentionnant que le modèle animal choisi peut influencer grandement le résultat.^{9; 268} Contrairement à d'autres méthodes d'évaluation de la démarche, le CatWalk™ ne requiert pas que l'animal se déplace à une vitesse définie ou constante. Ceci facilite beaucoup l'évaluation de sujets présentant de la douleur et ne pouvant pas se déplacer suivant des paramètres similaires aux sujets sains.¹⁴⁰ Des données sont disponibles pour les rats arthrosiques.^{9; 140; 191} Une question persiste cependant : comment distinguer le comportement douloureux d'une perte de fonction ?⁶⁶

4.6.2.14. Douleur évoquée par le mouvement (Rotarod™)

Le Rotarod™ est un test permettant d'évaluer différents tests de performance comme la coordination, l'équilibre et l'endurance. L'animal est placé sur une perche tubulaire et rotative qui incite à l'activité motrice. Le temps que l'animal passe sur l'appareil sans tomber (période de latence) est mesuré en secondes. La vitesse de rotation de la perche peut être modifiée à chacun des essais.²⁴³ Cet appareil permet d'obtenir facilement une mesure objective de la coordination motrice et de la douleur évoquée par le mouvement.²²¹

5. Problématique

Malgré le fait que l'arthrose soit une cause majeure de douleur chronique et comporte un impact socio-économique considérable,^{13; 62} l'étiologie de la maladie ne demeure que partiellement comprise et les options thérapeutiques se limitent majoritairement à la palliation des symptômes.^{10; 272} Les symptômes sont d'origines diverses et bien que la douleur soit une caractéristique de premier plan de la maladie, un seul mécanisme ne suffit pas à expliquer l'ensemble des caractéristiques de la douleur arthrosique, depuis la composante inflammatoire, jusqu'à la neuroplasticité menant à l'hyperalgésie et allodynie.⁵⁻⁷

Les modèles animaux sont utilisés pour l'étude des mécanismes de douleur et l'évaluation de thérapies. Bien qu'il n'existe aucun modèle parfait, ils demeurent une source essentielle d'information. Le modèle idéal devrait être reproductible, fiable et comporter la meilleure valeur translationnelle possible.^{146; 203} L'injection intra-articulaire de MIA constitue le modèle le plus utilisé pour l'évaluation de thérapies analgésiques pour l'arthrose chez le rat.^{12; 13; 182} Bien que les changements structuraux créés ressemblent à ceux de la pathologie humaine, la pathogénèse demeure bien différente de la maladie naturelle malgré la documentation de la présence de douleur centralisée. Les changements pathologiques occasionnés par le modèle MIA tendent à être temporaires et agressifs en plus d'être de pathogénèse bien différente de la maladie humaine, ce qui peut limiter la prédictibilité de l'effet d'analgésiques ou d'autres agents thérapeutiques chez le patient humain, voire d'autres espèces animales. Il y a, à ce jour, une lacune quant à l'effet des modèles chirurgicaux chez le rat, qui eux, pourraient possiblement reproduire plus efficacement la pathologie retrouvée chez l'Homme.

6. Objectifs de l'étude

Différents modèles chirurgicaux ont été développés chez le rat, aucun n'ayant répondu pleinement aux critères recherchés. Le développement d'un meilleur modèle animal pourrait donc permettre de pallier les caractéristiques indésirables des modèles existants tout en pouvant améliorer les connaissances sur la pathologie arthrosique et ses traitements. Dans cette optique, le modèle DMM, CCLT et la combinaison des deux, un nouveau modèle chez le rat, ont été comparés au modèle MIA d'un point de vue fonctionnel et neuroprotéomique.

7. Hypothèses de recherche

Deux hypothèses ont été formulées. Tout d'abord, l'induction chirurgicale d'arthrose devrait être accompagnée de modifications quantifiables des mesures fonctionnelles de douleur et des biomarqueurs spinaux de douleur. Ensuite, ces changements devraient être le reflet de la présence de douleur chronique et non-physiologique.

Section 3: Article

Functional and spinal neuropeptidomic alterations in a new rat surgical model of osteoarthritic pain: A pilot study.

Julie Anne Gervais¹, Colombe Otis¹, Bertrand Lussier², Martin Guillot¹, Francis Beaudry¹, Eric Troncy¹

¹Département de biomédecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, St.-Hyacinthe, Québec, Canada

²Département de sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal, St.-Hyacinthe, Québec, Canada

Corresponding author:

Eric Troncy

eric.troncy@umontreal.ca

(Soumis pour publication, *Peer J*, Decembre 2016)

1. Abstract

Background. Osteoarthritis is the leading cause of chronic joint pain, causing important productivity and economic losses. It is believed that peripheral and centralized sensitization play a role in the creation and maintenance of a chronic painful state. Different animal models have been employed for the investigation of pain mechanisms and evaluation of potential treatments, but none of them are ideal in terms of reproducibility, reliability and translational value.

Methods. In the search for better animal model, this pilot study was performed with the goal of evaluating pain functional outcomes and spinal biomarkers between three surgical rat models of osteoarthritic pain, *i.e.* destabilization of the medial meniscus, cranial cruciate ligament transection and the combination of both, and comparing those results to the intra-articular injection of monosodium iodoacetate. Six rats were assigned to each model group and a Sham group. Static weight bearing, punctate tactile paw withdrawal threshold, and spinal neuropeptides (substance P, calcitonin gene-related peptide, bradykinin, and somatostatin) were evaluated for each group.

Results. Both the monosodium iodoacetate and combination models induced functional alterations in static weight bearing and punctate tactile paw withdrawal threshold, the changes being more persistent in the combination group. Both also produced an increased release of pro-nociceptive and anti-nociceptive neuropeptides at different time-points. When surgical models were compared, the cranial cruciate ligament transection and destabilization of the medial meniscus models were less interesting, with temporary functional alterations, and no significant change in neuropeptides.

Discussion. The surgical induction of osteoarthritis was accompanied by quantifiable neurophysiologic changes relating to non-physiologic pain. Comparison with the monosodium iodoacetate model showed that the interest of a surgical model, especially the combination of destabilization of the medial meniscus and cranial cruciate ligament transection, might reside in more persistent and progressive changes, a model that may represent better the human post-traumatic osteoarthritis.

2. Introduction

Osteoarthritis (OA) is an important pathology of veterinary and human patients. It is documented as the first cause of chronic joint pain in human patients in the USA, causing tremendous decreases in productivity and economic losses (*Pomonis et al., 2005*). Currently available treatments are centered on symptom relief and, although knowledge of the disease process has significantly evolved over the past decades, the pathology and symptomatology remain only partially understood (*Fernihough et al., 2004; Pelletier, Martel-Pelletier & Abramson, 2001*). It is believed that peripheral and centralized sensitization play a role in the creation and maintenance of a chronic painful state and that it is imperfectly correlated to radiographic or histologic evaluation of the affected joints (*Fernihough et al., 2004; Hawker, 2012; Im et al., 2010; Zhang, Ren & Dubner, 2013*).

Different animal models have been employed for the investigation of pain mechanisms and evaluation of potential treatments. The ideal animal model should be reproducible, reliable and offer the best translational value possible (*Bendele, 2001; Little & Smith, 2008*). Classically, the intra-articular injection of monosodium iodoacetate (MIA) in rats has been used for the evaluation of analgesic OA therapies. It relies on the disruption of chondrocyte glycolysis, causing an interruption in their metabolism and subsequent cartilage damage (*Guzman et al., 2003; Kobayashi et al., 2003; Pomonis et al., 2005*). It is believed to cause structural changes that mimic the human pathology and, although pathogenesis is different from the natural disease, weight bearing changes (*Pomonis et al. 2005*) and centralized pain were documented (*Ferland et al., 2011; Fernihough et al. 2004; Im et al., 2010; Zhang, Ren & Dubner, 2013*). Unfortunately, the MIA model causes temporary changes of short duration and relies on a disease mechanism different from human OA, which could limit the predictability of therapeutic effect of analgesics and disease modifying agents. Different surgical rat models have also been used with various results and outcome measures. Until now, none of the surgical model has satisfied all the desired criteria (*Barve et al., 2007; Bendele, 2001; Little & Zaki, 2012*).

In the search for better animal models, this pilot study was performed with the goal of evaluating pain functional outcomes and spinal biomarkers between three surgical rat models

of OA pain, *i.e.* destabilization of the medial meniscus (DMM), cranial cruciate ligament transection (CCLT) and the combination of both (Combo), and comparing those results to the MIA model. The use of DMM was previously studied in mice for structural and biomarker assessment (*Das et al., 2010; Inglis et al., 2008*). To our knowledge, it is the first application of this surgical model in rats. It was selected because of the ease of induction and standardization compared to the meniscectomy. Consequently, the Combo model appears as a new surgical OA model in rats.

The research hypothesis was that surgical OA induction would be accompanied by quantifiable neurophysiological modifications compatible with the presence of chronic non-physiologic pain.

3. Material and methods

3.1 Animals

The study protocol was approved by the Université de Montréal Animal Care and Use Committee (No. rech-1766), in accordance with the recommendations of the Canadian Council on Animal Care.

Female Sprague-Dawley rats ($n = 30$) were obtained from Charles River Canada (St.-Constant, Québec, Canada). Mean body weight was 400 g and ages ranged from four to eight months old (skeletal maturity).

The study was conducted at ArthroLab Inc. (Saint-Basile-le-Grand, Québec, Canada) in a standardized environment and with routine maintenance according to ArthroLab Inc. SOP AC7011-3.

3.2 Group description

Rats ($n = 6$ per group) were randomly assigned to one of the five treatment groups that included three different surgical OA models, one Sham surgical model and one MIA model. Groups were as follows: (1) Sham; (2) DMM; (3) CCLT; (4) Combo for the combination of DMM and CCLT rats; (5) MIA.

3.3 Induction of OA

Anesthesia and analgesia. For the four surgical groups, on day (D) 0, 0.02 mg/kg of buprenorphine (Buprenex®, Reckitt Benckiser, Richmond, VA, USA) was administered intramuscularly as premedication, anesthesia was induced with isoflurane (IsoFlo®, Abbott Animal Health, Montreal, Québec, Canada) in O₂ in an induction box and maintained with 2% isoflurane in O₂ mixture with a face mask. At the end of the surgical procedures, a periarticular block of bupivacaine 0.25% (Marcaine®, McKesson Canada, St.-Laurent, Québec, Canada) at a dose of 0.05-0.1 mL per stifle (< 1 mg/kg) was performed. For the MIA group, similar procedure was conducted, with the exception of the periarticular bupivacaine block.

Intra-articular MIA injection. In the subjects of the MIA group, an intra-articular injection of 2 mg of MIA (Sigma-Aldrich, St.-Louis, MO, USA) dissolved in 50 µL of 0.9% sterile saline was performed through the right infrapatellar ligament using a previously described technique (*Fernihough et al., 2004; Guingamp et al., 1997; Otis et al., 2016; Vermeirsch et al., 2007*).

Surgical procedures. All procedures were performed on the right stifle following preparation for aseptic surgical technique. For the surgical groups, a medial skin incision followed by a medial parapatellar arthrotomy was used. The patella was luxated laterally, the pertinent articular structures were identified and the designated procedure was performed. Then, the patella was anatomically reduced and the surgical site closure was performed in successive planes using 5-0 polyglactin 910 (Vicryl®, Ethicon, Somerville, NJ, USA). In the subjects of the Sham group, all intra-articular structures were left intact after the arthrotomy. In the animals of the DMM group, the medial cranial meniscotibial ligament was identified and transected using a #15 blade as previously described in mice (*Glasson, Blanchet & Morris, 2007*). Spontaneous caudomedial retraction of the medial meniscus was observed, proof of complete transection of the ligament. In the rats of the CCLT group, the cranial cruciate ligament was transected with a #11 blade as previously described (*Williams et al., 1982*) and the complete transection was confirmed by cranial drawer motion. In the subjects of the Combo group, first the DMM was performed followed by the CCLT.

3.4 Functional evaluations

Rats were acclimatized to the evaluation environments at D-14, D-7, D-5 and D-3, spending five to ten minutes in each of the two apparatus used for functional pain assessment, according to a recent validation in rats (*Otis et al., 2016*). Assessment time-points differed between the surgical groups (D-1 = baseline, D14, D28 and D42) and the MIA group (D-1 = baseline, D3, D7, D14 and D21). Selected functional pain assessment methods have been recently determined as reliable (reproducible, repeatable) and sensitive to pain OA detection in rats using the MIA model (*Otis et al. 2016*). Functional evaluation observers were completely blinded to OA induction, and experimental design.

The weight distribution through the right and left stifle was assessed using an Incapacitance Meter® (IITC Life Science Inc., Woodland Hills, CA, USA) to measure static weight bearing (SWB) distribution in the two hind limbs as previously published (*Otis et al., 2016*). The force exerted by each hind limb was measured and analyzed in grams, but reported in percentage of total body weight (%BW) to normalize the data. Rats were allowed to acclimate to the testing apparatus and when stationary, readings were taken over a 3-s period. Triplicates were taken simultaneously for each limb at each time point.

Then, tactile sensitivity was assessed using the Electronic von Frey anesthesiometer® (IITC Life Science Inc., Woodland Hills, CA, USA) with a standardized filament (0.7mm² polypropylene Supertip) to obtain punctate tactile paw withdrawal threshold (PWT). Rats were placed in a grillage-bottom cage on an elevated stand and allowed to acclimatize for one minute. The operator then applied the filament with continuous progressive pressure to the center of the plantar surface of the paw until the animal lifted the paw. Both hind paws were tested three times, in a randomized order, and with a refractory period of one minute between each trial (*Otis et al., 2016*).

3.5 Euthanasia

Euthanasia was performed by decapitation following isoflurane overdose (after the last functional evaluation day, D21 for the MIA and D42 for the surgical groups) after which collection of the spinal cord was achieved by a saline flush technique (*Otis et al., 2016*).

Samples were snap frozen in cold hexane, stored individually and kept at -80°C pending neuropeptidomic analysis.

3.6 Neuropeptidomics

Central sensitization mechanisms include various biochemical processes such as increased spinal release of neurotransmitters and neuromodulators, as well as an increased excitability of postsynaptic neurons. Recently, spinal release of substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) was detected in the MIA-induced OA pain model in rats (*Kobayashi et al., 2003; Otis et al., 2016*). In the present study, SP, CGRP, bradykinin (BK) and somatostatin (SST) were analyzed by high performance liquid chromatography-mass spectrometry and expressed in fmol/mg of spinal cord homogenates (1:5 w/v in 0.25% TFA solution) according to a previously described technique (*Otis et al., 2016*).

3.7 Statistical analysis

The %BW and PWT data were expressed as the average of the three trials of each paw. The symmetry index was used only to statistically confirm the impressions given by the graphs, when necessary.

The normality of the data (Shapiro-Wilk test) and the homogeneity of variance were confirmed using the absolute values of the residuals of the mixed model, when appropriate. Unless indicated otherwise, hypothesis were two-sided and alpha-value was set at 0.05.

For each model, the first tested hypothesis was that there was at least one evaluation day when the outcome was different from the baseline. A linear mixed model for repeated measures was used. Multiple comparisons were performed using the Dunnett procedure. Then, the surgical models that presented a significant change over time were compared. The second hypothesis was that at least one model differed. The alpha-value was set at 0.1 at that time to maximize the chances of significant results in a comparative pilot study setting. It is acceptable to set a higher alpha value, when the goal of the study is to find an effect that could lead to a promising scientific discovery. This allows to increase the power and consequently decrease the risk of Type II error, but it also increases the chances of making a Type I error (*i.e.*, saying there is a difference when there is not) (*Curran-Everett & Benos, 2004*). Data were processed using a linear mixed model for repeated measures, except for the neuropeptides data, which

were analyzed with the unpaired exact Wilcoxon test following a non-parametric Kruskal-Wallis one-way analysis of variance. Tukey adjustment was used to obtain adjusted (adj)-*P*-values for multiple comparisons.

4. Results

All animals lived until the day of euthanasia and there were no significant complication following the surgical procedures or intra-articular injections. The %BW and PWT data of one rat of the CCLT group were excluded from statistical analyses due to non-relevant baseline values. Collection of the spinal cord was unsuccessful in one rat of the MIA group.

4.1 Functional evaluations

The values from all groups except for DMM rats, presented a significant change over time for the right hind limb (RHL) %BW (Table 1).

