

Université de Montréal

Traitement de l'arthrose canine :
Étude d'efficacité d'une diète riche en Moule
verte (*Perna canaliculus*) et validité des
méthodes cliniques d'évaluation de l'effet
traitement

par

Sylvain Bichot

Département de biomédecine vétérinaire

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade

Maître ès sciences (M.Sc.)

en sciences vétérinaires

option pharmacologie

Août, 2013

©Sylvain Bichot, 2013

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Traitement de l'arthrose canine :
Étude d'efficacité d'une diète riche en Moule
verte (*Perna canaliculus*) et validité des
méthodes cliniques d'évaluation de l'effet
traitement

présenté par

Sylvain Bichot

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dr Younes CHORFI, président-rapporteur

Pr Éric TRONCY, directeur de recherche

Pr Bertrand LUSSIER, co-directeur de recherche

Dr Christophe CÉLESTE, membre du jury

Résumé

Introduction: L'arthrose est une maladie fréquente chez le chien. Même si des traitements palliatifs ont prouvé leur efficacité pour soulager les signes cliniques associés, aucun n'a permis de restaurer la structure des cartilages ou la fonction des patients. De nouvelles modalités de traitement sont proposées mais très peu d'évidences existent quant à leur efficacité. Un problème récurrent pour apporter plus d'évidence est le manque d'outils d'évaluation dûment validés.

Objectif: Evaluer l'efficacité d'une diète contenant de la moule verte, ainsi que la validité de différentes méthodes pour évaluer les effets de ce traitement sur la condition arthrosique de chiens de propriétaire.

Méthodes: Une étude prospective croisée contrôlée en aveugle a été conduite sur 30 chiens de propriétaires. Leur condition était stable et non traitée. Ils ont reçu une diète contrôle pendant 30 jours puis la diète thérapeutique pendant 60 jours. A J0 (inclusion), J30 (fin de la période contrôle) et J90 (fin du traitement), les concentrations plasmatiques en acides gras ω -3 (EPA et DHA), le pic de force verticale (PVF – critère de référence), un questionnaire multifactoriel standardisé (MFQ), et la conductance électrodermique (EDA) ont été mesurés. Deux fois par semaine, les propriétaires remplissaient un questionnaire sur la fonction spécifique à leur animal (CODI). L'activité locomotrice (actimétrie) a été enregistrée en continu sur 7 chiens.

Résultats: Aucun effet secondaire n'a été documenté excepté une augmentation du poids des chiens durant la période traitement. La localisation -thoracique ou pelvienne- du membre étudié et le poids ont interagi avec PVF. Les taux d'EPA et DHA ont augmenté durant la période traitement ($p=0.026$ et $p<0.001$, respectivement), tout comme PVF corrigé pour l'effet du poids et de la localisation du membre ($p=0.003$). La validité technique de PVF a été

vérifiée. La validité technique et selon-critère du CODI ont été vérifiées. MFQ n'a pas montré d'homogénéité suffisante entre ses différents composants, bien que les résultats du composite convergent partiellement avec PVF. L'EDA n'a pas montré de validité technique suffisante. L'actimétrie a montré une validité technique satisfaisante ainsi que des résultats convergeant avec ceux de PVF.

Conclusions: La méthode choisie comme référence a montré un effet bénéfique de la diète testée et sa validité technique a été vérifiée. À la fois, CODI et l'actimétrie ont été validés. La validité d'EDA et de MFQ a été remise en question. L'actimétrie a donné des résultats prometteurs, probablement complémentaires de PVF.

Mots clés: Moule verte, chiens, arthrose, plaque de force, activité locomotrice, conductance électrodermique, CODI.

Abstract

Background: Osteoarthritis is a frequent disease in dogs. Even though palliative treatments have been proven efficient in alleviating the associated clinical signs, none restored structure of the cartilage or complete function of the patients. New modalities have been proposed but evidence of their effects is weak. The weakness of the evidence is partially explained by the rare validation of the methods of assessment.

Objective: To assess the efficacy of a diet containing green-lipped mussel, as well as technical and concurrent validity of different assessment instruments for measuring the effects of a treatment on the osteoarthritic condition of client-owned dogs.

Methods: A prospective blinded controlled crossover study was performed on 30 client-owned dogs, suffering from stable and non-treated osteoarthritis. They received a 30-day control diet, followed by a 60-day experimental therapeutic diet. Punctual methods of assessment included Peak of Vertical Force (PVF – “gold standard”), standardized MultiFactorial Questionnaire (MFQ) and ElectroDermal Activity (EDA), and were assessed at D0 (inclusion), D30 (end of control) and D90 (end of treatment). Twice a week, the owners completed a case-specific functional (CODI) assessment. Motor activity (actimetry) was continuously recorded on seven dogs.

Results: No side effects were observed except the dogs gained weight during the second period. The location of the affected limb, thoracic or pelvic, as well as the body weight interfered with PVF. Both EPA and DHA increased during treatment ($p=0.026$ and $p<0.001$, respectively), as well as PVF after adjustment for location of the limb and weight ($p=0.003$). The technical validity of PVF was confirmed. Technical and concurrent validity of CODI were

documented. The reliability of MFQ was insufficient since the individual components did not show homogeneity. However, concurrent validity of the composite scale was partially noted. Preliminary results proved the technical and concurrent validity of actimetry.

Conclusions and clinical relevance: The “gold standard” method, PVF, showed a beneficial effect of the tested diet and its technical validity was verified. CODI and actimetry have been validated. The validity of MFQ and EDA has been questioned. Actimetry showed promising results, possibly complementing PVF.

Key words: Green-lipped mussel, dogs, osteoarthritis, force platform, motor activity, electrodermal conduction, CODI.

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
RECENSION DE LA LITTERATURE.....	2
I. L'ARTICULATION ARTHROSIQUE.....	2
A. L'ARTICULATION SYNOVIALE.....	2
a Description générale.....	2
b Les différentes structures (Figure 1).....	6
B. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHROSE.....	10
a La réaction endochondrale.....	11
i La matrice extracellulaire.....	11
ii Les chondrocytes.....	12
b La membrane et le liquide synoviaux.....	15
c Les ostéophytes.....	16
d L'os sous-chondral.....	17
C. MECANISMES DE LA DOULEUR ARTHROSIQUE.....	18
a Causes de la douleur arthrosique au niveau articulaire.....	18
b Mécanismes centraux de la douleur arthrosique.....	21
c La douleur arthrosique : une douleur chronique.....	22
II. TRAITEMENTS USUELS DE L'ARTHROSE.....	24
A. LES MODIFICATIONS DE LA VIE QUOTIDIENNE ET LES MESURES COMPLEMENTAIRES PROPOSEES DANS LE TRAITEMENT DE L'ARTHROSE.....	25
a L'exercice contrôlé.....	25
b La perte de poids.....	26
c Une ration équilibrée.....	27
d La restriction alimentaire.....	27
e L'acupuncture.....	28
f La physiothérapie, la chiropraxie.....	28
g L'homéopathie.....	29
B. LES ANTI-INFLAMMATOIRES ET MOLECULES A EFFETS SIMILAIRES.....	30
a Les AINS.....	30
i Effets secondaires systémiques.....	31
ii Effets sur le métabolisme articulaire.....	33
b Les glucocorticoïdes.....	35
c Les acides gras ω -3.....	36
C. LES ANTI-DOULEURS.....	38
a Opiïdes et apparentés (tramadol).....	38
b Antagonistes N-MDA.....	40
c Cannabinoïdes.....	40
d Antidépresseurs.....	42
i Inhibiteurs de la recapture de neuromédiateurs.....	42
ii Antidépresseurs tricycliques.....	43
e Anticonvulsivants.....	43
i Inhibiteurs de canaux sodiques.....	43
ii Gabapentinoïdes (gabapentine et prégabaline) : inhibiteurs des canaux calciques.....	43
f Autres molécules : les immunomodulateurs.....	44
D. LES PROCEDURES CHIRURGICALES.....	45
a Facilitation des processus anaboliques.....	46

i	Lavage ou irrigation	46
ii	Débridement des tissus anormaux.....	46
iii	Débridement du cartilage ou chondroplastie	47
iv	Greffes	47
b	<i>Diminution de la stimulation douloureuse</i>	48
c	<i>Ralentissement du processus arthrosique</i>	49
d	<i>Conclusion</i>	50
E.	<i>LES CHONDROPROTECTEURS OU « AGENTS ANTI-ARTHROSIQUES MODIFIANT LA MALADIE »</i>	51
a	<i>Les chondroprotecteurs oraux</i>	52
i	Glucosamine	52
ii	Chondroïtine.....	54
iii	Association glucosamine- chondroïtine	55
iv	Ascorbate de manganèse	56
v	Dasuquin®	56
vi	Cosequin®.....	57
vii	Diacerhéine	57
viii	Glyco Flex® et Lyproflex®	58
ix	S-adénosyl méthionine.....	58
x	Doxycycline	59
b	<i>Les chondroprotecteurs parentéraux</i>	59
i	Adequan® (polysulfates de glycosaminoglycanes-PSGAG)	59
ii	CartroPHEN-VET® (pentosan polysulfate ou PPS)	60
iii	Acide hyaluronique intra-articulaire.....	62
c	<i>Preuves expérimentales en attente de confirmations cliniques</i>	63
i	Biphosphonates.....	63
ii	Les chélateurs de radicaux libres.....	63
d	<i>Nouvelles perspectives de recherche</i>	64
F.	<i>LES ALIMENTS FONCTIONNELS:</i>	65
A	<i>Moule verte</i>	65
B	<i>Poudre de bois de velours de Wapiti</i>	66
C	<i>Extraits de safrans indiens et javanais (P54FP®)</i>	66
D	<i>Concentré spécial de protéines du lait de vaches hyperimmunisées</i>	67
e	<i>Aquamin® (Calcium extrait d'algues rouges)</i>	67
F	<i>Brachystemma calycinum D. Don</i>	67
g	<i>Autres</i>	68
G.	<i>LES DIETES THERAPEUTIQUES</i>	68
H.	<i>CONCLUSION</i>	71
III.	<i>EVALUATION CLINIQUE DE L'EFFICACITE DES DIFFERENTS TRAITEMENTS</i>	73
A.	<i>EVALUATION DE LA FONCTION LOCOMOTRICE</i>	74
a	<i>Analyse cinétique de la démarche par la plaque de force</i>	74
b	<i>Analyse cinématique</i>	77
c	<i>Analyse subjective de la fonction (examen orthopédique)</i>	78
d	<i>Mesure télémétrique de l'activité locomotrice (Actimétrie)</i>	79
B.	<i>EVALUATION GENERALE DU NIVEAU DE DOULEUR RESSENTIE</i>	80
a	<i>Echelles de notation :</i>	80
b	<i>Activité électrodermique</i>	82
c	<i>Activité hypothalamo-hypophysaire-surrénalienne</i>	83
C.	<i>EVALUATION DES CONSEQUENCES SUR LA QUALITE DE VIE</i>	84

a	<i>Echelles multifactorielles</i>	85
b	<i>Etude du comportement : Scores psychométriques standardisés</i>	85
i	Importance de l'étude du comportement.....	85
ii	Importance de l'évaluation par le propriétaire à la maison.....	86
iii	Limites des scores standardisés.....	87
c	<i>Questionnaires spécifiques d'évaluation fonctionnelle</i>	88
i	Les questionnaires « personnalisés ».....	88
D.	<i>EVALUATION DES CHANGEMENTS STRUCTURAUX :</i>	89
a	<i>L'imagerie</i>	89
b	<i>Les marqueurs sériques et urinaires du métabolisme cartilagineux</i>	90
E.	<i>METHODES SUBJECTIVES ET METHODES OBJECTIVES</i>	91
IV.	SOURCES DOCUMENTAIRES.....	96
INTRODUCTION AUX MANUSCRITS DES ARTICLES		149
ARTICLE 1		150
	ABSTRACT.....	151
	RÉSUMÉ.....	151
	MATERIALS AND METHODS.....	154
	RESULTS.....	159
	DISCUSSION.....	161
	REFERENCES.....	168
ARTICLE 2		183
	ABSTRACT.....	184
	RESULTS.....	188
	DISCUSSION.....	200
	CONCLUSIONS.....	205
	METHODS.....	205
	REFERENCES.....	217
DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS		230
V.	EFFETS DU TRAITEMENT (HYPOTHESE 1).....	230
A.	<i>LA PRISE DE POIDS</i>	231
B.	<i>LA LOCALISATION ANATOMIQUE DU MEMBRE ATTEINT</i>	231
C.	<i>LES EFFETS DE LA DIETE CONTROLE</i>	232
D.	<i>UNE CAPACITE DE REPONSE POSSIBLEMENT INSUFFISANTE</i>	232
E.	<i>LE NOMBRE DE CHIENS</i>	234
F.	<i>UN EFFET PLATEAU</i>	234
VI.	TAUX SERIQUES D'EPA ET DHA (HYPOTHESE 2).....	234
VII.	VALIDATION DES AUTRES OUTILS TESTES (HYPOTHESES 3 ET 4).....	235
A.	<i>QUESTIONNAIRE SPECIFIQUE (CSOM/CODI - TABLE II ET FIGURE 1 ARTICLE 2)</i>	235
B.	<i>QUESTIONNAIRE STANDARDISE (MFQ - ANNEXE II ; FIGURE 3 ARTICLE 2)</i>	239
C.	<i>CONDUCTANCE ELECTRODERMIQUE (EDA - FIGURE 1 ARTICLE 2)</i>	241
D.	<i>ACTIMETRIE (ETUDE PILOTE - FIGURE 2 ARTICLE 2)</i>	242
E.	<i>RÉSUMÉ SUR LA VALIDATION DES OUTILS</i>	243
VIII.	LE CALCUL DE LA TAILLE DE L'EFFET (FIGURES 1 ET 2 DE L'ANNEXE I).....	244
IX.	AUTRES LIMITATIONS DE L'ETUDE.....	245
	CONCLUSIONS.....	246
	RÉFÉRENCES.....	248

ANNEXES XVII
ANNEXE 1 : TAILLE DE L'EFFETXVII
ANNEXE 2 : SCORE MULTIFACTORIEL MFQXX

Liste des tableaux

ARTICLE 1

Tableau I	Composition of the main nutrients of diets for dogs	175
Tableau II	Categories of the client-specific outcome measure (CSOM)	176
Tableau III	Demographic characteristics of the dogs' sample	177
Tableau IV	Body weight, peak vertical force (PVF), and client-specific outcome measure (CSOM) by time period (D0, D30 and D90) in N= 23 dogs	178
Tableau V	Systematic review of clinical trials using peak vertical force (PVF) for establishing treatment efficacy compared to placebo in canine osteoarthritis	179

ARTICLE 2

Tableau I	Mean dog coefficient of variation on the primary clinical endpoints	188
Tableau II	Client-specific outcome measures (CSOM)	190
Tableau III	Spearman's rank correlation coefficient of PVFBW in comparison with measures	195

Liste des figures

Figure 1	Schéma d'une articulation synoviale avant (A) et après avoir exposé la cavité médullaire (B)	3
Figure 2	Structure d'un aggrécane	5
Figure 3	Association entre l'alignement des chondrocytes et l'organisation des fibres de collagènes dans les différentes couches du cartilage hyalin	9
Figure 4	Vue microscopique (x 180) après coloration Safranin O-fast Green d'un cartilage articulaire normal (A) et d'un cartilage articulaire souffrant d'arthrose modérée (B)	11
Figure 5	Mesure des forces de réaction à l'appui d'un membre par la plaque de force sur les axes médio-latéral (Fx), crânio-caudal (Fy) et vertical (Fz)	74

ARTICLE 1

Figure I	Histogram of the concentrations of plasma eicosapentaenic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) by time period	172
Figure 2	Variations of client-specific outcome measures (CSOMs) within time	173
Figure 3	Motor activity (MA) by time period.	174

ARTICLE 2

Figure 1	Evolution of primary clinical endpoints in osteoarthritic dogs fed subsequently with control and green-lipped mussel-enriched diets	224
Figure 2	Evolution of motor activity in osteoarthritic dogs fed subsequently with control and green-lipped mussel-enriched diets	226
Figure 3	Evolution of a multifactorial questionnaire (MFQ) in osteoarthritic dogs fed subsequently with control and green-lipped mussel-enriched diets	228

ANNEXES

Figure 1	Tailles de l'effet (ES) obtenues pour les différents instruments utilisés	xviii
Figure 2	Comparaison graphique des valeurs de ES en fonction des activités choisies pour le CODI	xix

Liste des sigles ou abréviations

BW: *Body weight*, Poids corporel

CODI: *Cincinnati Orthopedic Disability Index*, questionnaire spécifique au patient

CSOM: *Client-Specific Outcome Measure*, Mesure avec critère spécifique au client

EDA: *Electrodermal activity*, Conductance électrodermique

GLM ANOVA: Analyse de variance selon un modèle général linéaire

MAC-TAR: *McMaster Toronto ARthritis patient preference questionnaire*, questionnaire spécifique pour les patients atteints d'arthrose

MFQ: *Multifactorial questionnaire*, Questionnaire multifactoriel

OA: *Osteoarthritis*, arthrose

OCD: *Osteochondritis dissecans*, ostéochondrite disséquante

PVF: *Peak of vertical force*, Pic de force verticale

SD: *Standard deviation*, Écart-type

SE: *Standard error*, Erreur-type

WOMAC: *Western Ontario and McMaster university osteoarthritis index*, questionnaire spécifique pour les patients atteints d'arthrose.