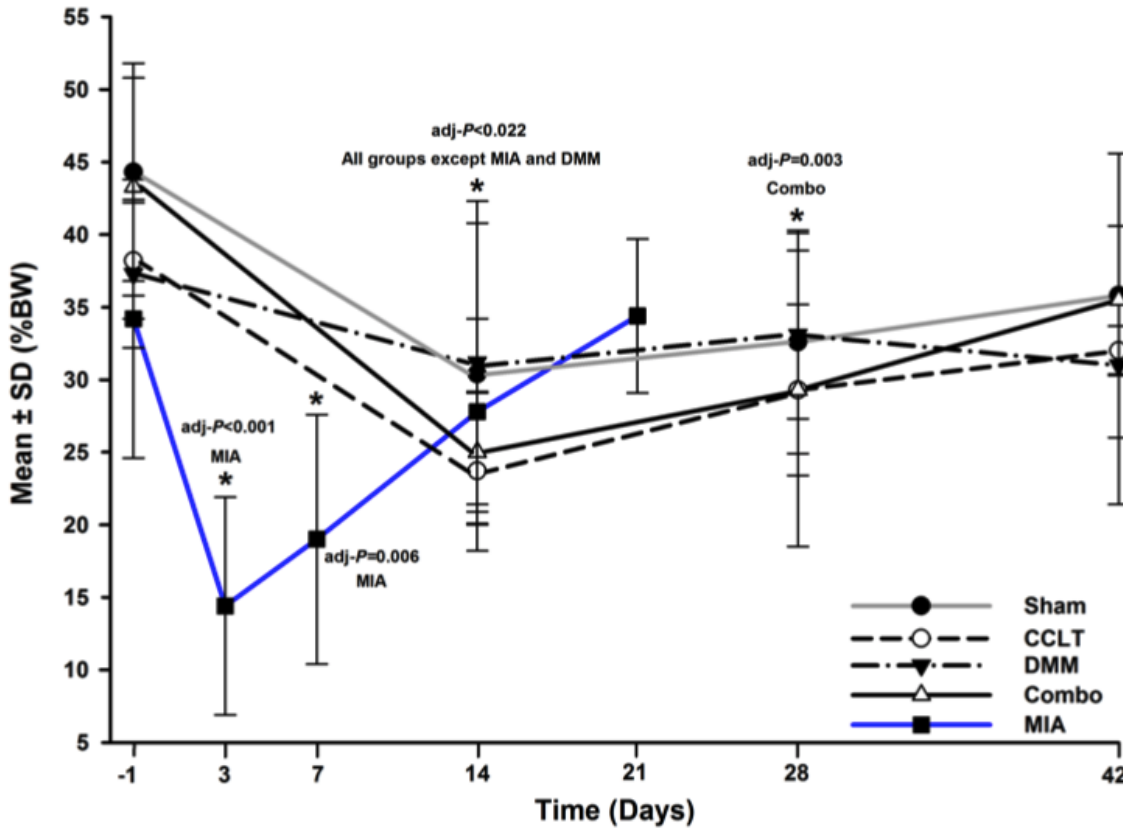
Table 1: Testing time effect and specific comparison vs. baseline of the static weight bearing for the right hind limb

Experimental groups	Type III test of fixed effects ProbF	Day	Adjusted <i>P</i> -value (differences of least squares means, standard error)
Sham	0.041	14	0.022 (-13.93, 4.61)
CCLT	0.028	14	0.006 (-14.49, 2.98)
DMM	0.599		
Combo	<0.001	14	<0.001 (-18.33, 2.83)
		28	0.003 (-14.01, 3.60)
MIA	<0.001	3	<0.001 (-19.74, 4.11)
		7	0.006 (-15.17, 4.19)

Notes: For each group, the best structure of the covariance model was assessed using a graphical method (plots of covariance vs. lag in time between pairs of observation compared to different covariance model), and using information criteria that measure the relative fit of competing covariance model: normal distribution, compound symmetry covariance structure (Sham, DMM and MIA groups); heterogeneous compound symmetry covariance structure (CCLT group), and type-1 auto regressive covariance structure (Combo group). For the baseline to specific day comparison, adjusted *P*-value for multiple comparisons was obtained using the Dunnett procedure. A bold font highlights a significant difference.

Values decreased for all groups at the second evaluation time-point and tended to increase afterwards (Fig.1).

Figure 1: Percentage body weight (%BW) (mean ± standard deviation) of the right hind limb for the static weight bearing by day (D).



Time is distributed differently for the surgical (D-1, D14, D28 and D42) and the MIA (D-1, D3, D7, D14, D21) groups. A star indicates a day when there is a statistically significant decreased value compared to its baseline (see Table 1 for details).

Within the surgical models, only the Combo model data were still significantly lower than the baseline values at D28 (Table 1). A Type III day effect was noted ($P=0.004$) for the surgical models, no group effect, and this indicated that globally, an alteration in the %BW of the RHL was detected over time but the analysis was not sensitive enough to detect the apparently more severe change in the Combo group (Fig.1). Interestingly, there was an increase in the %BW of the left (non-affected) hind limb in the MIA group at D3 and D7 and the asymmetry SWB

distribution confirmed a significant weight shift to the left side for these time-points ($P < 0.001$). In the surgical groups, this phenomenon was not observed and the SWB distribution was not significantly different from baseline.

For the right hind paw (RHP) PWT, changes in time were significant for all groups except the Sham group (Table 2).

Table 2: Testing time effect and specific comparison vs. baseline of the paw withdrawal threshold for the right hind paw

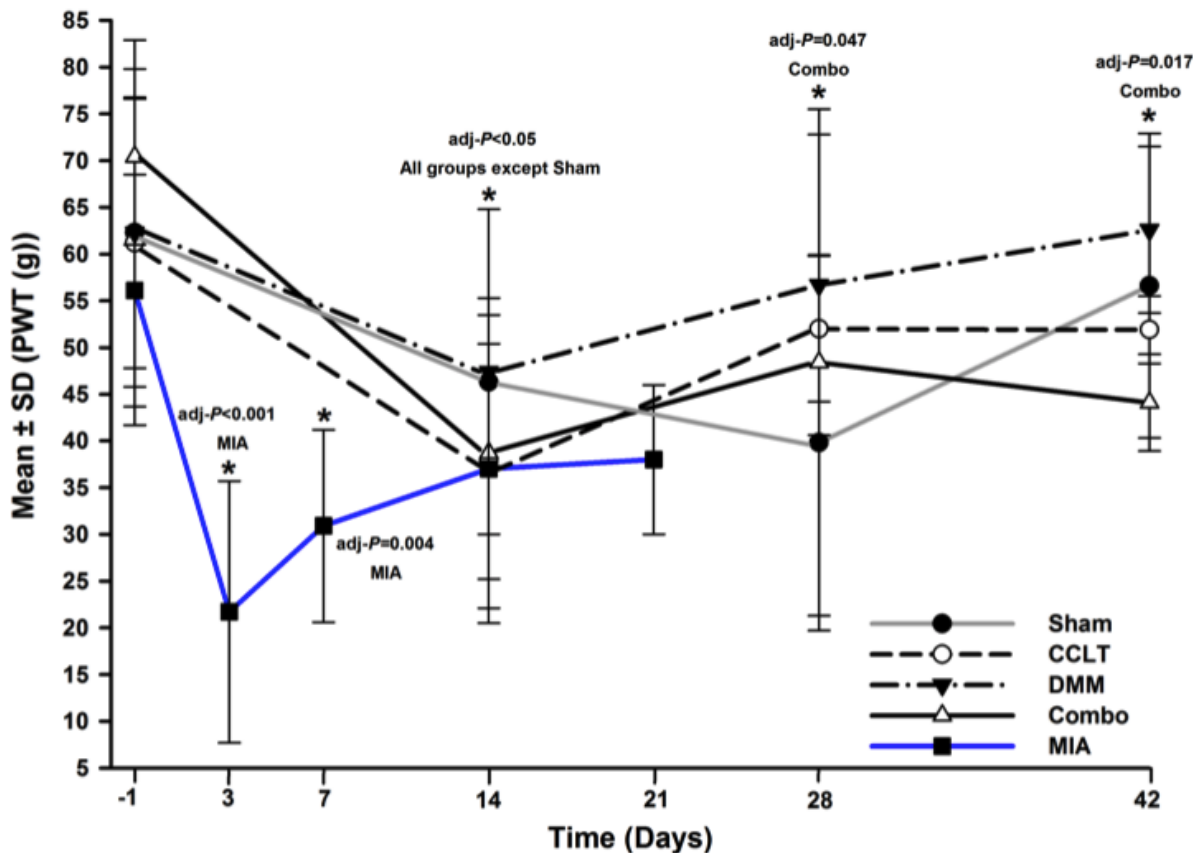
Experimental groups	Type III test of fixed effects ProbF	Day	Adjusted <i>P</i> -value (differences of least squares means, standard error)
Sham	0.061		
CCLT	0.036	14	0.014 (-23.47, 6.90)
DMM	0.049	14	0.043 (-14.81, 5.52)
Combo	0.009	14	0.005 (-31.64, 8.32)
		28	0.047 (-21.97, 7.96)
		42	0.017 (-26.26, 8.14)
MIA	<0.001	3	<0.001 (-34.34, 5.68)
		7	0.004 (-25.20, 6.83)
		14	0.049 (-19.07, 7.29)

Notes: For each group, the best structure of the covariance model was assessed using a graphical method (plots of covariance vs. lag in time between pairs of observation compared to different covariance model), and using information criteria that measure the relative fit of competing covariance model: normal distribution, compound symmetry covariance structure (Sham, CCLT, DMM, Combo and MIA groups). For the baseline to specific day comparison, adjusted *P*-value for multiple comparisons was obtained using the Dunnett procedure. A bold font highlights a significant difference.

Values decreased for all groups at the second evaluation time-point and tended to increase afterwards (Fig.2). The Combo group continued to show a significantly persistent decrease in RHP PWT values until the last evaluation day (Table 2). A Type III effect of the day

($P=0.014$) and group ($P=0.064$) was present when surgical models were compared using normal distribution compound symmetry with heterogeneous day covariance structure mixed model.

Figure 2: Paw withdrawal threshold (PWT) (mean \pm standard deviation)) of the right hind paw by day (D).



Time is distributed differently for the surgical (D-1, D14, D28 and D42) and the MIA (D-1, D3, D7, D14, D21) groups. A star indicates a day when there is a statistically significant decreased value compared to its baseline (see Table 2 for details).

This indicated that globally, an alteration in PWT was detected over time and the statistical analysis was sensitive enough to detect a larger alteration in the Combo group than in the DMM group ($P=0.053$). Interestingly, the difference between groups was not significant for the Combo when compared to the CCLT and Sham groups (Fig.2). There was a simultaneous increase in the PWT of the left hind paw and decrease of PWT of the RHP on D14 for the

DMM group and on D3 and D7 for the MIA group. The asymmetry distribution of the PWT showed a significant weight shift to the left side at D3 and D7 ($P < 0.001$) for the MIA group only. In the surgical groups, this was not observed and the PWT distribution was not significantly different from baseline.

4.2 Biomarkers

Compared to the Combo group, all other surgical groups presented significantly lower values for CGRP (Sham adj- $P=0.002$; CCLT adj- $P=0.007$; DMM adj- $P < 0.001$) (Table 3). The concentration of SST in the Combo group was significantly higher compared to Sham and CCLT groups (adj- $P=0.088$ and 0.017 , respectively). The spinal concentrations of SP and BK presented a Type-III significant group effect ($P=0.095$, and 0.028 , respectively), but the analysis was not sensitive enough to detect the difference between surgical groups. Values of all neuropeptides, except SP ($P=0.476$), were significantly higher in the MIA model compared to Combo group (adj- $P < 0.02$).

Table 3: Between-groups comparison of neuropeptide spinal concentrations (mean \pm standard deviation) in surgical and chemical models of osteoarthritis pain in rats.

Neuropeptides (fmol/mg)					
Experimental groups	<i>n</i>	SP	CGRP	BK	SST
Sham	6	112 \pm 12 ^a	569 \pm 42 ^a	213 \pm 15 ^a	339 \pm 23 ^a
CCLT	6	118 \pm 18 ^a	593 \pm 58 ^a	183 \pm 15 ^a	325 \pm 28 ^a
DMM	6	104 \pm 16 ^a	546 \pm 42 ^a	191 \pm 14 ^a	351 \pm 23 ^{a,b}
Combo	6	135 \pm 31 ^a	725 \pm 105^b	195 \pm 20 ^a	379 \pm 45^b
MIA	5	147 \pm 11 ^a	1065 \pm 153^c	354 \pm 12^b	722 \pm 44^c

Notes: Between-group comparison was conducted using a non-parametric Kruskal-Wallis one-way analysis of variance with post-hoc analysis, when required, using the unpaired exact Wilcoxon test following. Tukey adjustment was used to obtain adjusted P -values for multiple comparisons. Different letters indicate statistically significant difference highlighted by bold font.

5. Discussion

In the search for an animal model of osteoarthritic pain that would allow the best therapeutic evaluation and translation to the human specie, this study allowed some interesting comparisons between the MIA model and different surgical models, particularly the Combo model. Because the duration of evaluation of the chemical (MIA) and surgical models was different (up to D21 for MIA; up to D42 for surgical models), as well as the time-points distribution, the comparison between the MIA and Combo models calls for prudence. Nevertheless, the main results are that:

1. Both MIA and Combo models induced functional alterations in %BW and PWT, these changes lasting for a longer period of time in the Combo group.

Both MIA and Combo models induced an increased release of pro-nociceptive (CGRP) and anti-nociceptive (SST) neuropeptides.

5.1 Functional evaluations

This pilot study highlighted a limited interest in the CCLT and DMM models, as their functional alterations were of short duration, and the change in neuropeptides non significant, compared to Sham. Interestingly, the functional changes induced by the CCLT and DMM models, were not so different from the Sham group. This suggests that their functional alterations were most likely the result of joint inflammation associated with the arthrotomy, and not the consequence of significant biomechanical instability. It could be argued that the CCLT and DMM models could have shown alterations resulting from biomechanical instability if the rats had been more mobile and active, which was not part of the current study design (*Appleton et al., 2007*). Hence, they could remain interesting models in specific study settings. However, the changes induced by both the MIA intra-articular injection and Combo surgery led to biomechanical (SWB), sensory (PTW) and nociceptive neuropeptides changes in the same research context.

The significant weight shift to the left hind paw on SWB in the MIA group could be interpreted as an early occurring but non-persistent biomechanical change since the %BW values for the MIA group were not different from baseline after D7. This phenomenon was not observed in the surgical groups and could constitute a major difference between the MIA and surgical models. This contralateral weight shift could be indicative of major discomfort in the

(affected) right hind limb with the rat seeking to relieve itself from this acute insult, whereas the more progressive damage in the Combo model does not produce such intense and early pain. The increase in the left hind PWT contemporary to the decrease of the RHP values could be explained by two hypotheses. First, the significant weight shift to the left hind paw at D3 and D7 in MIA could be responsible for the elevation of the PWT of the left paw of an animal being “less responsive”: the animal being very reluctant to bear weight on the painful limb during the inflammatory phase of the MIA model (*Fernihough et al., 2004; Guingamp et al., 1997*) artificially increases the PWT on the contralateral limb. With regards to the early occurrence of such SWB and PWT shift in the MIA model, it could also reflect early peripheral sensitization, leading subsequently or concomitantly to central sensitization. Second, diffuse descending pain inhibition mechanisms (*Beaulieu, 2005; Felson, 2005; Le Bars, Dickenson & Besson, 1979*) could be activated very efficiently by the initial strong inflammation present in the MIA-treated stifle and be less intense as time passes and inflammation subsides. It is uncertain at this point if the biomechanical, neurological and/or inflammatory component are responsible for those results. Nonetheless, it constitutes a significant difference between the MIA and the surgical models.

The changes persisted until the last RHP PWT evaluation time-point in the Combo group and only until D14 for the MIA group. This could be an indication for the capacity of the Combo model to induce a more persistent tactile allodynia compared to the other models in this study. The group effect in the RHP PWT showed that the Combo model sensitization was more severe than in the DMM model, because it induced more tactile allodynia. It would be expected that the Combo model would also be more severe than the CCLT model although the difference was not statistically significant in this study, likely because of a low statistical power (Type-II statistical error). The same explanation applies for the absence of statistical difference between surgical groups for RHL SWB.