Remerciements

MEDICAL ROYAL-CANIN® pour leur soutien logistique et pour nous avoir fourni les différents aliments utilisés dans ce projet.

Pr Éric TRONCY et **Pr Bertrand LUSSIER** pour la confiance qu'ils m'ont témoignée dès le premier jour, pour la qualité de leur supervision et de leur aide, ainsi que pour leur persévérance sans laquelle cette maîtrise n'aurait jamais été.

Dr Younes CHORFI et **Dr Christophe CÉLESTE** pour l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de siéger dans mon jury.

Dr Pascale RIALLAND pour son aide précieuse dans tous les aspects professionnels ou personnels de mes années de maîtrise : articles, cours... Merci d'avoir autant aidé quelqu'un « qui a dû être si c..... avec sa mère !!! »

Maxim MOREAU pour avoir partagé son temps, son expérience et son savoir dans la conduction d'un projet de recherche. Tu m'as apporté énormément, pour ce projet et ceux qui ont suivi.

Dr Francis BEAUDRY pour avoir partagé ses compétences et ses instruments de mesure.

Dr Philippe PIBAROT sans qui toute cette aventure au Canada n'aurait sûrement jamais commencé.

Micheline St-GERMAIN pour son soutien continuels lors de mes études à l'Université de Montréal.

Simon AUTHIER, Dominique GAUVIN, Valérie MORIN, Colombe OTIS et Norma YBARRA pour leur soutien quotidien pendant les années passées au labo.

Dr Guy BEAUCHAMP pour son aide précieuse pour les statistiques.

Mes amis (enfants inclus) Laureline et Jérôme, Mélanie et Yves, Geneviève et Pierre-Yves, Benoit, Sonia et Jocelyn, Cheryl et Mike, Leo et Giac, Alex, Nathalie et François, Sarah et Matthieu, Gaëlle et Julien, Aurélie et JB, Clotilde et Philou, Fred et Bubble, Marion, Doudou, Carine et James pour votre amitié si chère !

Dre Alice DEFARGES-BICHOT et nos enfants, mes grands-parents, mes parents, Nanie et Raphaël. Merci pour tout ce que vous m'avez donné envie, et la possibilité, de faire. Mon papi, ce sera la seule de mes thèses que tu ne liras pas...

INTRODUCTION

Comme chez l'homme, l'arthrose est une pathologie extrêmement répandue chez le chien.^a De plus, la population canine d'Amérique du Nord est vieillissante, et une augmentation de ce chiffre est fortement suspectée. Cette pathologie touche aussi la population féline.¹ Cette pathologie cause une diminution progressive de la qualité de vie des animaux atteints. A l'heure actuelle, de nombreux traitements sont proposés, qu'ils soient d'ordre médical ou chirurgical. Les résultats obtenus chez l'animal ou chez l'homme sont très variables, trop souvent décevants et toujours limités, notamment dans le long terme. La recherche pour le traitement de l'arthrose répond donc à une demande importante de la part des propriétaires d'animaux, des médecins humains, des vétérinaires, et de la part des industries pharmaceutiques et autres neutraceutiques. Devant la multitude et la disparité des traitements proposés, le manque d'évidence factuelle en médecine vétérinaire est flagrant.² L'efficacité limitée des traitements et le manque d'outils validés pour l'évaluation de ces traitements sont en cause.³ La révision de littérature suivante pose, dans une première partie, les bases anatomiques, physiologiques et physiopathologiques nécessaires à la compréhension de ce projet. Dans une deuxième partie, nous dresserons un état des lieux des connaissances actuelles au sujet des traitements de l'arthrose chez le chien. Dans une troisième partie sera présentée une revue des différentes méthodes utilisées pour évaluer les effets des divers traitements testés.

^a Pfizer Animal Health proprietary market research; Sondage auprès de 200 vétérinaires, 1996.

RECENSION DE LA LITTERATURE

I. L'ARTICULATION ARTHROSIQUE

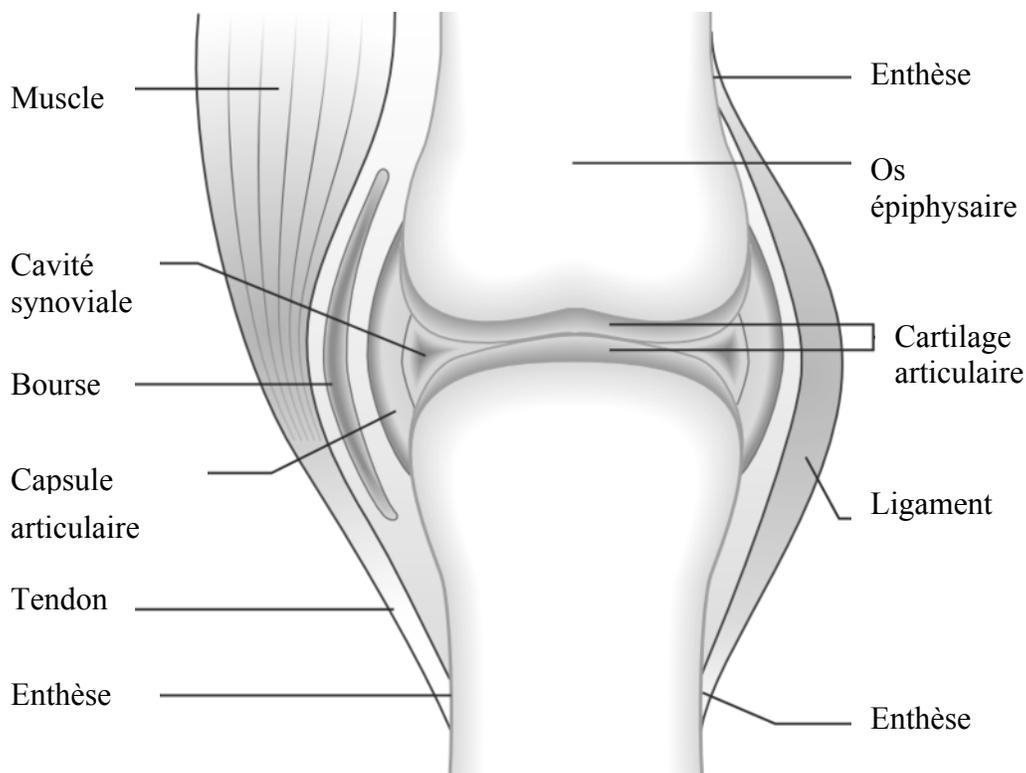
Afin de mieux expliquer les phénomènes pathologiques de l'arthrose, il est important de considérer dans un premier temps l'articulation saine. Pour cette étude, nous limiterons notre description à l'articulation synoviale, aussi appelée diarthrose.

A. L'ARTICULATION SYNOVIALE

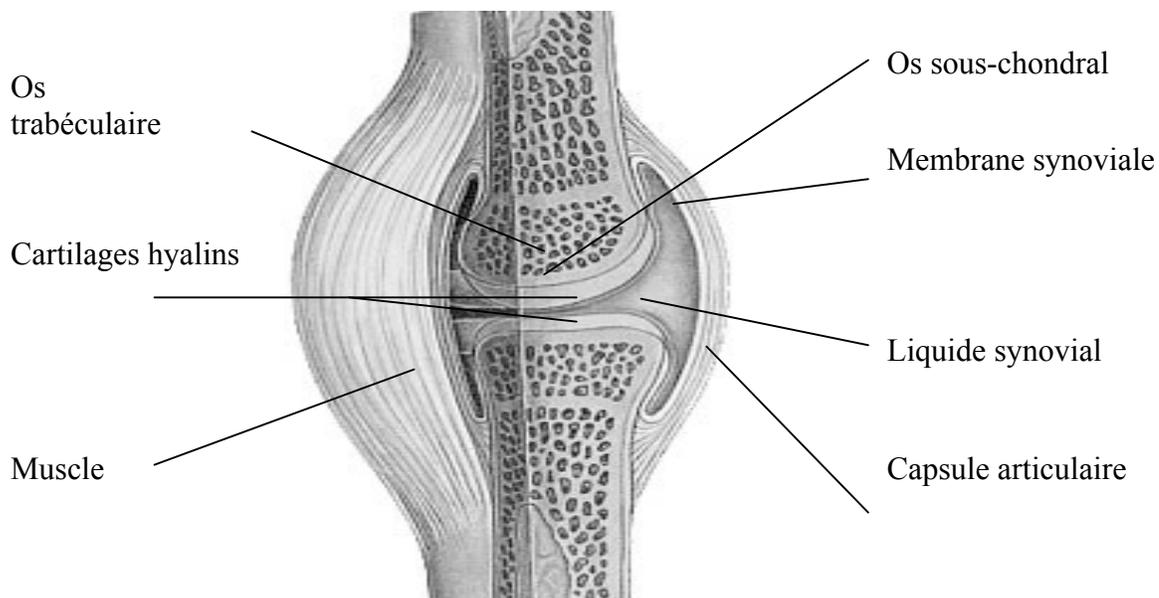
a Description générale

L'articulation synoviale facilite le mouvement pour lequel elle est prévue, limite la quantité d'énergie nécessaire pour le réaliser et permet que ce mouvement soit indolore.^{2,4,5}

L'articulation synoviale supporte aussi généralement une grande partie du poids du corps (le reste étant partagé entre les os et les muscles) et a pour rôle de distribuer cette charge.⁵ Les structures propres à l'articulation sont la capsule articulaire, les ménisques (propres à certaines articulations comme le genou ou l'articulation temporo-mandibulaire), les ligaments, la membrane synoviale, le liquide synovial et les cartilages hyalins (Figure 1).



A



B

Figure 1 : Schéma d'une articulation synoviale avant (A) et après avoir exposé la cavité médullaire (B) (D'après <http://vetsci.co.uk/wp-content/uploads/2011/06/Joint.png> et http://www.gallimard-jeunesse.fr-image_sci_body017.jpg)

Les structures de l'articulation sont des tissus de connexion spécialisés appelés tissus conjonctifs. Ces différents tissus sont composés de cellules mésenchymateuses (fibroblastes pour la plupart, chondrocytes pour les cartilages, ostéoblastes/ -clastes dans l'os sous-chondral) et de fibres extracellulaires. Ces fibres sont composées de protéines synthétisées par les cellules mésenchymateuses. Les principales sont le collagène, l'élastine et la fibrilline. Piégées entre ces fibres, d'autres molécules composent la partie non structurale des matrices extracellulaires : la substance de base ou *ground substance*.⁶

Le **collagène** est une protéine synthétisée par les fibroblastes qui procure la structure de support du cartilage. Cette protéine fibreuse forme des agrégats dans toutes les matrices extracellulaires. Elle procure résistance et intégrité. Au moins 27 types de collagène sont décrits selon leur composition en acides aminés, la taille des molécules, la structure et leur capacité à former des agrégats en fibrilles, eux-mêmes arrangés en structures fibrillaires ou en rayons hexagonaux.^{6,7}

L'**élastine** permet aux tissus de s'étirer. Contrairement au collagène, les structures formées par l'élastine sont compactes et non organisées. Elles peuvent s'étirer pour atteindre le double de leur longueur.⁶

La **fibrilline** s'arrange en fibrilles qui forment une gaine autour des amas d'élastine et garantissent leur intégrité.⁶

Les principaux composants de la substance de base (ou *ground substance*) sont les **protéoglycanes**. Bien que non structurales, elles permettent résistance et flexibilité aux matrices extracellulaires.⁶ Leurs structures (Figure 2) varient selon les tissus mais l'organisation générale reste constante. Une protéine centrale sert de noyau sur lequel sont attachées de manière covalente des molécules de glycosaminoglycanes (autrefois appelées

mucopolysaccharides). Ces glycosaminoglycane dont les plus communes sont le sulfate de chondroïtine, le sulfate de dermatane ou de kératane, sont composées de la répétition de disaccharides. Une de leurs extrémités forme une région de fixation par laquelle les glycosaminoglycane s'attachent sur le noyau protéique.⁶

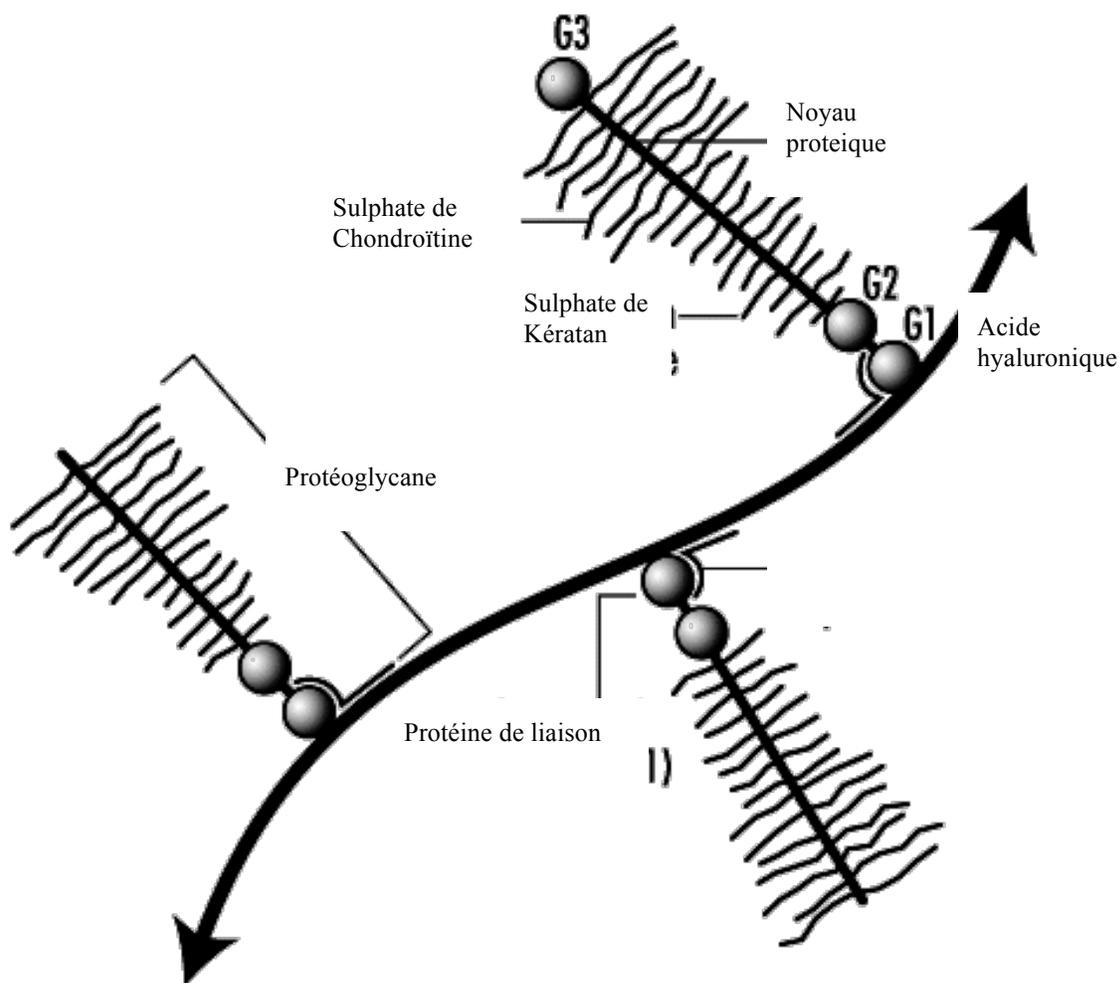


Figure 2 : Structure d'un aggrecane (D'après

http://www.ilo.org/safework_bookshelf/english?content&nd=857170059 et Boskey,

2003).⁶ G1, G2 et G3 sont des protéines globulaires.

Les monomères d'acide hyaluronique (AH), ou hyaluronanes, sont aussi des glycosaminoglycanes mais ils ne s'attachent pas sur un noyau protéique. Ils fixent des protéoglycanes de manière non covalente. Ainsi, un AH en fixant une multitude de protéoglycanes forme des agrégats géants⁸ (voir Figure 2). Ces agrégats sont responsables de la viscoélasticité et de la semi-perméabilité des cartilages, de la membrane synoviale et des disques intervertébraux. D'autres protéoglycanes ne s'aggrègent pas et semblent participer à la régulation de la composition de la matrice extracellulaire, comme c'est le cas de l'épiphycane dans les plaques de croissance.⁶

Il existe enfin beaucoup d'autres molécules dans les matrices extracellulaires (autres glycoprotéines, protéolipides, phosphoprotéines...) qui jouent des rôles de structure et de régulation.⁶

b Les différentes structures (Figure 1)

Les revues de littérature traitant ce sujet abondent.^{4,5,9,10} Un résumé est ici proposé.