5.2 Biomarkers

As neuromodulators, SP and CGRP are important players in peripheral and centralized sensitization in inflammatory arthritis and OA (*Otis et al., 2016; Schaible et al., 2009*). Both SP and CGRP were higher in the Combo model than in the other surgical models, but only CGRP reached statistical significance. CGRP is accepted as an important mediator in

subchondral (*Aso et al., 2016*) and central (*Otis et al., 2016*) OA pain signalling using the MIA rat model. This suggests that there was induction of neuronal plasticity at the central level for the Combo model too.

The significantly lower SST in the Sham and CCLT groups compared to the Combo group is interesting as it could indicate a greater potential of the Combo model to induce allodynia. SST has not been evaluated specifically in osteoarthritic conditions. It was mostly studied for inflammatory conditions like rheumatoid arthritis and asthma (*Pintér, Helyes & Szolcsányi, 2006*). With the hypothesis that the inflammatory component of the disease is likely to be a major contributor to the pathological pain, it would be expected that if a model causes more inflammation, it could induce more allodynia. Additionally, such SST spinal release could be associated with an increased descending nociceptive inhibition (*Bär et al., 2004; Pintér, Helyes & Szolcsányi, 2006*). This phenomenon of increased inflammation and concomitant inhibitory pain modulation could be monitored by the quantification of SST in a research setting. Finally, BK has been studied in multiple species and reported to be involved in OA pain (*Meini & Maggi, 2008*). However it was not possible to detect significant change in the current study.

The significantly higher values of CGRP, SST and BK in the MIA model could indicate that it causes more pain and has a greater potential for allodynia induction. But, the comparison with the Combo group is limited since the time frame for both groups was different as was the time of spinal cord collection. Both the MIA and the surgical models are expected to require time to develop significant articular lesions and neuronal plasticity (*Orita et al., 2011*). Previous studies in surgical models showed that at least six weeks might be required (*Hayami et al., 2006*). The maximal potential for pathological pain induction of the Combo model might not have been reached at D42 (*Ferland et al., 2011*).

Following this pilot study, it was calculated that, to reach a statistical power of 80% with an alpha-value of 0.05, 12 rats per group would be required to document an 8% difference in the SWB and 10 g in the PWT. Those numbers reflect the difference documented between the Sham and Combo group. The significant weight shift to the left hind paw on SWB in the MIA group could be interpreted as an early occurring but non-persistent biomechanical change since the SWB values for the MIA group were not different from baseline after D7. This

6. Conclusion

In conclusion, the surgical induction of OA was accompanied by quantifiable neurophysiological changes associated with pain, as shown by functional analysis, spinal neuropeptides and comparison with the current gold standard of OA pain in rats, the MIA model. The research hypothesis was confirmed and objectives reached. The Combo model can induce changes compatible with chronic pain and comparison with the MIA model indicates more persistent changes potentially useful for the evaluation of therapeutic modalities. Indeed, the limited (in time) alterations in the 2 mg MIA model reduce drastically the accessible window for assessing any therapeutic efficacy. Moreover, the changes observed in the Combo surgical model seem more progressive and consequently present higher degree of face validity with natural post-traumatic OA. Prospective studies with a larger number of animals, a longer duration, multiple time points evaluation of the histologic, functional, epigenomic and neuroproteomic changes would help to obtain a better characterization of the Combo model. Validation with therapeutic intervention should also be performed.

7. Acknowledgements

The authors would like to thank ArthroLab Inc. personnel, and especially Dr. Jean-Pierre Pelletier and Dr. Johanne Martel-Pelletier for their contributions to this work.

8. Funding

This study was funded (Pr. Eric Troncy) in part by a Pfizer Neuropathic Pain research award (#WS386180) from Pfizer Canada, Inc., by a Discovery grant (#327158–2008, #441651–2013, #386637-2010 (Dr. Francis Beaudry) supporting salaries) and Collaborative Research and Development grants (#RDCPJ 418399–2011, #RDCPJ 491953-2016 supporting operations and salaries in partnership with ArthroLab Inc.) from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, as well as by an ongoing New Opportunities Fund grant (#9483) and a Leader Opportunity Fund grant (#24601), supporting pain/function equipment, from the Canada Foundation for Innovation.

9. References

- Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, Schwartz N, Bernier SM, Henry JL, Holdsworth DW, Beier F. 2007.** Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy* **9**:R13 DOI R13. 10.1186/ar2120.
- Aso K, Izumi M, Sugimura N, Okanoue Y, Ushida T, Ikeuchi M. 2016.** Nociceptive phenotype alterations of dorsal root ganglia neurons innervating the subchondral bone in osteoarthritic rat knee joints. *Osteoarthritis Cartilage* **24**:1596-603 DOI 10.1016/j.joca.2016.04.009.
- Bär KJ, Schurigt U, Scholze A, Segond Von Banchet G, Stopfel N, Brauer R, Halbhuber KJ, Schaible HG. 2004.** The expression and localization of somatostatin receptors in dorsal root ganglion neurons of normal and monoarthritic rats. *Neuroscience* **127**:197-206 DOI 10.1016/j.neuroscience.2004.04.051.
- Barve RA, Minnerly JC, Weiss DJ, Meyer DM, Aguiar DJ, Sullivan PM, Weinrich SL, Head RD. 2007.** Transcriptional profiling and pathway analysis of monosodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats: relevance to human disease. *Osteoarthritis Cartilage* **15**:1190-1198 DOI 10.1016/j.joca.2007.03.014.
- Beaulieu P. 2005.** *Pharmacologie de la douleur*. Montréal: Presses de l'Université de Montréal.
- Bendele AM. 2001.** Animal models of osteoarthritis. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*. **1**:363-376.
- Curran-Everett D, Benos DJ. 2004.** Guidelines for reporting statistics in journals published by the American Physiological Society. *American Journal of Physiology* **287**:L259-261.
- Das R, Plaas A, Sandy J, Tortorella M, Malfait AM. 2010.** Destabilization of the medial meniscus as a model for the study of pain pathways associated with development of murine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* **18**:S24.

- Felson DT. 2005.** The sources of pain in knee osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology* **17**:624-628.
- Ferland CE, Laverty S, Beaudry F, Vachon P. 2011.** Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **97**:603-610 DOI 10.1016/j.pbb.2010.11.003.
- Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, Fox A, Rediske J, Pellas T, Kidd B, Bevan S, Winter J. 2004.** Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain* **112**:83-93 DOI 10.1016/j.pain.2004.08.004.
- Glasson SS, Blanchet TJ, Morris EA. 2007.** The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse. *Osteoarthritis and Cartilage* **15**:1061-1069 DOI 10.1016/j.joca.2007.03.006.
- Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. 1997.** Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis & Rheumatism* **40**:1670-1679 DOI 10.1002/1529-0131(199709)40:9<1670::AID-ART17>3.0.CO;2-W.
- Guzman RE, Evans MG, Bove S, Morenko B, Kilgore K. 2003.** Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis. *Toxicologic Pathology* **31**:619-624.
- Hawker GA. 2012.** The challenge of pain for patients with OA. *HSS Journal: The musculoskeletal journal of Hospital for Special Surgery* **8**:42-44 DOI 10.1007/s11420-011-9254-8.
- Hayami T, Pickarski M, Zhuo Y, Wesolowski GA, Rodan GA, Duong le T. 2006.** Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone* **38**:234-243 DOI 10.1016/j.bone.2005.08.007.

- Im HJ, Kim JS, Li X, Kotwal N, Sumner DR, van Wijnen AJ, Davis FJ, Yan D, Levine B, Henry JL, Desevre J, Kroin JS. 2010.** Alteration of sensory neurons and spinal response to an experimental osteoarthritis pain model. *Arthritis & Rheumatology* **62**:2995-3005 DOI 10.1002/art.27608.
- Inglis JJ, McNamee KE, Chia SL, Essex D, Feldmann M, Williams RO, Hunt SP, Vincent T. 2008.** Regulation of pain sensitivity in experimental osteoarthritis by the endogenous peripheral opioid system. *Arthritis & Rheumatology* **58**:3110-3119 DOI 10.1002/art.23870.
- Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, Tanaka H, Goda M, Fukunari A, Komatsu H. 2003.** Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *Journal of Veterinary Medical Science* **65**:1195-1199.
- Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. 1979.** Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain* **6**:283-304.
- Little CB, Smith MM. 2008.** Animal models of osteoarthritis. *Current Rheumatology Reviews* **4**:1-8.
- Little CB, Zaki S. 2012.** What constitutes an "animal model of osteoarthritis" - the need for consensus? *Osteoarthritis Cartilage* **20**:261-267 DOI 10.1016/j.joca.2012.01.017.
- Meini S, Maggi CA. 2008.** Knee osteoarthritis: a role for bradykinin? *Inflammation Research* **57**:351-361 DOI 10.1007/s00011-007-7204-1.
- Orita S, Ishikawa T, Miyagi M, Ochiai N, Inoue G, Eguchi Y, Kamoda H, Arai G, Toyone T, Aoki Y, Kubo T, Takahashi K, Ohtori S. 2011.** Pain-related sensory innervation in monoiodoacetate-induced osteoarthritis in rat knees that gradually develops neuronal injury in addition to inflammatory pain. *BMC Musculoskeletal Disorders* **12**:134 DOI 10.1186/1471-2474-12-134.
- Otis C, Gervais J, Guillot M, Gervais JA, Gauvin D, Pethel C, Authier S, Dansereau MA, Sarret P, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Beaudry F, Troncy E. 2016.** Concurrent validity of different functional and neuroproteomic pain assessment methods in the rat

osteoarthritis monosodium iodoacetate (MIA) model. *Arthritis Research & Therapy* **18**:150 DOI 10.1186/s13075-016-1047-5.

Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB. 2001. Osteoarthritis, an inflammatory disease. *Arthritis & Rheumatology* **44**:1237-1247.

Pintér E, Helyes Z, Szolcsányi J. 2006. Inhibitory effect of somatostatin on inflammation and nociception. *Pharmacology & Therapeutics* **112**:440-456.

Pomonis JD, Boulet JM, Gottshall SL, Phillips S, Sellers R, Bunton T, Walker K. 2005. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain* **114**:339-346 DOI 10.1016/j.pain.2004.11.008.

Schaible HG, Richter F, Ebersberger A, Boettger MK, Vanegas H, Natura G, Vazquez E, Segond von Banchet G. 2009. Joint pain. *Experimental Brain Research* **196**:153-162 DOI 0.1007/s00221-009-1782-9.

Vermeirsch H, Biermans R, Salmon PL, Meert TF. 2007. Evaluation of pain behavior and bone destruction in two arthritic models in guinea pig and rat. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* **87**:349-359 DOI 10.1016/j.pbb.2007.05.010.

Williams J, Felten D, Peterson R, O'Connor B. 1982. Effects of surgically induced instability on rat knee articular cartilage. *Journal of Anatomy* **134**:103-109.

Zhang RX, Ren K, Dubner R. 2013. Osteoarthritis pain mechanisms: basic studies in animal models. *Osteoarthritis Cartilage* **21**:1308-1315 DOI 10.1016/j.joca.2013.06.013.

Section 4 : Discussion

1. Modèles précliniques, recherche translationnelle et justification du choix du modèle

L'arthrose, chez les humains et d'autres espèces, n'est pas une seule maladie, mais plutôt un syndrome regroupant des signes cliniques caractéristiques (douleur, invalidité) et des changements pathologiques typiques dans les tissus articulaires (cartilage, os sous-chondral, membrane synoviale et capsule articulaire). Ceci nous permettrait de proposer l'hypothèse que l'approche thérapeutique, la modification de la maladie et la gestion des symptômes pourrait être spécifique à certains « sous-types » de cette pathologie, et tenterait de justifier le taux élevé d'échec de la recherche, tant translationnelle que clinique, lorsque la maladie est perçue comme une seule entité.

Alternativement, l'hypothèse suivante pourrait être formulée : avant l'apparition des dommages irréversibles, il existerait, au cours de la maladie, une similitude en ce qui a trait à la pathologie structurelle commune et aux voies de la douleur, et ce, indépendamment du sous-type de maladie. Ceci suggère alors qu'un nombre limité de thérapies seraient largement applicables à la modification de la maladie structurelle et clinique chez la plupart des patients souffrant d'arthrose.

Les deux paradigmes décrits précédemment ont des implications en ce qui concerne les modèles animaux appropriés. Si l'on considère la maladie comme l'agglomération de différentes conditions, cela justifie l'utilisation de divers modèles animaux représentant des sous-types différents d'arthrose, l'interprétation prudente et contextuelle des données collectées et la nécessité d'effectuer une translation vers des sous-populations spécifiques de patients arthrosiques humains. À l'opposé, l'hypothèse des voies similaires suggère qu'il est approprié de s'efforcer de développer un nombre réduit ou même un seul modèle animal idéal qui, en plus, facilite la comparaison entre les études et la production de méta-analyses. Fait intéressant, les deux arguments sont utilisés dans la communauté scientifique afin de justifier l'utilisation de modèles animaux et le manque d'efficacité ou de translation depuis les modèles animaux vers les patients humains.⁶⁸

Après cette revue de la littérature, il semble que les modèles animaux les plus couramment utilisés pour étudier la douleur arthrosique sont distincts de ceux employés pour étudier la physiopathologie et les dommages structuraux articulaires déclencheurs ou les facteurs de risque.⁶⁸ Bien qu'il ne s'agisse pas d'un modèle parfait, le modèle Combo a le potentiel de représenter la douleur et la composante structurelle, une fois qu'il sera mieux caractérisé et validé.

Dans les rapports de recherche sur la douleur arthrosique, il y a une surreprésentation des études utilisant l'injection intra-articulaire de MIA, bien que l'événement initiateur et un grand nombre des changements pathologiques ne soient pas typiques des modifications occasionnées lors d'arthrose humaine.¹⁸⁶

La question est de savoir si cette séparation de modèles animaux pour étudier les changements structurels et la douleur est justifiée. La réponse dépend probablement de savoir si les mécanismes et surtout le contrôle pharmacologique de la douleur sont similaires dans tous les modèles d'arthrose chronique, ou si un pattern temporel distinct de dommages structurels de l'arthrose précoce et progressive produit des mécanismes de douleur particuliers.⁶⁸ Malgré le désir de produire un modèle supérieur, le modèle MIA demeure pertinent, particulièrement pour des études à court terme et impliquant la douleur pathologique.⁹

Bien qu'il semble que toutes les molécules impliquées chez l'humain dans la signalisation et les phénomènes physiologiques liés à la douleur (modulation de la douleur induite par le stress ou le toucher) aient une contrepartie chez les rongeurs, cela ne semble pas suffisant pour assurer la translation entre espèces.¹⁵⁰

Avec l'hypothèse que l'induction chirurgicale d'arthrose serait accompagnée de changements neurophysiologiques quantifiables compatibles avec la présence d'une douleur non physiologique, la comparaison avec le modèle MIA, considéré comme la référence en termes de douleur arthrosique, a été effectuée. Aussi, compte tenu du nombre limité de références portant sur l'évaluation de la douleur chez des modèles chirurgicaux chez le rat, la comparaison avec le modèle CCLT, documenté comme produisant de l'allodynie mécanique²²⁵ et des changements dans l'expression de SP et CGRP,²²⁴ permettait de mieux caractériser les changements chez les rats du modèle Combo. Puisque la méniscotomie

médiale partielle (DMM) employée seule était documentée chez la souris, la comparaison avec les autres modèles avait le potentiel d'apporter de l'information importante sur l'application chez le rat, un objectif secondaire du projet, et sur les différences avec les autres méthodes d'induction. Afin de documenter l'effet d'une intervention chirurgicale sur l'articulation, de limiter la possibilité de biais par les évaluateurs et de mieux caractériser la progression des symptômes douloureux, un groupe contrôle (Sham) a été constitué.

Même si notre puissance d'analyse est limitée, en raison de la petite taille d'échantillon, les résultats obtenus indiquent une absence d'intérêt des modèles CCLT et DMM puisqu'ils ne sont pas différents du group Sham sur les différentes variables testées.

Par contre le groupe Combo démontre clairement l'installation d'un processus nociceptif pathologique supportant une sensibilisation centralisée de la douleur. Le résultat d'une atteinte progressive et persistante dans le Combo à la différence de l'atteinte aiguë à jour 7 et temporaire (jusqu'à jour 14) du modèle MIA confirme notre hypothèse de recherche. Il témoigne aussi de l'intérêt de poursuivre les investigations sur ce modèle Combo, en particulier sur la réponse observée avec différents traitements analgésiques.

2. Justification des méthodes d'évaluation

Les caractéristiques cliniques clés de l'arthrose sont la douleur et l'invalidité. Le paradigme dominant est que l'arthrose devient un syndrome clinique quand il y a des lésions articulaires suffisantes pour causer de la douleur et une altération de la fonction. Cependant, la relation entre les changements pathologiques dans les différents tissus articulaires et la progression de la douleur arthrosique, au moins au niveau du genou, n'est pas entièrement élucidée.^{108; 109; 273;}

²⁷⁴ Les données contradictoires sur la source et la régulation de la douleur arthrosique peuvent être dues à une sensibilisation périphérique et centralisée variable, l'adaptation ou la tolérance et des changements dans les mécanismes moléculaires qui contribuent à la douleur à différents stades de la maladie. Les interactions temporelles, et entre tissus, sont complexes et l'étude des causes et régulations locales et systémiques de la douleur repose exclusivement sur les études *in vivo*.

2.1. Évaluations comportementales

Les évaluations comportementales permettent d'évaluer différents aspects de la douleur, incluant les dimensions psychologiques et émotionnelles. Les réponses aux différents tests sont classées comme spontanées, réflexes et opérantes. Un test représentant chacune des catégories a été choisi afin de rendre l'évaluation la plus complète possible.^{243; 275}

2.1.1. Static Weight Bearing (SWB)

L'*Incapacitance meter*TM a été utilisé afin d'évaluer les changements dans la distribution du poids sur les membres pelviens comme indice de douleur spontanée. Cette méthode a été validée avec une intervention pharmacologique chez des rats du modèle MIA et du modèle de méniscectomie partielle.^{13; 181} Les avantages incluent des mesures reproductibles et quantifiables et le suivi longitudinal de la progression de la maladie, les qualités métrologiques étant améliorées par une période d'acclimatation pour l'observateur et l'animal.¹⁵⁸ Il s'agit cependant d'une mesure uniquement statique⁶⁶ et possiblement un meilleur marqueur de dysfonction biomécanique que de douleur en tant que telle vu l'impossibilité du SWB de différencier les rats ayant reçu de la lidocaïne intra-articulaire de ceux n'en ayant pas reçu lors de la validation avec les neuropeptides SP et CGRP.¹⁵⁸

Une différence importante entre les modèles chirurgicaux et le modèle MIA, est l'absence de transfert de poids vers le membre controlatéral au cours des 7 premiers jours. Ceci représente un changement précoce, mais ne persistant pas dans le temps puisque les valeurs de SWB n'étaient pas différentes des valeurs de base après le jour 7 pour les rats du modèle MIA.

Il peut aussi être estimé que toutes les procédures chirurgicales engendreront de la douleur au cours des 7 premiers jours, comme démontré par la tendance des valeurs de SWB à augmenter par la suite, un paramètre précédemment documenté.²⁷⁶ Aussi, le modèle DMM ne présentant pas de changement significatif au cours du temps est probablement lié à un manque de puissance statistique et aux différences temporelles du modèle plutôt qu'à l'absence de douleur. Bien que des essais spécifiques sur l'évaluation de la douleur chez ce modèle soient absents, si on compare aux données recueillies lors de son évaluation en tant que modèle d'arthrose chez la souris^{177; 277} il est possible d'avancer l'hypothèse que comme les lésions

tendent à être moins agressives que, par exemple, le modèle Combo, la création de douleur significative, si elle suit le même pattern temporel que les lésions histologiques, prend plus de temps que ce qui est alloué au cours de cette étude (possiblement 8 semaines).¹⁷⁷ De plus, l'intensité moindre de l'atteinte observée sur SWB indique une puissance d'analyse moindre et donc la nécessité d'opérer avec de plus grandes tailles d'échantillon pour les modèles DMM et CCLT afin de démontrer l'atteinte.

2.1.2. Paw Withdrawal Threshold (PWT)

Une évaluation réflexe de la douleur a été permise par l'emploi du *Electronic von Frey Anesthesiometer*TM, prenant en compte l'allodynie tactile secondaire. Les avantages de cette méthode incluent des données reproductibles et quantifiables et la possibilité de mesurer l'hyperalgésie secondaire. Dans une étude récente avec le modèle MIA, le PWT n'était pas influencé par le niveau d'expérience de l'observateur. La validation par l'augmentation des neuropeptides SP et CGRP au niveau de la moelle épinière, la diminution des mêmes peptides lors d'administration intra-articulaire de lidocaïne a aussi été effectuée. Lorsque comparé avec le SWB, le PWT était plus sensible pour la détection du soulagement de la douleur.¹⁵⁸ Les inconvénients portent surtout sur l'interprétation de la réponse qui peut être confondue avec le déplacement du rat surpris par l'intervention.⁶⁶ Le même test objectif peut aussi être utilisé pour évaluer l'allodynie primaire ponctuelle ou elle peut aussi être testée de manière dynamique par brosse de la surface plantaire avec un coton-tige.^{8; 275; 278} Une technique subjective (*knee-bend test*) a aussi été rapportée bien que ses qualités métrologiques n'aient pas été publiées. Elle implique la flexion de l'articulation atteinte jusqu'à la production de vocalisations par l'animal, indication de douleur évoquée par le mouvement.²⁵⁴

Les changements précoces plus agressifs chez les rats du modèle MIA (augmentation du PWT pour la patte gauche accompagnée d'une diminution pour la patte droite au cours des 7 premiers jours) concordent aussi avec les observations mentionnées précédemment pour le SWB, démontrant une différence importante avec les modèles chirurgicaux. Ils suggèrent tel qu'indiqué dans la Discussion de l'article la possibilité d'une atteinte plus aiguë, de nature inflammatoire, entraînant un inconfort accru et temporaire dans le modèle MIA. Connaissant la tendance de modèle MIA à produire une inflammation sévère associée à une douleur

importante au cours des 3 premiers jours qui se résout généralement avant le jour 7, la douleur sévère engendrée initialement pourrait artificiellement augmenter le PWT du membre controlatéral puisqu'il semble trop tôt pour expliquer ces changements par une sensibilisation centralisée.^{10; 187} Aussi, la présence d'inflammation sévère a le potentiel d'activer les CIDN, mais leur effet pourrait devenir moins important lorsque l'inflammation diminue.²⁷⁹⁻²⁸¹ Puisque l'objectif comprend la création d'un modèle de douleur chronique, la persistance des changements pour le groupe Combo jusqu'au dernier jour de l'étude pourrait être un avantage sur le modèle MIA chez qui les PWT n'étaient pas différents des valeurs de base après le jour 14.

Les changements pour le groupe Sham n'étaient pas significatifs dans le temps, menant à l'hypothèse qu'une simple arthrotomie, sans altération aux structures intra-articulaires n'est pas suffisante pour produire de l'allodynie mécanique secondaire. Aussi, le modèle DMM se montre encore une fois moins « agressif » ou demandant une plus longue période avant de créer des symptômes similaires aux autres modèles. Lorsque comparé au modèle Combo, ce dernier présentait des valeurs de PWT significativement plus basses.

Les rats du modèle CCLT ont vu leur PWT diminuer jusqu'au jour 14 comparativement aux valeurs pré-induction. Cependant, ces valeurs n'étaient pas significativement différentes des rats Sham, indiquant que ce modèle ne produit possiblement pas l'allodynie mécanique secondaire anticipé avec le design d'étude utilisé. Lorsque comparé avec le modèle MIA et Combo, les rats du modèle CCLT présentaient des valeurs compatibles avec moins d'induction d'allodynie. Le développement d'allodynie a été détecté chez des rats du modèle CCLT avec l'utilisation des filaments de von Frey lors d'une étude portant sur l'administration de glucosamine sur les changements histologiques et les comportements douloureux.²¹⁸ Il demeure possible que l'absence de différence statistiquement significative pour notre étude ait été causé par un manque de puissance statistique. Cependant, l'absence ou les très faibles différences au cours des analyses fonctionnelles et des neuropeptides spinaux, particulièrement en comparaison avec le modèle Combo, nous force à conclure que l'intérêt du modèle CCLT est probablement limité.

2.1.3. Place escape / avoidance paradigm (PEAP)

Le PEAP est un test présentant une réponse opérante basée sur le désir d'éviter la douleur comme une réponse émotionnelle consécutive à une blessure ou une stimulation intense des tissus.²⁶¹ Il est suggéré que les mécanismes neuronaux impliqués dans la composante affective et motivationnelle de la douleur sont différents de ceux directement induits par le stimulus nociceptif et que l'intervention pharmacologique sélective avec des médicaments modificateurs de l'humeur et différents analgésiques peut atténuer la douleur chez des modèles de douleur chronique.²⁶² Ce test s'est montré reproductible avec différents modèles de douleur chronique inflammatoire et neuropathique chez le rat.^{158; 211; 261-263} Dans une étude avec le modèle MIA, le PEAP était le seul test capable de différencier les rats du groupe MIA ayant reçu une injection intra-articulaire de lidocaïne des rats Sham et des rats MIA n'ayant pas reçu d'analgésiques bien que le PWT et SWB ait aussi été testés.¹⁵⁸

Les résultats du PEAP pour les différents modèles utilisés au cours de l'étude n'ont pas montré de différences significatives lors d'emploi de modèles mixtes. Ces observations sont probablement dues à un manque de puissance statistique puisqu'il a été précédemment démontré que les modèles permettant de créer de la douleur chronique montraient aussi des changements opérants, bien que l'absence de réponse du paramètre mesuré ne puisse être totalement exclue.^{158; 262}

Malgré les limitations dues à la petite taille de l'échantillon, il est possible de conclure que le modèle Combo est le plus « sévère » des modèles chirurgicaux, illustré par une diminution plus soutenue dans le temps pour le SWB et le PWT ainsi qu'une différence significative entre le DMM et le Combo pour le PWT. Malgré le fait que le modèle Combo ait été le seul à montrer une altération aux jours 14 et 28, les valeurs se retrouvaient au niveau de base au jour 42. Puisque les autres groupes chirurgicaux n'ont montré aucun changement, il est possible d'avancer que l'évaluation opérante de la douleur chez le modèle Combo ne devrait pas être mise de côté et que le modèle Combo possède l'habileté de provoquer plus de douleur que les modèles DMM et CCLT.

2.2. Évaluations des neuropeptides spinaux

2.2.1. Tachykinines SP et CGRP

La SP et le CGRP étaient tous deux augmentés chez les rats du modèle Combo comparativement aux autres modèles chirurgicaux, mais seulement le changement affectant le CGRP s'est montré significatif. Les résultats du CGRP pour le modèle MIA étaient aussi significativement plus élevés que pour le groupe Combo, ce qui n'est pas surprenant puisque le modèle MIA est considéré comme le standard et potentiellement aussi le plus douloureux. La temporalité de l'évaluation s'est montrée d'importance dans une étude précédente et ceci pourrait expliquer l'absence de résultats significatifs pour la SP ainsi que les différences observés entre le groupe Combo et le groupe MIA.^{9; 282}

Le CGRP a été étudié comme un marqueur de nociception et d'inflammation. Il amplifie les effets des neuromédiateurs excitateurs du système nerveux central comme le glutamate, ce qui affecte l'équilibre entre les systèmes endogènes anti- et pro-nociceptifs. Le CGRP est impliqué avec la SP dans la sensibilisation périphérique et centralisée – donc la mise en place de douleur pathologique.¹¹⁸ Sa présence en quantité significativement plus élevée pour le groupe Combo pourrait indiquer qu'il y a effectivement une neuroplasticité qui s'installe.¹¹⁹ Elle a d'ailleurs été définie comme importante pour l'apparition du phénomène de sensibilisation centralisée lors de douleur arthrosique. Bien que le modèle Combo tel que décrit ici n'ait pas été testé auparavant, ces données concordent avec des tendances décrites précédemment.⁹

2.2.2. Bradykinine (BK)

Il n'a pas été possible de déterminer lequel des groupes chirurgicaux a montré une différence significative dans les concentrations de BK et cela est vraisemblablement dû à un manque de puissance statistique puisque des évidences pointent vers un rôle substantiel de la BK dans la douleur arthrosique du genou. La BK est une substance très algogène.¹³³ Dans une étude portant sur l'administration intra-articulaire d'un antagoniste spécifique de la BK, un effet analgésique durable chez les patients humains affectés par l'arthrose du genou a été noté. BK est un vasodilatateur et promoteur inflammatoire qui est généré par la synovie de l'articulation arthrosique. Elle contribue à l'initiation et au maintien de l'inflammation, à la sensibilisation

des fibres nerveuses sensorielles excitantes, produisant ainsi la douleur.¹²² Sans surprise, le modèle MIA a montré des valeurs plus hautes que le modèle Combo, vraisemblablement par une atteinte plus aiguë et agressive. De plus, la variation temporelle dans les analyses entre les modèles chirurgicaux et le modèle MIA pourrait potentiellement expliquer ces résultats.

2.2.3. Somatostatine (SST)

Dans l'hypothèse que l'inflammation est un contributeur majeur à la douleur pathologique, il est attendu qu'un modèle qui cause plus d'inflammation périphérique cause aussi plus de sensibilisation centralisée. Donc, plus d'inflammation mènerait à plus de SST. Le groupe CCLT a montré les niveaux les plus bas de SST, bien qu'il n'y ait pas d'explication physiopathologique logique pour justifier cette différence comparativement au groupe DMM ou Sham et l'absence de différence avec le groupe Combo. Ceci est vraisemblablement lié à une erreur statistique de type 2. Cependant, ceci pourrait aussi être interprété comme un plus grand potentiel du modèle Combo de causer de l'allodynie lorsque comparé au modèle CCLT.

En comparant le groupe MIA au groupe Combo, les résultats se sont révélés identiques à ceux attendus, soient une SST plus élevée chez le groupe MIA. Cependant, l'information disponible sur la SST pour des modèles de douleur arthrosique spécifiquement reste limitée et ces résultats s'inscrivent possiblement davantage dans un contexte de caractérisation d'un marqueur plutôt que de confirmation d'un concept.

2.2.4. Transthyréline (TTR)

La TTR n'est pas un marqueur spécifiquement décrit dans la littérature comme étant impliqué dans la douleur arthrosique. On connaît son rôle chez l'humain dans certaines polyneuropathies familiales et acquises,²⁸³⁻²⁸⁵ et elle est documentée comme diminuée chez les humains atteints d'arthrite rhumatoïde.²⁸⁶ La régulation à la baisse de valeurs de TTR dans le liquide céphalorachidien comparativement aux valeurs de base s'est avérée prédictive de la réponse à l'administration d'analgésiques chez un modèle de douleur viscérale chez des vaches.²⁸⁷ Pour toutes les mesures de douleur évaluées lors de cette étude, la concentration de TTR dans le liquide céphalorachidien s'est avérée être la plus sensible et spécifique. Dans un modèle d'arthrose canine, l'administration de tiludronate, une molécule avec des propriétés

anti-inflammatoires, permettait une augmentation de la TTR au niveau spinal comparativement aux chiens qui recevait le placebo.²⁸⁸

Une étude précédente du GREPAQ chez des rats du modèle MIA a montré des niveaux de TTR plus bas chez les animaux douloureux comparativement aux animaux naïfs (données en attente de publication).

À la vue des évidences disponibles, il est possible que l'inflammation présente lors d'arthrose puisse diminuer l'expression de la TTR au niveau du système nerveux central et il serait attendu que le modèle Combo produise la TTR la plus basse, ce qui est reflété par une TTR moyenne inférieure chez les animaux de ce groupe. Par contre, on se serait attendu à ce que les rats MIA montrent la TTR la plus basse comparativement au modèle Combo, ce qui n'a pas été le cas. Cette molécule est présentement en cours d'évaluation par le GREPAQ comme un potentiel marqueur de douleur arthrosique. Certaines questions sont cependant émises quant à la méthode de mesure et la temporalité de l'expression de la TTR.