La capsule articulaire se compose d'une épaisse partie fibreuse dont la face interne est recouverte d'une fine couche appelée subsynovium (ou *lamina propria*), elle-même recouverte de la membrane synoviale (ou *synovium*). La partie fibreuse de la capsule est composée d'un réseau de fibres en trois dimensions. Ces différentes orientations lui confèrent flexibilité et résistance aux forces de tension auxquelles elle est soumise. Sa composition en élastine (protéine capable d'élongation) confère à la capsule articulaire plus ou moins d'élasticité. La vascularisation sanguine, lymphatique, et l'innervation traversent la couche fibreuse et se ramifient dans le subsynovium pour atteindre le synovium et les ligaments de l'articulation.

Les ligaments contiennent de longues bandes de fibres de collagène régulières et parallèles. Par cette organisation, ils sont flexibles et résistent aux forces de tension.

La membrane synoviale est composée de différentes couches. Elle a deux rôles principaux : produire le liquide synovial (synoviocytes type B) et un rôle phagocytaire (synoviocytes type A). Les synoviocytes de type B synthétisent l'AH contenu dans le liquide synovial. La membrane synoviale ne possède pas de membrane basale, ce qui facilite les échanges de molécules à faible poids moléculaire.

Le liquide synovial est essentiellement un ultrafiltrat de plasma. Dû à l'absence de membrane basale, les molécules de moins de 10 kDa diffusent librement. Par exemple, l'AH à faible poids moléculaire fuit facilement hors du synovium, quand l'AH à haut poids moléculaire (>10 kDa) reste prisonnier.⁶ A ces ions et ces petites molécules, s'ajoutent dans le liquide l'AH synthétisé par les synoviocytes. Le glucose pénètre par diffusion facilitée. Dans le liquide synovial, 90 % des cellules présentes sont des cellules synoviales, des lymphocytes ou des monocytes. Les neutrophiles sont présents physiologiquement et représentent environ 10 % du compte cellulaire. Le liquide synovial assure la nutrition des cartilages articulaires. L'AH confère au liquide synovial sa forte viscosité. Ainsi, le liquide synovial a la capacité d'absorber une partie de l'énergie produite lors du mouvement et de la mise en charge de l'articulation.

Les cartilages articulaires sont des réseaux de fibrilles de collagène (50% du poids sec) dans lesquelles sont piégés principalement des protéoglycanes (35% du poids sec) et des chondrocytes. A l'état physiologique chez l'adulte, les cartilages articulaires contiennent 70% d'eau.⁵ Avec un rôle clé dans la formation des agrégats géants, l'AH compose 0,5 à 2,5% du poids sec des cartilages. Comme dans le liquide synovial, les protéoglycanes permettent aux

cartilages d'absorber l'énergie qu'ils reçoivent. Les changements d'orientation des fibrilles de collagène entre les différentes épaisseurs du cartilage (Figure 3) permettent à la fois une grande résistance aux forces de cisaillement pour la couche superficielle et une grande résistance aux forces de compression pour les couches plus profondes. Le type de collagène le plus important dans la formation de ces fibrilles est le collagène de type II.⁴

Les propriétés mécaniques des cartilages articulaires sont en partie expliquées par deux phénomènes qui s'opposent. Le premier est le pouvoir hygroscopique des glycosaminoglycanes. Grâce à leurs charges négatives, ces molécules attirent de l'eau. Cette propriété entraîne le gonflement des cartilages. Le réseau formé par les fibrilles de collagène impose une limite à ce gonflement et ralentit la fuite des molécules d'eau, à l'image d'une membrane poreuse, lorsque le cartilage est comprimé. Ceci explique pourquoi les propriétés du cartilage varient selon la vitesse de compression (viscoélasticité), et pourquoi les cartilages avec des fibrilles de collagènes endommagées sont plus volumineux et plus fragiles que ceux contenant des fibrilles intactes.⁹

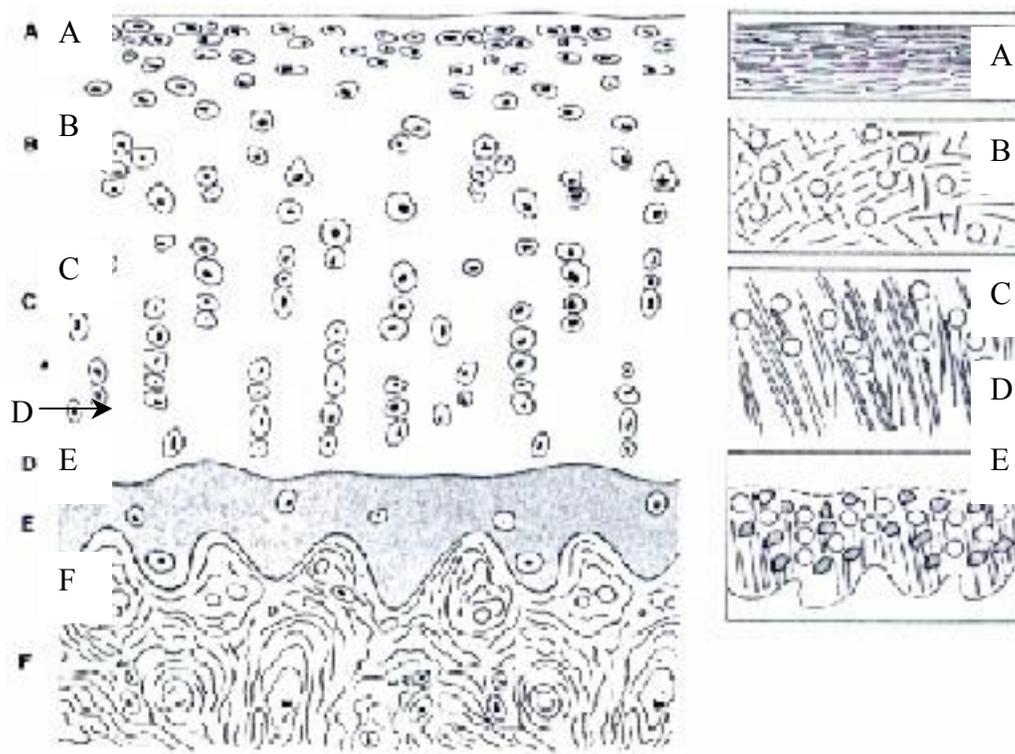


Figure 3 : Association entre l'alignement des chondrocytes et l'organisation des fibres de collagènes dans les différentes couches du cartilage hyalin (D'après <http://users.skynet.be>).

Sont représentées les couches superficielle ou tangentielle (A), moyenne ou de transition (B), profonde ou radiale (C), et basale où le cartilage est calcifié (E). D représente la ligne de niveau (« Tidemark ») où le cartilage devient calcifié et où s'arrêtent les vaisseaux sanguins provenant de l'os sous-chondral (F). L'arrangement des fibrilles correspondant à chaque couche de cartilage est représenté dans la partie de droite du schéma.

L'os sous-chondral est un mélange d'os trabéculaire et d'os compact. L'os trabéculaire a la capacité de se déformer d'environ 50 % lorsqu'il est soumis à des forces compressives. Cela permet à l'os sous-chondral d'assurer une congruence parfaite pour les

cartilages lors de l'appui. Même si la majorité de l'appui est portée par les tissus mous, l'os sous-chondral participe à la dissipation du stress appliqué sur l'articulation. Le fait qu'une augmentation de la rigidité de l'os sous-chondral entraîne des lésions du cartilage montre la relation fonctionnelle étroite entre ces deux structures.⁵

B. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ARTHROSE

Une association américaine (académie américaine des chirurgiens orthopédiques - AACO) a proposé un consensus pour la définition de l'arthrose. Elle définit l'arthrose ou maladies arthritiques comme le résultat d'événements mécaniques et biologiques qui déstabilisent la relation normale entre la synthèse et la dégradation des chondrocytes et de la matrice extracellulaire des cartilages articulaires, et de l'os sous-chondral.^{4,11} Il en résulte une perte de la résistance des cartilages aux forces de compression et de tension.¹² Chez le chien, l'arthrose est une maladie dégénérative progressive secondaire à un désordre musculosquelettique congénital ou acquis.¹⁰ Plusieurs arthropathies sont reconnues comme origines potentielles du processus d'arthrose canine. Parmi les plus fréquentes, on note l'incongruence articulaire (incluant la dysplasie du coude ou de la hanche), l'ostéochondrite disséquante, la non-union du processus anconé et la luxation de rotule.¹³ Des désordres musculosquelettiques acquis comme des traumatismes du cartilage, une fracture intra-articulaire, les luxations traumatiques ou de l'instabilité comme lors de luxation de rotule congénitale ou de rupture du ligament croisé crânial conduisent aussi à des phénomènes d'arthrose.¹³ Il est souvent accepté que chez le chien, les facteurs mécaniques prédominent dans l'étiologie de l'arthrose^{5,10,13} bien qu'une origine inflammatoire ou un phénomène d'arthrose primaire soit évoqué(e) dans de rares cas.⁹

Bien qu'extrêmement reliés dans la physiopathologie, les changements subis par le cartilage, la membrane et le liquide synoviaux, et l'os sous-chondral seront développés séparément.

a *La réaction endochondrale*

i **La matrice extracellulaire**

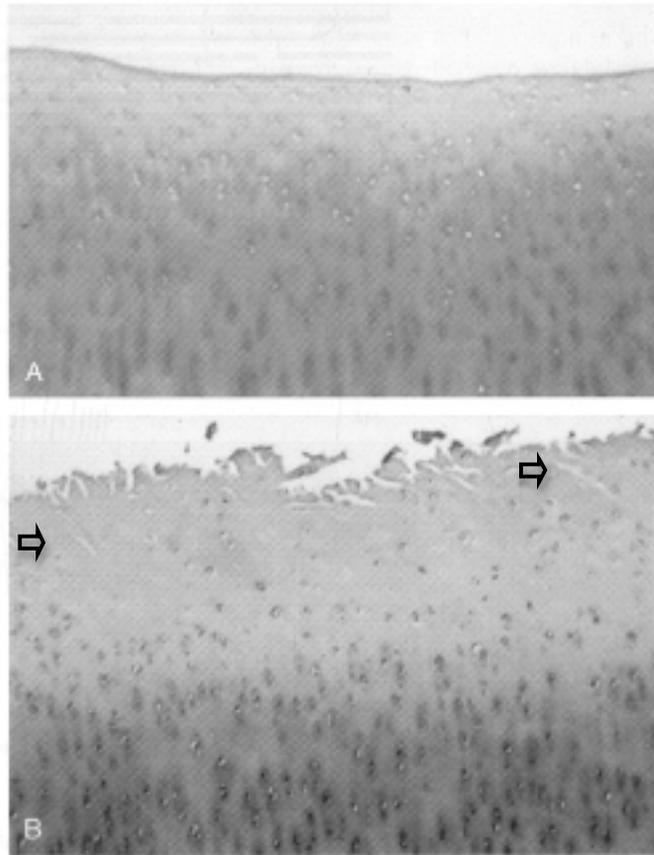


Figure 4 : Vue microscopique (x 180) après coloration Safranin O-fast Green d'un cartilage articulaire normal (A) et d'un cartilage articulaire souffrant d'arthrose modérée (B). La fibrillation de la couche tangentielle, ainsi que la formation de microfissures (flèches) est évidente sur la photo B.⁵

Dans le cas d'arthrose secondaire, les forces anormales sur les cartilages normaux provoquent des microfractures du cartilage qui peuvent s'étendre jusqu'à l'os sous-chondral (Figure 4). La matrice extracellulaire est endommagée. La taille des aggrécanes diminue sous l'effet des aggrécanasés produites par les chondrocytes.¹⁴⁻¹⁶ Les fibrilles de collagène perdent leur organisation¹⁷ sous l'effet des métalloprotéinases (MMPs), notamment MMP-1, 8, 13 et 14, aussi produites par les chondrocytes.^{10,18}

L'augmentation du catabolisme de la protéine maintenant l'assemblage des fibrilles de collagène de type II est aussi incriminée.^{19,20} La diminution de la taille des aggrécanes et la perte de l'organisation des fibrilles de collagène causent une accumulation anormale d'eau puisque le réseau de collagène ne limite plus l'effet hygroscopique des glycosaminoglycans. S'ensuivent un gonflement et une fragilisation des cartilages¹⁰ et la perte de leurs propriétés d'absorption et de distribution de l'énergie.¹⁰ Ce cercle vicieux entraîne une augmentation progressive des lésions, la réduction de l'épaisseur du cartilage, et la sclérose de l'os sous-chondral.²¹

ii Les chondrocytes

Au fur et à mesure de la progression de l'arthrose, les chondrocytes subissent aussi des modifications phénotypiques : ils deviennent soit hypertrophiques, soit se transforment en cellules « macrophages-like » ou en cellules apoptotiques. Ils contribuent ainsi à l'hypertrophie des cartilages, à leur dégradation et à leur minéralisation. On décrit trois phases de cette réaction endochondrale :

- 1^{ère} Phase : hypertrophie. Les chondrocytes hypertrophiques augmentent l'hydratation de la matrice cartilagineuse et accélèrent son renouvellement. Ils augmentent leur production de collagène de type II mais ils libèrent aussi des types de collagène

normalement absents (collagène type I, IIA, III et X). Cette augmentation de production associée à la multiplication des chondrocytes conduit à l'hypertrophie du cartilage.²²

- 2^{ème} Phase : augmentation des processus cataboliques. Les chondrocytes produisent à ce moment-là plus d'enzymes de dégradation et moins de molécules de la matrice.²³ Les principales enzymes impliquées seraient la MMP-13 et l'aggrécanase-2.²⁴ Ce déséquilibre entre anabolisme et catabolisme est responsable de la dégradation progressive de la matrice et de la perte de ses propriétés mécaniques, notamment de transmission et de distribution des forces compressives à l'os sous-chondral.^{4,25}
- 3^{ème} Phase : apoptose. On observe une augmentation du nombre de chondrocytes apoptotiques. Le nombre de chondrocytes viables va progressivement diminuer menant à une hypocellularité du cartilage.^{4,26,27}

La phase hypertrophique est de courte durée et elle est rapidement surpassée par les processus cataboliques bien que ces deux phénomènes soient amplifiés.^{23,28} Ce déséquilibre entre les processus cataboliques et anaboliques cause l'incapacité des chondrocytes à réparer la matrice du cartilage hyalin.^{4,5,10} La surexpression de cytokines inflammatoires par les chondrocytes des cartilages arthrosiques peut expliquer ce déséquilibre.^{13,27} Parmi ces cytokines, l'interleukine-1 (IL-1) et le *Tumor Necrosis Factor* (TNF) semblent jouer des rôles prépondérants.¹³ Les protéines morphogéniques osseuses (BMPs) ont été incriminées dans le maintien du phénotype normal des chondrocytes articulaires sans que le rôle des BMPs ait été identifié dans le processus arthrosique.²⁹

La première cause de dégradation des cartilages est l'augmentation de l'activité protéolytique dirigée contre les agrécanes (par la stromélysine et les agrécanases) et contre le collagène de type II (par les collagénases). Les chondrocytes sont la principale source de ces enzymes et donc de l'activité de dégradation de la matrice des cartilages dans l'arthrose.^{5,23} L'IL-1 serait le principal stimulateur de la synthèse par les chondrocytes de ces enzymes de dégradation appartenant à la famille des MMPs.²³ L'IL-1 aurait donc un rôle clé dans l'initiation et l'entretien de l'arthrose.³⁰ Cependant, l'IL-1 jouerait aussi un rôle important dans l'homéostasie des cartilages sains.³¹ D'autres facteurs inflammatoires comme IL-6, TNF- α ou l'oncostatine M auraient un rôle modulateur sur l'action d'IL-1 et transformeraient l'action d'IL-1 en action catabolique.^{32,33} Ceci est corroboré par l'augmentation significative des concentrations d'IL-6 et TNF- α dans les modèles de développement d'arthrose par rupture des ligaments croisés.³⁴

Une étude a montré la synthèse de prostaglandines de type E2 par les cartilages arthrosiques en culture.³⁵ Les prostaglandines ainsi produites diminuent la synthèse des protéoglycanes et augmentent la dégradation des agrécanes et du collagène.^{36,37} L'inhibition de la synthèse des prostaglandines serait donc bénéfique pour préserver les cartilages.³⁸ En plus du clivage par les MMPs, la matrice subit les effets délétères des radicaux libres générés par les chondrocytes inflammatoires.^{13,39}