3. Biais de la recherche

Différents aspects doivent être considérés lorsque l'évaluation de l'efficacité d'un traitement est effectuée et ceci ne vient pas sans la possibilité de biais. Afin d'illustrer ce sujet, les auteurs d'une méta-analyse sur l'utilisation de la glucosamine pour le soulagement de la douleur liée à l'arthrose chez l'Homme se sont penchés sur les raisons pouvant justifier des résultats différents lorsque plusieurs études sur le même traitement sont comparées. Entre autres, l'hétérogénéité entre les résultats des essais cliniques était plus grande que prévu par le seul hasard. En essayant d'expliquer cette hétérogénéité, trois observations ont été présentées. Tout d'abord, parmi les projets non financés par l'industrie, il n'y avait pas (ou très peu) d'hétérogénéité, et la taille de l'effet de la glucosamine n'était pas statistiquement différente de zéro. Deuxièmement, parmi les essais avec la participation de l'industrie, la taille de l'effet était plus grande et l'hétérogénéité substantielle. Troisièmement, les explications possibles des effets différents observés lors des essais avec la participation de l'industrie par rapport aux essais sans participation de l'industrie comprennent : l'utilisation de différentes préparations de glucosamine (sulfate contre chlorhydrate, et les différences dans les formulations de sulfate),

les différents processus de randomisation des essais avec des résultats positifs, et l'inhérent biais dû à la participation de l'industrie. Cette étude conclut donc que le plus grand facteur prédictif de l'efficacité du traitement était la participation de l'industrie et qu'il n'existait pas d'évidence scientifique et statistique suffisante pour conclure que la glucosamine avait un effet positif sur la douleur arthrosique.²⁸⁹ Les mêmes commentaires peuvent probablement être appliqués à la recherche sur les modèles animaux.

3.1. Signification statistique versus signification clinique

La contribution aux connaissances scientifiques globales devrait être le but ultime de toute recherche. Par contre, les connaissances ne sont rien si elles ne sont pas partagées. Un seul projet de recherche ne réécrit pas l'histoire médicale.²⁹⁰ L'accent mis sur la puissance statistique lors de la conception de l'étude, la préparation du manuscrit et la révision des articles soumis peuvent aider à prévenir la formation et la distribution de conclusions erronées tirées d'études avec une puissance insuffisante. Cependant, l'accent sur la puissance statistique suffisante peut aussi devenir un obstacle à la publication de résultats négatifs ou peu concluants. Les résultats négatifs et d'autres données objectives obtenues à partir des études «pilotes» ou comportant des échantillons trop petits peuvent servir une fonction importante en tant que base pour les calculs de puissance pour former des études ultérieures plus définitives, et pour aider à prévenir l'utilisation inutile d'animaux d'expérimentation. Si les résultats des études négatives ou portant sur de petits nombres de sujets ne parviennent jamais à la distribution générale, des études pilotes répétées risquent d'être effectuées par des enquêteurs qui sont contraints de limiter la taille des échantillons et d'estimer les résultats probables vu le manque d'information disponible. Comme chaque publication doit aussi viser à améliorer la qualité de la recherche et des publications ultérieures, la déclaration qu'aucune différence statistiquement significative entre les groupes de traitement n'a été trouvée dans une étude ne doit pas devenir automatiquement un motif de rejet par les éditeurs.²⁹¹

Aussi, il est tentant de compter sur la puissance statistique pour déterminer la valeur d'une étude. Demander que chaque échantillon de chaque cohorte atteigne une taille suffisante pour détecter des différences significatives entre les moyennes des échantillons ignore la prise en compte plus importante de savoir si une telle différence serait cliniquement significative même

si trouvée statistiquement significative. Si évalué avec un échantillon de taille suffisante, tout changement sera éventuellement trouvé statistiquement significatif.²⁹² D'autres paramètres, incluant le type de mesures utilisées, méritent une attention particulière. L'emploi de multiples méthodes d'évaluation, peu importe le nombre de sujets, permet une évaluation plus appropriée de la signification clinique.²⁹³

3.2. Étude de puissance statistique

Basé sur les résultats de notre étude pilote, un échantillon de 12 rats par groupe serait nécessaire pour démontrer un changement entre les groupes de 8% dans le SWB et de 10 g dans le PWT, avec un niveau de signification fixé à 5%, une puissance de 80% et des mesures répétées 4 fois pour chaque essai. Ces informations devraient donc être considérées lors de la prochaine étape d'évaluation du modèle Combo, soit sa validation à l'aide d'une intervention thérapeutique.

4. Limites, difficultés et application du modèle Combo

Tous les individus de chacun des groupes ont survécu jusqu'à la fin de la période d'étude et aucun n'a démontré de complications significatives liées aux interventions chirurgicales, aux injections intra-articulaires, à l'anesthésie ou aux méthodes employées pour l'évaluation de la douleur. Il faut cependant garder en tête que les interventions, spécialement les procédures chirurgicales et les injections intra-articulaires, comportent intrinsèquement un risque de complications, incluant l'infection de l'articulation ou de la plaie chirurgicale, la déhiscence du site chirurgical et des modifications anatomiques indésirables comme la luxation de la patella ou un dommage à des structures intra ou extra-articulaires adjacentes.^{28; 294; 295} Ces complications pourraient avoir le potentiel de causer des modifications biomécaniques et de modifier la sévérité de la douleur chez les sujets atteints.

La petite taille des rats pose définitivement un défi particulier pour le chirurgien et il y a une courbe d'apprentissage est nécessaire à la réalisation rapide et précise des interventions. Cependant, une fois la technique maîtrisée et la familiarité avec l'anatomie de l'espèce améliorée, il est estimé que l'application du modèle combo chez des rats est possible et réaliste dans un contexte de recherche à plus grande échelle.

Suite à cette étude pilote, la validation du modèle, particulièrement à l'aide d'une intervention thérapeutique et l'évaluation de sa reproductibilité et fiabilité sont de mise. L'application du modèle à un plus grand nombre de rats, la comparaison de différentes méthodes d'évaluation de la douleur, incluant des évaluations fonctionnelles et des neuropeptides et la comparaison de ces résultats avec les données disponibles pour le modèle de douleur MIA constituent les étapes à venir dans le développement du modèle. L'évaluation histologique des articulations atteintes permettra aussi de mieux caractériser les lésions dans le but de non seulement comparer avec les modèles disponibles mais aussi avec les lésions caractéristiques de la maladie humaine. Par la suite, le modèle sera prêt pour tester des molécules analgésiques, des médicaments ayant comme objectif la modification structurelle de la maladie et l'investigation de biomarqueurs d'arthrose et douleur arthrosique.

Les observations décrites reflètent les limites et les objectifs d'une étude pilote. Un échantillon de petite taille est employé afin d'évaluer concrètement les effets désirables et indésirables d'une intervention, tout en explorant les limites techniques et éthiques susceptibles d'influencer les phases subséquentes de la recherche. Par exemple, la durée de l'effet d'une intervention chirurgicale et sa sévérité, et la fréquence ou durée des observations nécessaires peuvent être évalués. Les points limites peuvent aussi être définis et la morbidité associée aux procédures quantifiée, particulièrement lorsque les effets attendus sont inconnus ou partiellement connus comme lors de l'étude présentée ici. L'étude pilote permet aussi de documenter la taille des échantillons nécessaires à la poursuite des investigations, assurant une puissance statistique adéquate tout en limitant l'utilisation des animaux.

Mise à part les faiblesses et limites inhérentes au design de l'étude pilote et l'absence de validation, le modèle Combo présente les inconvénients de ses avantages. Notamment, il est attendu qu'une période plus longue soit nécessaire pour la création des lésions attendues si on compare avec le modèle MIA. Il faut aussi s'attendre à des lésions moins sévères initialement. Au cours de l'étude décrite ici, l'emploi d'outils métrologiques préalablement validés avec un ou plusieurs modèles de douleur arthrosique permet d'améliorer la confiance dans les résultats obtenus malgré le fait qu'il s'agisse d'une étude pilote. De manière similaire, bien que l'analyse de neuropeptides dans la douleur arthrosique soit un domaine d'investigation récente, plusieurs de ces biomarqueurs ont déjà été validés sur des modèles de douleur

arthrosique. L'emploi de multiples outils de mesures et de méthodes d'évaluations couvrant divers aspects de la douleur (mesures réflexes, opérantes, biomarqueurs, etc.) permet aussi une évaluation de toutes les facettes et une meilleure caractérisation du modèle, comme discuté précédemment.¹⁵⁸ Le design de l'étude était rigoureux, avec l'ajout d'un groupe Sham et la comparaison avec le modèle MIA, un « *gold standard* » dans l'évaluation de la douleur arthrosique. De plus, bien que cela comporte des limitations au niveau statistique, la séparation du groupe MIA et des groupes chirurgicaux au cours de l'étude a permis de préserver les évaluations à l'aveugle des observateurs et de limiter les sources de biais. Puisque le bien-être animal et les principes des 3R sont bien ancrés dans les pratiques du GREPAQ, le design de l'étude pilote s'assure de respecter les bonnes pratiques de recherches dans l'immédiat et dans le futur, tout en permettant la collecte de données significatives et l'étude de puissance statistique.

Suite à cette étude pilote, il devient évident que le modèle Combo pourrait être utilisé comme modèle de douleur, incluant la douleur non physiologique et chronique, en particulier pour l'arthrose post-traumatique. Il présente l'avantage de mener à des changements liés à la douleur qui sont plus progressifs que le modèle MIA et d'inclure des mécanismes physiopathologiques semblables à l'arthrose post-traumatique humaine. Ces caractéristiques peuvent améliorer la valeur translationnelle du modèle et l'investigation de modalités thérapeutiques analgésiques, modificatrices de la maladie et permettre l'évaluation à long terme de ces interventions. D'autres phénotypes arthrosiques, à part l'arthrose post-traumatiques, sont aussi représentés dans des modèles naturels en médecine vétérinaire, comme il existe des modèles non induits d'arthrose post-traumatique. Ces modèles, comme le cochon d'Inde Dunkin Hartley qui développe de l'arthrose dès 3 mois d'âge²⁹⁶, les macaques qui représentent un modèle d'arthrose lié au vieillissement^{297; 298}, les ovins présentant des défauts cartilagineux spontanés²⁹⁹ ou le chien qui développe de l'arthrose suite à la rupture du ligament croisé crânial³⁰⁰, représentent une opportunité d'étudier le cours naturel de la maladie et de tirer des conclusions pertinentes pour l'espèce humaine ou même d'autres espèces animales. Ces animaux qui développent de l'arthrose naturellement ont aussi le potentiel de devenir des modèles de douleur arthrosique. Le désavantage majeur de ces modèles réside dans le temps nécessaire au développement de la maladie et l'absence de standardisation qui

peut, parfois, devenir un problème dans un contexte de recherche.³⁰¹ On doit cependant garder en tête qu'il n'existe pas de modèle parfait, représentant tous les phénotypes, tous les mécanismes physiopathologiques et tous les symptômes de l'arthrose puisqu'il s'agit d'une maladie complexe et hautement variable.³⁰²

Section 5 : Conclusion

L'arthrose est une pathologie d'importance tant chez les patients humains que vétérinaires. Elle occasionne, en plus de la perte de fonction et la douleur chez le patient atteint, des pertes économiques et de productivité significatives, sans compter l'augmentation des frais liés aux soins de santé. La prévalence est encore plus élevée que celles des maladies cardiovasculaires en Amérique du Nord et risque de continuer d'augmenter, considérant la tendance au vieillissement de la population et l'amélioration de l'espérance de vie moyenne.

Il s'agit d'une pathologie complexe et parfois mal définie avec des facteurs de risques de mieux en mieux décrits. La présence de douleur chronique accompagnant l'arthrose demeure un phénomène que partiellement compris. L'hyperalgésie et l'allodynie, manifestations de la neuroplasticité secondaire à la pathologie, prennent vraisemblablement racines dans la composante inflammatoire périphérique de la maladie, mais il est évident qu'une composante centralisée contribue au développement et au maintien de la douleur chronique. Un seul mécanisme ou un seul phénomène ne suffit pas à expliquer l'ensemble des caractéristiques de la douleur arthrosique, ce qui rend l'investigation de cibles thérapeutiques complexe mais offre en même temps de multiples opportunités d'intervention.

Les modèles animaux sont une source essentielle d'information dans l'élucidation des événements physiopathologiques et des manifestations cliniques de l'arthrose. Bien que la création d'un modèle « parfait » soit invraisemblable, la création de modèles reproduisant le plus précisément possible et de manière répétable et mesurable des ensembles de caractéristiques de la maladie humaine possède le potentiel de contribuer à l'avancement des connaissances et des options thérapeutiques.

L'étude pilote rapportée ici comportait deux principaux objectifs. Premièrement, comparer les données fonctionnelles et des neuromarqueurs spinaux entre un modèle chirurgical de douleur arthrosique préalablement documenté chez le rat (CCLT), un modèle chirurgical utilisé pour la première fois chez le rat mais évalué chez la souris (DMM), et un nouveau modèle chirurgical chez le rat (Combo). Deuxièmement, comparer les données recueillies avec celles du modèle MIA à l'aide d'une cohorte historique. Certaines trouvailles intéressantes ont été documentées.

D'abord, l'application des modèles DMM et Combo est possible chez le rat. Ensuite, l'induction chirurgicale d'arthrose était accompagnée de changements neurophysiologiques quantifiables liés à la douleur, ce qui a confirmé l'hypothèse de recherche. Ceci a été démontré au niveau des analyses fonctionnelles et des neuromarqueurs spinaux. Le modèle Combo a montré la possibilité d'induire des changements compatibles avec de la douleur pathologique chronique et la comparaison avec le modèle MIA a montré des modifications qui semblent s'installer plus progressivement, persister plus longtemps, bien qu'étant moins «agressives», ce qui peut être un avantage pour l'étude de modalités thérapeutiques choisies.

Plusieurs étapes restent à franchir dans l'évaluation du modèle Combo, à débiter par l'évaluation histologique des lésions articulaires, point de départ dans la recherche sur des traitements visant une modification structurelle en plus des modifications symptomatiques. Aussi, la validation du modèle à l'aide d'une intervention thérapeutique de même que sa comparaison avec les données préalablement recueillies pour le modèle MIA sont aussi nécessaires.

Finalement, le design des études subséquentes devrait permettre une meilleure puissance statistique, une caractérisation temporelle plus précise et de plus longue durée, ainsi qu'une attention particulière aux nouvelles pistes d'investigation décrites lors du projet pilote.

Bibliographie

1. Canada PHAo. 2010. Life with arthritis in Canada: A personal and public health challenge. p. 128.
2. MacDonald KV, Sanmartin C, Langlois K, et al. 2014. Symptom onset, diagnosis and management of osteoarthritis. In: Canada S editor. Health Reports; pp. 10-17.
3. Deraspe R. 2011. Vieillissement de la population et politiques publiques du Canada- Incidence sur les soins de santé. In: Parlement Bd editor. En bref. Ottawa; p. 14.
4. Salter DM, Buckwalter JA, Sandell LJ. 2011. Chapter 4: Pathology of OA. OARSI Primer.
5. Kosek E, Ordeberg G. 2000. Abnormalities of somatosensory perception in patients with painful osteoarthritis normalize following successful treatment. *European journal of pain* 4:229-238.
6. Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, et al. 2010. Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain* 149:573-581.
7. Farrell M, Gibson S, McMeeken J, et al. 2000. Pain and hyperalgesia in osteoarthritis of the hands. *The Journal of rheumatology* 27:441-447.
8. Combe R, Bramwell S, Field MJ. 2004. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: a model of chronic nociceptive pain in rats? *Neuroscience letters* 370:236-240.
9. Ferland CE, Laverty S, Beaudry F, et al. 2011. Gait analysis and pain response of two rodent models of osteoarthritis. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 97:603-610.
10. Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, et al. 2004. Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain* 112:83-93.
11. Im HJ, Kim JS, Li X, et al. 2010. Alteration of sensory neurons and spinal response to an experimental osteoarthritis pain model. *Arthritis and rheumatism* 62:2995-3005.
12. Kobayashi K, Imaizumi R, Sumichika H, et al. 2003. Sodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis and associated pain model in rats. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science* 65:1195-1191.

13. Pomonis JD, Boulet JM, Gottshall SL, et al. 2005. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain* 114:339-346.
14. Bove SE, Laemont KD, Brooker RM, et al. 2006. Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary hyperalgesia. *Osteoarthritis and Cartilage* 14:1041-1048.
15. Apkarian AV, Baliki MN, Geha PY. 2009. Towards a theory of chronic pain. *Progress in neurobiology* 87:81-97.
16. Woolf CJ. 2011. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 152:2-15.
17. Beaudry F, Ferland CE, Vachon P. 2009. Identification, characterization and quantification of specific neuropeptides in rat spinal cord by liquid chromatography electrospray quadrupole ion trap mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 23:940-950.
18. Guay M, Chapleau C. 2005. Anatomie fonctionnelle de l'appareil locomoteur : os, articulations, muscles. , 2e éd., rev. et corr. ed. Montréal: Presses de l'Université de Montréal; 204 p.
19. Koopman WJ, Moreland LW. 2005. Arthritis and allied conditions : a textbook of rheumatology, 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2600 p.
20. Hildebrand C, Öqvist G, Brax L, et al. 1991. Anatomy of the rat knee joint and fibre composition of a major articular nerve. *The Anatomical Record* 229:545-555.
21. Barone R. 2010. Anatomie comparée des mammifères domestiques: Tome 2 Arthrologie et Myologie, 4e ed. Paris: Vigot; 1021 p.
22. Barone R. 1989. Anatomie comparée des mammifères domestiques, Arthrologie et myologie, 3e ed. Paris: Vigot; 219 p.
23. Lorenz MD. 2011. Handbook of veterinary neurology. St. Louis, Missouri: Elsevier; 549 p.
24. Evans HE, de Lahunta A. 2010. Guide to the dissection of the dog. St. Louis, Missouri: Saunders; 321 p.
25. Kelly S, Dunham JP, Donaldson LF. 2007. Sensory nerves have altered function contralateral to a monoarthritis and may contribute to the symmetrical spread of inflammation. *European Journal of Neuroscience* 26:935-942.

26. Marieb EN. 2004. Human anatomy and physiology. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings; 1242 p.
27. Ellis H, Mahadevan V. 2013. Clinical anatomy: applied anatomy for students and junior doctors. West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.; p. 456.
28. Tobias KM, Johnston SA. 2012. Veterinary Surgery: Small Animal St. Louis, Missouri: Elsevier; 2777 p.
29. Sims NA, Gooi JH. 2008. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Seminars in cell & developmental biology* 19:444-451.
30. Fu Q, Manolagas SC, O'Brien CA. 2006. Parathyroid hormone controls receptor activator of NF-kappaB ligand gene expression via a distant transcriptional enhancer. *Molecular and cellular biology* 26:6453-6468.
31. Fratzl P. 2008. Collagen - Structure and mechanics. New York, NY: Springer; 516 p.
32. Wolff J. 1986 Deutsche Originalausgabe erschienen im Verlag August Hirschwald, Berlin 1892 (Édition originale allemande publiée par Hirsch Wald, Berlin, Août 1892). The law of bone remodeling. Berlin: Springer; 126 p.
33. Riddle RC, Donahue HJ. 2009. From streaming-potentials to shear stress: 25 years of bone cell mechanotransduction. *Journal of Orthopaedic Research* 27:143-149.
34. Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, et al. 2008. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *Journal of Biological Chemistry* 283:5866-5875.
35. Setton LA, Elliott DM, Mow VC. 1999. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage* 7:2-14.
36. Akizuki S, Mow VC, Muller F, et al. 1987. Tensile properties of human knee joint cartilage: II. Correlations between weight bearing and tissue pathology and the kinetics of swelling. *Journal of Orthopaedic Research* 5:173-186.
37. Eyre D. 2002. Collagen of articular cartilage. *Arthritis research & therapy* 4:30-35.

38. Rayan V, Thonar EJ, Chen LM, et al. 1998. Regional differences in the rise in blood levels of antigenic keratan sulfate and hyaluronan after chymopapain induced knee joint injury. *Journal of Rheumatology* 25:521-526.
39. Mayne R, Irwin MH. 1986. Collagen types in cartilage. In: Kuettner KE, Schleyerbach editors. *Articular Cartilage Biochemistry*. New York: Raven Press; pp. 23-38.
40. Blaschket UK, Eikenberry EF, Hulmes DJS, et al. 2000. Collagen XI nucleates self-assembly and limits lateral growth of cartilage fibrils. *Journal of Biological Chemistry* 275:10370-10378.
41. Hardingham TE, Fosang AJ. 1992. Preteoglycans: many forms and many functions. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* 6:861-870.
42. Roughley PJ. 2006. The structure and function of cartilage proteoglycans. *European Cells and Materials* 12:92-101.
43. Soon MY, Hassan A, Hui JH, et al. 2007. An analysis of soft tissue allograft anterior cruciate ligament reconstruction in a rabbit model: a short-term study of the use of mesenchymal stem cells to enhance tendon osteointegration. *The American journal of sports medicine* 35:962-971.
44. Burton-Wurster NI, Lust G. 1993. Evidence for a glycosaminoglycan chain on a portion of articular cartilage fibronectins. *Archives of biochemistry and biophysics* 306:309-320.
45. Walker PS, Dowson D, Longfield MD, et al. 1968. "Boosted lubrication" in synovial joints by fluid entrapment and enrichment. *Annals of the Rheumatic Diseases* 27:512-520.
46. Masroudas A, Mizrahi J, Katz EP. 1986. Physicochemical properties and functional behavior of normal and osteoarthritic human cartilage. *Articular Cartilage Biochemistry*. New York: Raven Press; pp. 311-329.
47. Akizuki S, Mow VC, Muller F, et al. 1986. Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus. *Journal of Orthopaedic Research* 4:379-392.
48. Alexander RM. 2002. Tendon elasticity and muscle function. *Comparative Biochemistry and Physiology* 133:1001-1011.

49. Benjamin M, Kaiser E, Milz S. 2008. Structure-function relationships in tendons: a review. *Journal of Anatomy* 212:211-228.
50. Frank C. 2004. Ligament structure, physiology and function. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 4:199-201.
51. Birch HL. 2007. Tendon matrix composition and turnover in relation to functional requirements. *International journal of experimental pathology* 88:241-248.
52. Tozer S, Duprez D. 2005. Tendon and ligament: development, repair and disease. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today* 75:226-236.
53. Frank C, McDonald D, Bray D, et al. 1992. Collagen fibril diameters in the healing adult rabbit medial collateral ligament. *Connective tissue research* 27:251-263.
54. Frank C, McDonald D, Shrive N. 1997. Collagen fibril diameters in the rabbit medial collateral ligament scar: a longer term assessment. *Connective tissue research* 36:261-269.
55. Benjamin M, Toumi H, Ralphs JR, et al. 2006. Where tendons and ligaments meet bone: attachment sites ('entheses') in relation to exercise and/or mechanical load. *Journal of Anatomy* 208:471-490.
56. Benjamins M, Qin S, Ralphs JR. 1995. Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys. *Journal of Anatomy* 187:625-633.
57. Masouros SD, McDermott ID, Amis AA, et al. 2008. Biomechanics of the meniscus-meniscal ligament construct of the knee. *Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy Journal* 16:1121-1132.
58. Ralphs JR, Benjamin M. 1994. The joint capsule: structure, composition, ageing and disease. *Journal of Anatomy* 184:503-509.
59. Merial. 2012. Canine Osteoarthritis.
60. Robertson SA. 2008. Osteoarthritis in cat : What we now know about recognition and treatment. In: *Medicine V* editor.
61. Clarke S, Mellor D, Clements D, et al. 2005. Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *Veterinary Record* 157:793-799.

62. IASP. 2009. Osteoarthritis-Related Pain. Global Year Against Musculoskeletal Pain (Conference proceedings); pp. 1-2.
63. Pain IGYAM. 2009. Epidemiology of Musculoskeletal Pain. p. 2.
64. Elders MJ. 2000. The increasing impact of arthritis on public health. *The Journal of rheumatology Supplement* 60:6-8.
65. Canada Adlspd. 2009. Suivi des maladies du coeur et des accidents vasculaires cérébraux au Canada. Ottawa: Gouvernement du Canada; p. 120.
66. Network CA. 2006. Pre-clinical models of osteoarthritis. Consensus conferenc on pre-clinical models of osteoarthritis. Montreal; p. 66.
67. Neogi T, Jordan JM, Zhang Y. 2011. Chapter 1: Epidemiology of OA. OARSI Primer.
68. Little CB, Zaki S. 2012. What constitutes an "animal model of osteoarthritis" - the need for consensus? *Osteoarthritis Cartilage* 20:261-267.
69. Altman RD, Hochberg M, Murphy WAJ, et al. 1995. Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 3:3-70.
70. Buckwalter JA, Martin JA, Brown TD. 2006. Perspectives on chondrocyte mechanobiology and osteoarthritis. *Biorheology* 43:603-609.
71. Meachim G. 1972. Articular cartilage lesion in osteoarthritis of the femoral head. *Journal of Pathology* 107:199-210.
72. Meachim G, Fergie IA. 1975. Morphological patterns of articular cartilage fibrillation. *Journal of Pathology* 115:231-240.
73. Goldring MB, Otero M, Plumb DA, et al. 2011. Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis. *European Cells and Materials* 21:202-220.
74. Marcu KB, Otero M, Olivotto E, et al. 2010. NF- κ B signaling: multiple angles to target OA. *Current Drug Targets* 11:599-613.
75. Otero M, Loester R, Goldring MB. 2011. Chapter 5: OA pathogenesis - Inflammation and OA. OARSI Primer.
76. Struglics A, Larsson S, Pratta MA, et al. 2006. Human osteoarthritis synovial fluid and joint cartilage contain both aggrecanase- and matrix metalloproteinase-generated aggrecan fragments. *Osteoarthritis and Cartilage* 14:101-113.

77. Song RH, Tortorella MD, Malfait AM, et al. 2007. Aggrecan degradation in human articular cartilage explants is mediated by both ADAMTS-4 and ADAMTS-5. *Arthritis and rheumatism* 56:575-585.
78. Fosang AJ. 2011. Chapter 5: OA pathogenesis - Proteinases and OA. OARSI Primer.
79. Group ITW. 2011. Classification of chronic pain- Part III: Pain terms. A current list with definitions and notes on usage. In: IASP editor, Second edition ed; p. 9.
80. Kent JE, Molony V. Guidelines for the recognition and assessment of animal pain. In: Royal (Dick) School of Veterinary Studies UoE, Summerhall, Edinburgh EH9 1QH editor.
81. Basbaum AI, Jessell T. 2000. *The Perception of Pain*. New York: Appleton and Lange; 1414 p.
82. Schnitzer TJ. 2011. Chapter 5: OA pathogenesis - Genesis of pain. OARSI Primer.
83. McDougall JJ. 2006. Pain and OA. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 6:385-386.
84. McDougall JJ. 2006. Arthritis and pain. Neurogenic origin of joint pain. *Arthritis research & therapy* 8:1-10.
85. Schaible HG, Richter F, Ebersberger A, et al. 2009. Joint pain. *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung Experimentation cerebrale* 196:153-162.
86. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, et al. 2009. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 139:267-284.
87. Julius D, Basbaum AI. 2001. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 413:203-210.
88. Perl ER. 2007. Ideas about pain, a historical view. *Nature Reviews Neuroscience* 8:71-80.
89. Schaible HG. 2007. Peripheral and central mechanisms of pain generation. *Handbook of experimental pharmacology*:3-28.
90. Clare JJ. 2010. Targeting voltage-gated sodium channels for pain therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 19:45-62.
91. Yaksh TL. 2006. Calcium channels as therapeutic targets in neuropathic pain. *Journal of Pain* 7:13-30.

92. Mathie A. 2010. Ion channels as novel therapeutic targets in the treatment of pain. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62:1089-1095.
93. Gavva NR, Treanor JJ, Garami A, et al. 2008. Pharmacological blockade of the vanilloid receptor TRPV1 elicits marked hyperthermia in humans. *Pain* 136:202-210.
94. Hunter DJ, McDougall JJ, Keefe FJ. 2008. The symptoms of osteoarthritis and the genesis of pain. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 34:623-643.
95. Schaible HG. 2004. Spinal mechanisms contributing to joint pain. *Novartis Foundation symposium* 260:4-22.
96. Schaible HG. 2012. Mechanisms of chronic pain in osteoarthritis. *Current rheumatology reports* 14:549-556.
97. Bedson J, Croft PR. 2008. The discordance between clinical and radiographic knee osteoarthritis: a systematic search and summary of the literature. *BMC musculoskeletal disorders* 9:1-11.
98. McDougall JJ, Schuelert N, Bowyer J. 2010. Cathepsin K inhibition reduces CTXII levels and joint pain in the guinea pig model of spontaneous osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 18:1355-1357.
99. Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD, et al. 2005. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European journal of pain* 9:463-484.
100. Apkarian AV, Sosa Y, Sonty S, et al. 2004. Chronic back pain is associated with decreased prefrontal and thalamic gray matter density. *Journal of Neuroscience* 24:10410-10415.
101. Parks EL, Geha PY, Baliki MN, et al. 2011. Brain activity for chronic knee osteoarthritis: dissociating evoked pain from spontaneous pain. *European journal of pain* 15:1-18.
102. Mueller KL, Hoon MA, Erlenbach I, et al. 2005. The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature* 434:225-229.
103. Cavanaugh DJ, Lee H, Lo L, et al. 2009. Distinct subsets of unmyelinated primary sensory fibers mediate behavioral responses to noxious thermal and mechanical stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:9075-9080.

104. Scherrer G, Imamachi N, Cao YQ, et al. 2009. Dissociation of the opioid receptor mechanisms that control mechanical and heat pain. *Cell* 137:1148-1159.
105. Nichols ML. 1999. Transmission of chronic nociception by spinal neurons expressing the substance P receptor. *Science* 286:1558-1561.
106. Bradley LA. 2004. Recent approaches to understanding osteoarthritis pain. *Journal of Rheumatology* 70:54-60.
107. Kosek E, 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.
108. Felson DT, Niu J, Guermazi A, et al. 2007. Correlation of the development of knee pain with enlarging bone marrow lesions on magnetic resonance imaging. *Arthritis and rheumatism* 56:2986-2992.
109. Hill CL, Hunter DJ, Niu J, et al. 2007. Synovitis detected on magnetic resonance imaging and its relation to pain and cartilage loss in knee osteoarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 66:1599-1603.
110. Peterfy CG, Guermazi A, Zaim S, et al. 2004. Whole-Organ Magnetic Resonance Imaging Score (WORMS) of the knee in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 12:177-190.
111. Zhang Y, Nevitt M, Niu J, et al. 2011. Fluctuation of knee pain and changes in bone marrow lesions, effusions, and synovitis on magnetic resonance imaging. *Arthritis and rheumatism* 63:691-699.
112. Eckstein F, Ateshian G, Burgkart R, et al. 2006. Proposal for a nomenclature for magnetic resonance imaging based measures of articular cartilage in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 14:974-983.
113. 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. *Veterinary surgery* : VS 37:166-177.

114. d'Anjou MA, Troncy E, Moreau M, et al. 2008. 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.
115. Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, et al. 2012. Evaluation of osteoarthritis in cats: novel information from a pilot study. *Veterinary surgery* : VS 41:328-335.
116. Kraus VB, Nevitt M, Sandell LJ. 2010. Summary of the OA biomarkers workshop 2009--biochemical biomarkers: biology, validation, and clinical studies. *Osteoarthritis and Cartilage* 18:742-745.
117. Rousseau J, Garnero P. 2011. Chapter 10: Biochemical markers. *OARSI Primer*.
118. Fernihough J, Gentry C, Bevan S, et al. 2005. Regulation of calcitonin gene-related peptide and TRPV1 in a rat model of osteoarthritis. *Neuroscience letters* 388:75-80.
119. Ferreira-Gomes J, Adães S, Sarkander J, et al. 2010. Phenotypic alterations of neurons that innervate osteoarthritic joints in rats. *Arthritis and rheumatism* 62:3677-3685.
120. Niissalo S, Hukkanen M, Imai S, et al. 2002. Neuropeptides in experimental and degenerative arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 966:384-399.
121. Puttfarcken PS, Han P, Joshi SK, et al. 2010. A-995662 [(R)-8-(4-methyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-ylamino)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-ol], a novel, selective TRPV1 receptor antagonist, reduces spinal release of glutamate and CGRP in a rat knee joint pain model. *Pain* 150:319-326.
122. Meini S, Maggi CA. 2008. Knee osteoarthritis: a role for bradykinin? *Inflamm Res* 57:351-361.
123. Lai J, Luo MC, Chen Q, et al. 2006. Dynorphin A activates bradykinin receptors to maintain neuropathic pain. *Nature neuroscience* 9:1534-1540.
124. Schaible HG, Del Rosso A, Matucci-Cerinic M. 2005. Neurogenic Aspects of Inflammation. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 31:77-101.
125. Zubrzycka M, Janecka A. 2000. Substance P: transmitter of nociception *Endocrine regulations* 34:195-201.
126. 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.