Ce clivage cause une diminution de la taille, ainsi qu'une altération de la structure et de l'organisation des fibrilles de collagène. Ce changement est irréversible puisque les fibres de collagène de type II endommagées ne seront ni réparées ni remplacées.^{27,40} Macroscopiquement, ceci correspond à la fibrillation de la couche tangentielle.⁹ Les forces normales sont alors associées à des stress anormaux et les dommages atteignent les couches

plus profondes par création de fissures ou par stimulation des chondrocytes. Le cartilage s'érode progressivement jusqu'à disparaître, ce qui correspond au stade d'éburnation.⁹

b *La membrane et le liquide synoviaux*

L'activation du tissu synovial est aussi une observation fréquente dans le processus d'arthrose.⁴¹ La libération de facteurs de dégradation du cartilage active des phénomènes inflammatoires. Cela induit la relâche d'une large gamme de facteurs cataboliques.¹³ Bien que souvent décrit comme variable et de niveau faible, il est indéniable qu'un processus inflammatoire prend part au développement de l'arthrose ; certains auteurs évoquent même une importance fondamentale.²⁴ Ce processus inflammatoire peut être objectivé par le gonflement des articulations, l'efficacité thérapeutique des anti-inflammatoires, l'augmentation du nombre de macrophages et de lymphocytes T, des immunoglobulines, et par la présence des compléments activés (cascade du complément) et des cytokines inflammatoires dans la synovie.¹³ Les macrophages semblent jouer un rôle prépondérant dans la réponse du *synovium*, notamment par leur production d'IL-1 β et de TNF- α ^{42,43} et pourraient constituer une cible très intéressante pour le traitement de l'arthrose.⁴¹ La membrane synoviale montre aussi des changements structuraux caractéristiques d'une inflammation chronique : une hyperplasie des synoviocytes, une infiltration par des cellules inflammatoires, ainsi que de la fibrose. Cette inflammation est secondaire à la libération dans le liquide synovial de produits de dégradation du cartilage, entraînant la relâche de prostaglandines E₂, de leucotriènes B₄ et C, et de cytokines par la membrane synoviale.⁴⁰ L'IL-1 β serait la cytokine majeure impliquée dans ce mécanisme.²⁴ Un processus auto-immun viendrait compléter et entretenir cette inflammation chronique.⁴⁴

Lors d'inflammation, la production de liquide synovial et la clairance des protéines qu'il contient augmentent.⁴ Il en résulte une dilution des protéoglycanes qui, associé à la dépolymérisation de l'AH, conduit à la diminution de la viscoélasticité et des propriétés lubrifiantes du liquide synovial.⁵ Ces changements augmentent les forces de friction auxquelles sont soumis les cartilages articulaires⁴ et diminuent la diffusion des nutriments essentiels à ces mêmes cartilages.⁹

L'inflammation de l'espace synovial ne serait cependant pas un événement primaire dans le développement de l'arthrose. Il constituerait une étape secondaire après un dommage structurel initial.^{4,5,45}

c *Les ostéophytes*

Les ostéophytes sont une composante majeure dans le processus de l'arthrose^{4,5,10} Ils sont constitués d'un noyau osseux recouvert d'un fibrocartilage. Ils se forment à la jonction entre la membrane synoviale et le périoste d'un côté, ou le périchondre de l'autre.⁴⁶ Leur rôle n'est pas élucidé mais un effet stabilisateur de l'articulation est suspecté.⁴⁷ Bien que l'instabilité mécanique représente l'étiologie la plus acceptée dans leur formation, il a été montré qu'un processus inflammatoire sans instabilité induisait aussi la formation d'ostéophytes ; notamment par l'effet de *Transforming Growth Factor-β*.^{46,47} Enfin, en accord avec leur localisation préférentielle, l'augmentation de la vascularisation lors d'inflammation est aussi une étiologie possible. Cette vascularisation supraphysiologique pourrait entraîner une ossification anormale des tissus par l'augmentation du dépôt des cristaux d'apatite.⁴

d *L'os sous-chondral*

Le rôle de la sclérose de l'os sous-chondral dans le processus de l'arthrose est difficilement appréciable.^{48,49} Certaines études animales montrent que la sclérose peut précéder les lésions cartilagineuses⁵⁰ mais d'autres études montrent que la sclérose est secondaire à des changements de propriétés du cartilage hyalin.^{48,51}

Un dérèglement du remodelage de l'os sous-chondral est prouvé lors d'arthrose. Les ostéoblastes, à l'image des chondrocytes, montrent un phénotype altéré dont une augmentation de la synthèse des facteurs de croissance. Bien que la production d'IL-1 β reste comparable, les ostéoblastes produisent des niveaux plus élevés de TGF- β .⁵² Ce mécanisme est à la fois auto et paracrine. Il provoque une hypertrophie de la matrice osseuse trabéculaire, une augmentation de sa porosité et une réduction de l'épaisseur de l'os sous-chondral.^{49,51} De plus, ces ostéoblastes perdent leur sensibilité à l'action régulatrice de la parathormone,⁵³ ce qui peut expliquer la sclérose de l'os sous-chondral qui apparaît dans un deuxième temps.⁴⁸ Les changements mécaniques induits par la détérioration du cartilage semblent être primordiaux pour expliquer les changements structurels et métaboliques observés dans l'os sous-chondral. Mais à son tour, la perte des propriétés de l'os sous-chondral augmente le stress sur les cartilages et facilite l'apparition de nouvelles lésions.⁵¹

Les ostéoblastes arthrosiques produisent plus d'IL-6 et de TGF- β que les ostéoblastes normaux. Les microfissures et la néovascularisation offrent des voies de communication entre l'os sous-chondral et le cartilage. Une participation des cytokines d'origine sous-chondrale dans les phénomènes inflammatoires observés dans le cartilage et le liquide synovial est démontrée dans la dégradation du cartilage sans qu'un lien de cause à effet n'ait été établi.^{4,13} Certains auteurs pensent même que les changements se produisant dans le cartilage et dans

l'os sous-chondral ne sont pas reliés,⁵⁴ mais seulement dûs aux changements mécaniques induits par la détérioration du cartilage.⁴⁸

L'arthrose résulte donc de l'interaction de phénomènes mécaniques et biochimiques complexes, mettant en jeu des tissus spécialisés très différents mais interdépendants.²⁴ Des études épidémiologiques montrent que les animaux ayant développé de l'arthrose à une articulation sont plus à risque d'en développer à d'autres. Cela autorise à penser que la pathogénie de l'arthrose impliquerait aussi une composante systémique.^{5,44} Chaque individu a aussi une prédisposition particulière à développer de l'arthrose, suivant son bagage génétique,⁵⁵⁻⁵⁹ son âge,⁶⁰⁻⁶³ et des facteurs systémiques tels que l'obésité ou la taille.^{64,65} L'augmentation du stress supporté par les cartilages articulaires n'est pas la seule manière d'expliquer la relation entre obésité et arthrose.³⁵ Une augmentation des cytokines inflammatoires (ou adipokines) en circulation a été documentée, notamment pour IL-6 et TNF.⁶⁶

C. MECANISMES DE LA DOULEUR ARTHROSIQUE

La douleur est un signe prédominant chez les animaux atteints d'arthrose.⁶⁷ Dans la physiopathologie de cette maladie, de nombreuses causes de douleur sont identifiables.

a *Causes de la douleur arthrosique au niveau articulaire*

Tous les tissus articulaires et péri-articulaires, à l'exception des cartilages, contiennent des récepteurs produisant les influx douloureux : les nocicepteurs.^{67,68}

Les tissus péri-articulaires, notamment la capsule articulaire et les ligaments sont riches en nocicepteurs.⁶⁹ Ces récepteurs sont activés soit par étirement, soit par compression.^{69,70} La

capsule articulaire est soumise à ces contraintes durant le mouvement de l'articulation. Lors d'arthrose, la fibroplasie de la capsule diminue l'élasticité de la capsule, les nocicepteurs seront donc plus facilement stimulés.⁶⁷ Cette capsule peut aussi être étirée lors de subluxation, lors de distension par augmentation du volume de liquide synovial dans l'articulation par l'inflammation ou par diminution de l'élasticité lors de fibrose, lors d'une augmentation relative de la pression intra-articulaire par rapport à la pression atmosphérique. Ce dernier point explique l'augmentation des symptômes d'arthrose lors de mauvais temps.⁶⁸ Ce phénomène est utilisé pour le diagnostic: la manipulation de l'articulation provoque la compression du liquide synovial et l'étirement de la capsule articulaire. Cet étirement est indolore dans les circonstances physiologiques et douloureux lorsque l'articulation souffre d'arthrose, à cause de l'augmentation (relative or réelle) du volume du liquide synovial associé à la perte d'élasticité de la capsule articulaire.⁴