127. Heppelmann B, Pawlak M. 1997. Sensitisation of articular afferents in normal and inflamed knee joints by substance P in the rat. *Neuroscience letters* 223:97-100.
128. Cruwys SC, Garrett NE, Kidd BL. 1995. Sensory denervation with capsaicin attenuates inflammation and nociception in arthritic rats. *Neuroscience letters* 193:205-207.
129. Todd AJ, Polgar E, Watt C, et al. 2009. Neurokinin 1 receptor-expressing projection neurons in laminae III and IV of the rat spinal cord have synaptic AMPA receptors that contain GluR2, GluR3 and GluR4 subunits. *European Journal of Neuroscience* 29:718-726.
130. Todd AJ, Puskár Z, Spike RC, et al. 2002. Projection neurons in lamina I of rat spinal cord with the neurokinin 1 receptor are selectively innervated by substance P-containing afferents and respond to noxious stimulation. *Journal of Neuroscience* 22:4103-4113.
131. Canning BJ, Spina D. 2009. *Sensory nerves*. Berlin: Springer; 622 p.
132. Raud J, Lundeberg T, Brodda-Jansen G, et al. 1991. Potent anti-inflammatory action of calcitonin gene-related peptide. *Biochemical and biophysical research communications* 180:1429-1435.
133. Coutaux A, Adam F, Willer JC, et al. 2005. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 72:359-371.
134. Neugebauer V, Rümenapp P, Schaible HG. 1996. Calcitonin gene-related peptide is involved in the spinal processing of mechanosensory input from the rat's knee joint and in the generation and maintenance of hyperexcitability of dorsal horn neurons during development of acute inflammation. *Neuroscience* 71:1095-1109.
135. Schuelert N, McDougall JJ. 2006. Electrophysiological evidence that the vasoactive intestinal peptide receptor antagonist VIP6-28 reduces nociception in an animal model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 14:1155-1162.
136. McDougall JJ, Watkins L, Li Z. 2006. Vasoactive intestinal peptide (VIP) is a modulator of joint pain in a rat model of osteoarthritis. *Pain* 123:98-105.
137. Chapman V, Dickenson AH. 1992. The spinal and peripheral roles of bradykinin and prostaglandins in nociceptive processing in the rat. *European journal of pharmacology* 219:427-433.

138. Ferreira J, Campos MM, Araújo R, et al. 2002. The use of kinin B1 and B2 receptor knockout mice and selective antagonists to characterize the nociceptive responses caused by kinins at the spinal level. *Neuropharmacology* 43:1188-1197.
139. Wang H, Kohno T, Amaya F, et al. 2005. Bradykinin produces pain hypersensitivity by potentiating spinal cord glutamatergic synaptic transmission. *Journal of Neuroscience* 25:7986-7992.
140. Ferland CE, Beaudry F, Vachon P. 2012. Antinociceptive effects of eugenol evaluated in a monoiodoacetate-induced osteoarthritis rat model. *Phytotherapy Reserch* 26:1278-1285.
141. Wang Z, Gardell LR, Ossipov MH, et al. 2001. Pronociceptive actions of dynorphin maintain chronic neuropathic pain. *Journal of Neuroscience* 21:1779-1786.
142. Pinter E, Helyes Z, Szolcsanyi J. 2006. Inhibitory effect of somatostatin on inflammation and nociception. *Pharmacology & therapeutics* 112:440-456.
143. Abd El-Aleem SA, Morales-Aza BM, McQueen DS, et al. 2005. Inflammation alters somatostatin mRNA expression in sensory neurons in the rat. *European Journal of Neuroscience* 21:135-141.
144. Staton PC, Wilson AW, Bountra C, et al. 2007. Changes in dorsal root ganglion CGRP expression in a chronic inflammatory model of the rat knee joint: differential modulation by rofecoxib and paracetamol. *European journal of pain* 11:283-289.
145. Little CB. 2011. Chapter 6: Experimental models of OA. *OARSI Primer*.
146. Little CB, Smith MM. 2008. Animal models of osteoarthritis. *Current Rheumatology Review* 4:1-8.
147. Moskowitz RW. 2007. *Osteoarthritis : diagnosis and medical/surgical management*, 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer / Lippincott Williams & Wilkins; 470 p.
148. Pritzker KP. 1994. Animal models for osteoarthritis: processes, problems and prospects. *Annals of the Rheumatic Diseases* 53:406-420.
149. Bove SE, Flatters SJ, Inglis JJ, et al. 2009. New advances in musculoskeletal pain. *Brain research reviews* 60:187-201.
150. Mogil JS, Davis KD, Derbyshire SW. 2010. The necessity of animal models in pain research. *Pain* 151:12-17.

151. Hooijmans CR, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M. 2010. A gold standard publication checklist to improve the quality of animal studies, to fully integrate the three Rs, and to make systematic reviews more feasible. *Alternatives to Lab Animals* 38:167-182.
152. Wehling M. 2009. Assessing the translatability of drug projects: what needs to be scored to predict success? *Nature Reviews Drug Discovery* 8:541-546.
153. Inglis JJ, McNamee KE, Chia SL, et al. 2008. Regulation of pain sensitivity in experimental osteoarthritis by the endogenous peripheral opioid system. *Arthritis and rheumatism* 58:3110-3119.
154. Malfait AM, Tortorella M, Thompson J, et al. 2009. Intra-articular injection of tumor necrosis factor-alpha in the rat: an acute and reversible in vivo model of cartilage proteoglycan degradation. *Osteoarthritis and Cartilage* 17:627-635.
155. Cake M, Read R, Edwards S, et al. 2008. Changes in gait after bilateral meniscectomy in sheep: effect of two hyaluronan preparations. *Journal of Orthopaedic Science* 13:514-523.
156. McNamee KE, Burleigh A, Gompels LL, et al. 2010. Treatment of murine osteoarthritis with TrkAd5 reveals a pivotal role for nerve growth factor in non-inflammatory joint pain. *Pain* 149:386-392.
157. Smith G, Myers SL, Brandt KD, et al. 2005. Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *Journal of Rheumatology* 32:325-334.
158. Otis C, Gervais J, Guillot M, et al. 2016. Concurrent validity of different functional and neuroproteomic pain assessment methods in the rat osteoarthritis MIA model. *Arthritis research & therapy* 18:1-16.
159. van den Berg W. 2008. Lessons from animal models of osteoarthritis. *Current rheumatology reports* 10:26-29.
160. van den Berg WB, van Osch GJ, van der Kraan PM, et al. 1993. Cartilage destruction and osteophytes in instability-induced murine osteoarthritis: role of TGF beta in osteophyte formation? *Agents and Actions Supplements* 40:215-219.

161. van der Kraan PM, Vitters EL, van de Putte LBA, et al. 1989. Development of osteoarthritis lesion in mice by "metabolic" and "mechanical" alterations in the knee joint. *American Journal of Pathology* 136:1001-1014.
162. van Lent PL, Blom AB, Schelbergen RF, et al. 2012. Active involvement of alarmins S100A8 and S100A9 in the regulation of synovial activation and joint destruction during mouse and human osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 64:1466-1476.
163. Mogil JS. 2009. Animal models of pain: progress and challenges. *Nature Reviews Neuroscience* 10:283-294.
164. Whiteside GT, Adedoyin A, Leventhal L. 2008. Predictive validity of animal pain models? A comparison of the pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for pain drugs in rats and humans. *Neuropharmacology* 54:767-775.
165. Wehling M. 2011. Drug development in the light of translational science: shine or shade? *Drug discovery today* 16:1076-1083.
166. Gregory MH, Capito N, Kuroki K, et al. 2012. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Arthritis* 2012:1-14.
167. Balbin M, Fueyo A, Knauper V, et al. 2001. Identification and enzymatic characterization of two diverging murine counterparts of human interstitial collagenase (MMP-1) expressed at sites of embryo implantation. *Journal of Biological Chemistry* 276:10253-10262.
168. Chambers MG, Kuffner T, Cowan SK, et al. 2002. Expression of collagen and aggrecan genes in normal and osteoarthritic murine knee joints. *Osteoarthritis and Cartilage* 10:51-61.
169. 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 and rheumatism* 60:3723-3733.
170. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. 2010. Animal models for cartilage regeneration and repair. *Tissue Engineering* 16:105-115.
171. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, et al. 2009. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage* 17:705-713.

172. Eltawil NM, De Bari C, Achan P, et al. 2009. A novel in vivo murine model of cartilage regeneration. Age and strain-dependent outcome after joint surface injury. *Osteoarthritis and Cartilage* 17:695-704.
173. Cesana M, Appleyard RC, Jones HP, et al. 2003. The effect of chronic ACL deficiency on the secondary restraints of the knee: a biomechanical study in a sheep model. 49th Annual meeting of the Orthopedic Research Society. New Orleans, Louisiana; p. 1.
174. Rørvik AM, Teige J. 1996. Unstable stifles without clinical or radiographic osteoarthritis in young goats: an experimental study. *Acta Veterinaria Scandinavica* 37:265-272.
175. Brandt KD. 1991. Transection of the anterior cruciate ligament in the dog: a model of osteoarthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism* 21:22-32.
176. Intema F, Sniekers YH, Weinans H, et al. 2010. Similarities and discrepancies in subchondral bone structure in two differently induced canine models of osteoarthritis. *Journal of Bone and Mineral Research* 25:1650-1657.
177. Glasson SS, Blanchet TJ, Morris EA. 2007. The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse. *Osteoarthritis and Cartilage* 15:1061-1069.
178. Quasnicka HL, Anderson-MacKenzie JM, Bailey AJ. 2006. Subchondral bone and ligament changes precede cartilage degradation in guinea pig osteoarthritis. *Biorheology* 43:389-397.
179. Quasnicka HL, Anderson-MacKenzie JM, Tarlton JF, et al. 2005. Cruciate ligament laxity and femoral intercondylar notch narrowing in early-stage knee osteoarthritis. *Arthritis and rheumatism* 52:3100-3109.
180. Innes JF, Clegg P. 2010. Comparative rheumatology: what can be learnt from naturally occurring musculoskeletal disorders in domestic animals? *Rheumatology (Oxford)* 49:1030-1039.
181. Bove SE. 2003. Weight bearing as a measure of disease progression and efficacy of anti-inflammatory compounds in a model of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 11:821-830.

182. 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.
183. Vermeirsch H, Biermans R, Salmon PL, et al. 2007. Evaluation of pain behavior and bone destruction in two arthritic models in guinea pig and rat. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 87:349-359.
184. Janusz MJ, Hookfin EB, Heitmeyer SA, et al. 2001. Moderation of iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats by matrix metalloproteinase inhibitors. *Osteoarthritis and Cartilage* 9:751-760.
185. Clements KM, Ball AD, Jones HB, et al. 2009. Cellular and histopathological changes in the infrapatellar fat pad in the moniodoacetate model of osteoarthritis pain. *Osteoarthritis and Cartilage* 17:805-812.
186. Barve RA, Minnerly JC, Weiss DJ, et al. 2007. Transcriptional profiling and pathway analysis of monosodium iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats: relevance to human disease. *Osteoarthritis and Cartilage* 15:1190-1198.
187. Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, et al. 1997. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis and rheumatism* 40:1670-1679.
188. Schuelert N, McDougall JJ. 2009. Grading of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis reveals a concentration-dependent sensitization of nociceptors in the knee joint of the rat. *Neuroscience letters* 465:184-188.
189. Ivanavicius SP, Ball AD, Heapy CG, et al. 2007. Structural pathology in a rodent model of osteoarthritis is associated with neuropathic pain: increased expression of ATF-3 and pharmacological characterisation. *Pain* 128:272-822.
190. Chandran P, Pai M, Blomme EA, et al. 2009. Pharmacological modulation of movement-evoked pain in a rat model of osteoarthritis. *European journal of pharmacology* 613:39-45.
191. Clarke KA, Heitmeyer SA, Smith AG, et al. 1997. Gait analysis in a rat model of osteoarthritis. *Physiology & Behavior* 62:951-954.

192. Kelly S, Dunham JP, Murray F, et al. 2012. Spontaneous firing in C-fibers and increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurones during MIA-induced osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage* 20:305-313.
193. Kalff KM, El Mouedden M, van Egmond J, et al. 2010. Pre-treatment with capsaicin in a rat osteoarthritis model reduces the symptoms of pain and bone damage induced by monosodium iodoacetate. *European journal of pharmacology* 641:108-113.
194. Vonsy JL, Ghandehari J, Dickenson AH. 2009. Differential analgesic effects of morphine and gabapentin on behavioural measures of pain and disability in a model of osteoarthritis pain in rats. *European journal of pain* 13:786-793.
195. Nagase H, Kumakura S, Shimada K. 2012. Establishment of a novel objective and quantitative method to assess pain-related behavior in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rat knee. *Journal of pharmacological and toxicological methods* 65:29-36.
196. Thakur M, Rahman W, Hobbs C, et al. 2012. Characterisation of a peripheral neuropathic component of the rat monoiodoacetate model of osteoarthritis. *PloS one* 7:1-11.
197. Ghosh P, Cheras PA. 2001. Vascular mechanisms in osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 15:693-709.
198. Christiansen BA, Anderson MJ, Lee CA, et al. 2012. Musculoskeletal changes following non-invasive knee injury using a novel mouse model of post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 20:773-782.
199. Mastbergen SC, Marijnissen AC, Vianen ME, et al. 2006. Inhibition of COX-2 by celecoxib in the canine groove model of osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 45:405-413.
200. Konttinen YT, Michelsson JE, Tolvanen E, et al. 1990. Primary inflammatory reaction in synovial fluid and tissue in rabbit immobilization osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research*:280-286.

201. Langenskiold A, Michelsson JE, Videman T. 1979. Osteoarthritis of the knee in the rabbit produced by immobilization. Attempts to achieve a reproducible model for studies on pathogenesis and therapy. *Acta orthopaedica Scandinavica* 50:1-14.
202. Appleton CT, McErlain DD, Pitelka V, et al. 2007. Forced mobilization accelerates pathogenesis: characterization of a preclinical surgical model of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy* 9:1-15.
203. Bendele AM. 2001. Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*:363-376.
204. 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 and Cartilage* 12:779-786.
205. Liu W, Burton-Wurster N, Glant TT, et al. 2003. Spontaneous and experimental osteoarthritis in dog: similarities and differences in proteoglycan levels. *Journal of Orthopaedic Research* 21:730-737.
206. Lotz MK, Kraus VB. 2010. New developments in osteoarthritis. Posttraumatic osteoarthritis: pathogenesis and pharmacological treatment options. *Arthritis research & therapy* 12:1-9.
207. Salvarrey-Strati A, Watson L, Blanchet T, et al. 2008. The influence of enrichment devices on development of osteoarthritis in a surgically induced murine model. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 49:23-30.
208. Libicher M, Ivancic M, Hoffmann M, et al. 2005. Early changes in experimental osteoarthritis using the Pond-Nuki dog model: technical procedure and initial results of in vivo MR imaging. *European radiology* 15:390-394.
209. Pond MJ, Nuki G. 1973. Experimentally-induced osteoarthritis in the dog. *Annals of the Rheumatic Diseases* 32:387-388.
210. Goebel JC, Bolbos R, Pham M, et al. 2010. In vivo high-resolution MRI (7T) of femoro-tibial cartilage changes in the rat anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis: a cross-sectional study. *Rheumatology (Oxford)* 49:1654-1664.
211. Pelletier J-P, 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. *Journal of Rheumatology* 38:118-128.
212. Chou MC, Tsai PH, Huang GS, et al. 2009. Correlation between the MR T2 value at 4.7 T and relative water content in articular cartilage in experimental osteoarthritis induced by ACL transection. *Osteoarthritis and Cartilage* 17:441-447.
213. Etienne S, Gaborit N, Henrionnet C, et al. 2008. Local induction of heat shock protein 70 (Hsp70) by proteasome inhibition confers chondroprotection during surgically induced osteoarthritis in the rat knee. *Bio-Medical Materials and Engineering* 18:253-260.
214. Jay GD, Elsaid KA, Kelly KA, et al. 2012. Prevention of cartilage degeneration and gait asymmetry by lubricin tribosupplementation in the rat following anterior cruciate ligament transection. *Arthritis and rheumatism* 64:1162-1171.
215. Jay GD, Fleming BC, Watkins BA, et al. 2010. Prevention of cartilage degeneration and restoration of chondroprotection by lubricin tribosupplementation in the rat following anterior cruciate ligament transection. *Arthritis and rheumatism* 62:2382-2391.

216. Jean YH, Wen ZH, Chang YC, et al. 2007. Intra-articular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cruciate ligament-transected knee in rats: role of excitatory amino acids. *Osteoarthritis and Cartilage* 15:638-645.
217. Silva FS, Jr., Yoshinari NH, Castro RR, et al. 2009. Combined glucosamine and chondroitin sulfate provides functional and structural benefit in the anterior cruciate ligament transection model. *Clinical rheumatology* 28:109-117.
218. Wen ZH, Tang CC, Chang YC, et al. 2010. Glucosamine sulfate reduces experimental osteoarthritis and nociception in rats: association with changes of mitogen-activated protein kinase in chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage* 18:1192-1202.
219. Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, et al. 2004. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. *Arthritis and rheumatism* 50:1193-1206.
220. Hayami T, Pickarski M, Zhuo Y, et al. 2006. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone* 38:234-243.
221. Ruan MZ, Patel RM, Dawson BC, et al. 2013. Pain, motor and gait assessment of murine osteoarthritis in a cruciate ligament transection model. *Osteoarthritis and Cartilage* 21:1355-1364.
222. Nielsen RH, Stoop R, Leeming DJ, et al. 2008. Evaluation of cartilage damage by measuring collagen degradation products in joint extracts in a traumatic model of osteoarthritis. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals* 13:79-87.
223. Stoop R, Buma P, van der Kraan PM, et al. 2001. Type II collagen degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament transection in rats. *Osteoarthritis and Cartilage* 9:308-315.
224. Yoshida A, Morihara T, Matsuda K, et al. 2012. Immunohistochemical analysis of the effects of estrogen on intraarticular neurogenic inflammation in a rat anterior cruciate ligament transection model of osteoarthritis. *Connective tissue research* 53:197-206.

225. Fu SC, Cheuk YC, Hung LK, et al. 2012. Limb Idleness Index (LII): a novel measurement of pain in a rat model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 20:1409-1416.
226. Laprade RF, Wentorf FA, Olson EJ, et al. 2006. An in vivo injury model of posterolateral knee instability. *The American journal of sports medicine* 34:1313-1321.
227. Herzog W, Adams ME, Matyas JR, et al. 1993. Hindlimb loading, morphology and biochemistry of articular cartilage in the ACL-deficient cat knee. *Osteoarthritis and Cartilage* 1:243-251.
228. Teeple E, Elsaid KA, Fleming BC, et al. 2008. Coefficients of friction, lubricin, and cartilage damage in the anterior cruciate ligament-deficient guinea pig knee. *Journal of Orthopaedic Research* 26:231-237.
229. Patchornik S, Ram E, Ben Shalom N, et al. 2012. Chitosan-hyaluronate hybrid gel intraarticular injection delays osteoarthritis progression and reduces pain in a rat meniscectomy model as compared to saline and hyaluronate treatment. *Advances in orthopedics* 2012:1-5.
230. Baragi VM, Becher G, Bendele AM, et al. 2009. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models. *Arthritis and rheumatism* 60:2008-2018.
231. Yu DG, Yu B, Mao YQ, et al. 2012. Efficacy of zoledronic acid in treatment of teoarthritis is dependent on the disease progression stage in rat medial meniscal tear model. *Acta pharmacologica Sinica* 33:924-934.
232. Wei T, Kulkarni NH, Zeng QQ, et al. 2010. Analysis of early changes in the articular cartilage transcriptisome in the rat meniscal tear model of osteoarthritis: pathway comparisons with the rat anterior cruciate transection model and with human osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* 18:992-1000.
233. Wancket LM, Baragi V, Bove S, et al. 2005. Anatomical localization of cartilage degradation markers in a surgically induced rat osteoarthritis model. *Toxicologic Pathology* 33:484-489.

234. Appleton CT, McErlain DD, Henry JL, et al. 2007. Molecular and histological analysis of a new rat model of experimental knee osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1117:165-174.
235. McErlain DD, Appleton CT, Litchfield RB, et al. 2008. Study of subchondral bone adaptations in a rodent surgical model of OA using in vivo micro-computed tomography. *Osteoarthritis and Cartilage* 16:458-469.
236. Flannery CR, Zollner R, Corcoran C, et al. 2009. Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin. *Arthritis and rheumatism* 60:840-847.
237. Janusz M. 2002. Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: Inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor. *Osteoarthritis and Cartilage* 10:785-791.
238. Allen KD, Mata BA, Gabr MA, et al. 2012. Kinematic and dynamic gait compensations resulting from knee instability in a rat model of osteoarthritis. *Arthritis research & therapy* 14:1-14.
239. Mapp PI, Walsh DA, Bowyer J, et al. 2010. Effects of a metalloproteinase inhibitor on osteochondral angiogenesis, chondropathy and pain behavior in a rat model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 18:593-600.
240. Yorimitsu M, Nishida K, Shimizu A, et al. 2008. Intra-articular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints. *Osteoarthritis and Cartilage* 16:764-771.
241. Aigner T, Cook JL, Gerwin N, et al. 2010. Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. *Osteoarthritis and Cartilage* 18 Suppl 3:S2-6.
242. Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, et al. 2010. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage* 18 Suppl 3:S24-34.
243. Piel MJ, Kroin JS, van Wijnen AJ, et al. 2014. Pain assessment in animal models of osteoarthritis. *Gene*:184-188.

244. Tetreault P, Dansereau MA, Dore-Savard L, et al. 2011. Weight bearing evaluation in inflammatory, neuropathic and cancer chronic pain in freely moving rats. *Physiol Behav* 104:495-502.
245. Bioseb. 2016. Kinematic Weight Bearing.
246. Kroin JS, Li X, Li J, et al. 2012. FGF-2 reverses osteoarthritis but not osteoarthritis-induced pain in mice. *ASA*; p. 1.
247. Martin TJ, Buechler NL, Kahn W, et al. 2004. Effects of laparotomy on spontaneous exploratory activity and conditioned operant responding in the rat: a model for postoperative pain. *Anesthesiology* 101:191-203.
248. Bains RS, Cater HL, Sillito RR, et al. 2016. Analysis of Individual Mouse Activity in Group Housed Animals of Different Inbred Strains using a Novel Automated Home Cage Analysis System. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 10.
249. Pamies D, Bressler J, Zhang C, et al. 2014. Personalized microphysiological system of the brain to study gene/environment interactions. *Toxicology Letters* 229:S46-S47.
250. Tse K, Rimmer V, Grant C, et al. 2015. Rodent Big Brother: A Home Cage Automated Behavioural Monitoring System for Safety Pharmacology and Toxicology Studies. *Safety Pharmacology Society 15th Annual Meeting*. Prague.
251. Sotocinal SG, Sorge RE, Zaloum A, et al. 2011. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular pain* 7:55.
252. Andrews N, Legg E, Lisak D, et al. 2012. Spontaneous burrowing behaviour in the rat is reduced by peripheral nerve injury or inflammation associated pain. *Eur J Pain* 16:485-495.
253. Bryden LA, Nicholson JR, Doods H, et al. 2015. Deficits in spontaneous burrowing behavior in the rat bilateral monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: an objective measure of pain-related behavior and analgesic efficacy. *Osteoarthritis and Cartilage* 23:1605-1612.
254. Ferreira-Gomes J, Aadaes S, Castro-Lopes JM. 2008. Assessment of movement-evoked pain in osteoarthritis by the knee-bend and CatWalk tests: a clinically relevant study. *Journal of Pain* 9:945-954.

255. Yu YC, Koo AT, Kim CH, et al. 2002. Two variables that can be used as pain indices in experimental animal models of arthritis. *Journal of neuroscience methods* 115:107-113.
256. Ängeby Möller K, Johansson B, Berge OG. 1998. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. *Journal of neuroscience methods* 84:41-47.
257. Tena B, Escobar B, Arguis MJ, et al. 2012. Reproducibility of electronic von Frey and von Frey monofilaments testing. *The Clinical journal of pain* 28:318-323.
258. Randall LO, Selitto JJ. 1957. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie* 111:409-419.
259. Baastrup C, Jensen TS, Finnerup NB. 2011. Pregabalin attenuates place escape/avoidance behavior in a rat model of spinal cord injury. *Brain research* 1370:129-135.
260. Fuchs PN, McNabb CT. 2012. The place escape/avoidance paradigm: a novel method to assess nociceptive processing. *Journal of integrative neuroscience* 11:61-72.
261. LaBuda CJ, Fuchs PN. 2000. A behavioral test paradigm to measure the aversive quality of inflammatory and neuropathic pain in rats. *Experimental neurology* 163:490-494.
262. Pedersen LH, Blackburn-Munro G. 2006. Pharmacological characterisation of place escape/avoidance behaviour in the rat chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Psychopharmacology* 185:208-217.
263. LaBuda CJ, Fuchs PN. 2001. Low dose aspirin attenuates escape/avoidance behavior but does not reduce mechanical hyperalgesia in a rodent model of inflammatory pain. *Neuroscience letters* 304:137-140.
264. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. 1988. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 32:77-88.
265. Betts RP, Duckworth T. 1978. A device to measure plantar pressure under the sole of the foot. *Engineering in Medicine* 7:223-228.

266. Angeby-Moller K, Berge OG, Hamers FP. 2008. Using the CatWalk method to assess weight-bearing and pain behaviour in walking rats with ankle joint monoarthritis induced by carrageenan: effects of morphine and rofecoxib. *Journal of neuroscience methods* 174:1-9.
267. Hamers FP, Lankhorst AJ, Van Laar TJ, et al. 2001. Automated quantitative gait analysis during overground locomotion in the rat: Its application to spinal cord contusion and transection injuries. *Journal of Neurotrauma* 18:187-201.
268. Gabriel AF, Marcus MA, Walenkamp GH, et al. 2009. The CatWalk method: assessment of mechanical allodynia in experimental chronic pain. *Behavioural brain research* 198:477-480.
269. Bozkurt A, Deumens R, Scheffel J, et al. 2008. CatWalk gait analysis in assessment of functional recovery after sciatic nerve injury. *Journal of neuroscience methods* 173:91-98.
270. Deumens R, Jaken RJ, Marcus MA, et al. 2007. The CatWalk gait analysis in assessment of both dynamic and static gait changes after adult rat sciatic nerve resection. *Journal of neuroscience methods* 164:120-130.
271. Vrinten DH, Hamers FFT. 2003. CatWalk automated quantitative gait analysis as a novel method to assess mechanical allodynia in the rat; a comparison with von Frey testing. *Pain* 102:203-209.
272. Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB. 2001. Osteoarthritis, an inflammatory disease. *Arthritis Rheum* 44:1237-1247.
273. Torres L, Dunlop DD, Peterfy C, et al. 2006. The relationship between specific tissue lesions and pain severity in persons with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 14:1033-1040.
274. Moreau M, Pelletier JP, Lussier B, et al. 2013. A posteriori comparison of natural and surgical destabilization models of canine osteoarthritis. *BioMed research international* 2013:180453.
275. Neugebauer V, Han JS, Adwanikar H, et al. 2007. Techniques for assessing knee joint pain in arthritis. *Molecular pain* 3:1-13.

276. Ferland CE. 2011. Caractérisation d'un modèle animal de douleur articulaire associée à l'arthrose du genou chez le rat Sprague-Dawley.
277. Das R, Plaas A, Sandy J, et al. 2010. Destabilization of the medial meniscus as a model for the study of pain pathways associated with development of murine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 18:S24.
278. Field MJ, Bramwell S, Hughes J, et al. 1999. Detection of static and dynamic components of mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain: are they signalled by distinct primary sensory neurones? *Pain* 83:303-311.
279. Beaulieu P. 2005. *Pharmacologie de la douleur*. Montréal: Presses de l'Université de Montréal; 593 p.
280. Felson DT. 2005. The sources of pain in knee osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 17:624-628.
281. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. 1979. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain* 6:283-304.
282. Ferland CE, Pailleux F, Vachon P, et al. 2011. Determination of specific neuropeptides modulation time course in a rat model of osteoarthritis pain by liquid chromatography ion trap mass spectrometry. *Neuropeptides* 45:423-429.
283. Cheek AO, Kow K, Chen J, et al. 1999. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environmental Health Perspectives* 107:273-278.
284. Hesse A, Altland K, Linke RP, et al. 1993. Cardiac amyloidosis: a review and report of a new transthyretin (prealbumin) variant. *British heart journal* 70:111-115.
285. Miyazaki Y, Koike H, Akane A, et al. 2011. Spinal cord stimulation markedly ameliorated refractory neuropathic pain in transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid : the international journal of experimental and clinical investigation : the official journal of the International Society of Amyloidosis* 18:87-90.
286. Li TW, Zheng BR, Huang ZX, et al. 2010. Screening disease-associated proteins from sera of patients with rheumatoid arthritis: A comparative proteomic study. *Chin Med J* 123:537-543.

287. Rialland P, Otis C, de Courval ML, et al. 2014. Assessing experimental visceral pain in dairy cattle: A pilot, prospective, blinded, randomized, and controlled study focusing on spinal pain proteomics. *Journal of dairy science* 97:2118-2134.
288. Rialland P, Otis C, Moreau M, et al. 2014. Association between sensitisation and pain-related behaviours in an experimental canine model of osteoarthritis. *Pain* 155:2071-2079.
289. Vlad SC, LaValley MP, McAlindon TE, et al. 2007. Glucosamine for pain in osteoarthritis: why do trial results differ? *Arthritis and rheumatism* 56:2267-2277.
290. Hopewell S, Loudon K, Clarke MJ, et al. 2009. Publication bias in clinical trials due to statistical significance or direction of trial results. In: Collaboration TC editor; p. 26.
291. Roush JK. 2015. The potential tyranny of statistical power. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 28:225.
292. Houle TT, Stump DA. 2008. Statistical significance versus clinical significance. *Seminar in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* 12:5-6.
293. Kazdin AE. 1999. The meanings and measurements of clinical significance. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 67:332-339.
294. Fitzpatrick N, Solano MA. 2010. Predictive variables for complications after TPLO with stifle inspection by arthrotomy in 1000 consecutive dogs. *Veterinary surgery* 39:460-474.
295. Steel CM, Pannirselvam RR, Anderson GA. 2013. Risk of septic arthritis after intra-articular medication: a study of 16,624 injections in Thoroughbred racehorses. *Australian veterinary journal* 91:268-273.
296. Jimenez PA, Glasson SS, Trubetskoy OV, et al. 1997. Spontaneous osteoarthritis in Dunkin Hartley guinea pigs: histologic, radiologic, and biochemical changes. *Laboratory animal science* 47:598-601.
297. Chateauvert J, Pritzker KP, Kessler MJ, et al. 1989. Spontaneous osteoarthritis in rhesus macaques. I. Chemical and biochemical studies. *The Journal of rheumatology* 16:1098-1104.
298. Carlson CS, Loester R, Jayo MJ, et al. 1994. Osteoarthritis in *Cynomolgus* Macaques: A Primate Model of Naturally Occurring Disease. *J Orthop Res* 12:331-339.

299. Vandeweerd JM, Hontoir F, Kirschvink N, et al. 2013. Prevalence of naturally occurring cartilage defects in the ovine knee. *Osteoarthritis Cartilage* 21:1125-1131.
300. Moreau M, Lussier B, Pelletier JP, et al. 2014. A medicinal herb-based natural health product improves the condition of a canine natural osteoarthritis model: a randomized placebo-controlled trial. *Research in veterinary science* 97:574-581.
301. Kuyinu EL, Narayanan G, Nair LS, et al. 2016. Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of orthopaedic surgery and research* 11:19.
302. Driban JB, Sitler MR, Barbe MF, et al. 2010. Is osteoarthritis a heterogeneous disease that can be stratified into subsets? *Clinical rheumatology* 29:123-131.