D'autre part, la répétition des signaux conduits par les fibres nociceptives entraînent un réflexe d'hypertonie, voire de spasme musculaire. Cela est aussi une source importante de douleur.⁴ L'instabilité articulaire, les mouvements anormaux que cette instabilité permet, et l'utilisation anormale qui est faite de cette articulation pour limiter la réponse douloureuse causent une altération du fonctionnement biomécanique de cette articulation. Par conséquent, les ligaments et les muscles subissent des tensions anormales et peuvent devenir une source de douleur.^{67,71,72}

L'inflammation de la membrane synoviale entraîne la relâche de prostaglandines : ces facteurs inflammatoires sensibilisent les nocicepteurs à l'action de substances produisant des signaux douloureux. C'est le cas par exemple des bradykinines, de l'histamine, de la sérotonine, de la

substance P, du peptide associé au gène de la calcitonine (CGRP) et du facteur de croissance des nerfs (NGF).^{67,73,74} Les prostaglandines, notamment PGE2, et autres facteurs de l'inflammation ont aussi pour effet de diminuer les seuils pour lesquels une stimulation mécanique va devenir douloureuse.^{4,73,75,76} La douleur due à l'arthrose a d'ailleurs souvent été imputée à la synovite.²⁵ Cette augmentation de la sensibilité douloureuse au niveau articulaire constitue la sensibilisation périphérique.⁷⁷ Les prostaglandines représentent le prototype du sensibilisateur périphérique. Leur action met en jeu les protéines kinases A dépendantes du monophosphate d'adénosine cyclique (AMPC) et les protéines kinases C calcium-dépendantes. Les cytokines, chémorécepteurs et facteurs de croissance agissent plus par l'intermédiaire des récepteurs couplés à la protéine G ou par l'activation de la tyrosine-kinase.⁷⁸

L'os sous-chondral contient aussi des nocicepteurs et il est incriminé dans la perception de douleur lors d'arthrose.⁴ Au niveau de l'os sous-chondral, la pression intraosseuse augmente suite à une distribution des forces moins efficace par le cartilage ou à une stase veineuse. La pression augmentée, l'hypoxie, l'acidité et l'inflammation expliquent l'augmentation des influx nociceptifs.^{4,79} De plus, les nocicepteurs actifs dans l'os sous-chondral sont plus nombreux lors d'arthrose.⁸⁰

D'autres facteurs jouent un rôle dans la douleur associée à l'arthrose : par exemple, les ostéophytes distendent le périoste et les tissus péri-articulaires,^{10,46} la faiblesse musculaire protège moins l'articulation contre les mouvements anormaux.⁴

Lorsque les nocicepteurs sont stimulés, des facteurs inflammatoires puissants sont relâchés dans l'articulation par sécrétion antidromique comme la substance P^{73,74,81} ou le CGRP.⁶⁷ La stimulation des nocicepteurs a donc un effet d'amplification et d'entretien de l'inflammation : c'est l'inflammation neurogénique.^{67,82}

b *Mécanismes centraux de la douleur arthrosique*

Lorsqu'un influx douloureux important atteint la corne dorsale de la moelle épinière, les neurones secondaires deviennent hyperréactifs, entraînant une hypersensibilité à la douleur pour le tissu endommagé (hypersensibilité primaire), ainsi qu'une hypersensibilité de la région entourant la source du stimulus douloureux (hypersensibilité secondaire). En conséquence de cette hyperréactivité, des fibres nerveuses qui ne sont normalement pas impliquées dans la nociception, comme les fibres A β stimulés par des sensations mécaniques, peuvent induire une sensation douloureuse. Dans ces conditions, un stimulus non douloureux, par exemple un contact ou une pression modérée, peut induire de la douleur : c'est le phénomène d'allodynie.⁷⁷ Le glutamate, la substance P et le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) sont les principaux acteurs incriminés dans ces phénomènes centraux.⁸² La phosphorylation des récepteurs N-méthyl D-aspartate (NMDA) médiée par le glutamate est à ce jour le phénomène le plus connu dans ces processus.^{78,83} Le glutamate stimule deux autres types de récepteurs : les récepteurs à acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole-propionique (AMPA) et les récepteurs métabotropiques.⁸⁴

En bout de ligne, les canaux calciques (notamment de type N ou P) sont impliqués au niveau des membranes post-synaptiques des neurones de la corne dorsale. Leur ouverture constitue l'étape ultime de la transmission de l'influx douloureux à ce niveau.⁸⁴ Les canaux calciques de type N semblent jouer un rôle prépondérant dans les processus de douleur aiguë, d'hyperalgésie secondaire et d'allodynie. Ils semblent ainsi constituer une cible thérapeutique intéressante.⁸⁴⁻⁸⁶

Le maintien d'une inflammation de faible niveau par des cellules accessoires (cellules gliales) produisant IL-1 β , TNF- α et IL-6 au niveau de la corne dorsale semble jouer un rôle dans la

persistance de cet état.⁸⁷ En effet, les PGE2 empêche l'action inhibitrice de la glycine sur la transmission de l'influx douloureux, et COX-2 est induite au niveau de la moelle épinière par le biais d'IL-1 quelques heures après un stimulus douloureux.^{82,88}

Au même moment que ces mécanismes d'intensification s'installent, des mécanismes ayant un rôle inhibiteur sur la transmission de l'information douloureuse se mettent en place. Les principaux neurotransmetteurs impliqués dans ce mécanisme sont le GABA produit au niveau de la deuxième couche de la corne dorsale,⁸⁹ les enképhalines produites par des neurones constituant la fin d'un faisceau inhibiteur descendant ayant pour origine la substance grise périaqueducule,^{82,90} et l'association sérotonine-norépinéphrine, neurotransmetteur d'un second faisceau inhibiteur descendant.⁹¹

c *La douleur arthrosique : une douleur chronique*

Nous venons de voir que la douleur d'origine articulaire cause le développement d'une sensibilisation centralisée.^{76,92,93} Les prostaglandines E2 sont très impliquées dans ce processus^{76,92} ainsi que le glutamate, la substance P, et le CGRP au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière.^{67,82}

Ces changements participeraient à la pathogénie de la douleur chronique en causant de l'hyperalgésie ou de l'allodynie.^{67,82} Les changements associés à cette hypersensibilité (allodynie et hyperalgésie) sont de deux ordres : modulation et modification. La modulation représente les changements réversibles de l'excitabilité des neurones sensitifs primaires et centraux. Par exemple, l'augmentation de l'activité des récepteurs NMDA est impliquée dans la sensibilisation centrale,^{67,78,81,83} et les prostaglandines et le NGF participent à la sensibilisation périphérique des neurones primaires.^{67,81}

Les modifications (ou plasticité neuronale) représentent des altérations à long terme dans l'expression des canaux ioniques, des récepteurs et des neurotransmetteurs à la surface des neurones, ou dans la structure, les connections et la survie des neurones.^{94,95} Par ces modifications à long terme, la douleur arthrosique rentre ainsi dans le cadre des douleurs chroniques.

Les définitions de la douleur chronique sont rares. En médecine humaine, l'association internationale de l'étude de la douleur (IASP) propose : « douleur qui persiste au-delà du temps normal de guérison, ou douleur persistante causée par des conditions où la guérison n'a pas eu lieu ou a eu lieu mais la cause est réapparue ».⁹⁶ La douleur chronique n'est pas une simple extension dans le temps de la douleur aiguë. Elle est, du moins en partie, reliée à des mécanismes qui lui sont propres, que ce soit dans le système nerveux central ou périphérique.^{67,97} Une étude a montré que le NGF était présent dans des articulations saines et après une inflammation aiguë (moins de 7 jours) dans des proportions équivalentes. Par contre, lors d'inflammation chronique (supérieure à un mois) la quantité de NGF dans le liquide synovial était significativement augmentée.⁹⁷ La douleur arthrosique résulte donc de la mise en place de mécanismes différents de ceux intervenant dans la douleur aiguë. Une possible différence dans les modalités de traitement est ainsi suggérée.⁹⁸

La déficience des voies descendantes nociceptives inhibitrices (opioïdergique et sérotoninergique-norépinéphrinergerique) a été mise en évidence lors de syndrômes de douleur chronique.^{91,99,100} Heureusement, il semble que ce phénomène soit réversible puisqu'il disparaîtrait après la suppression du stimulus douloureux.¹⁰⁰

La douleur chronique est un phénomène largement systémique qui n'inclut pas seulement la ou les articulations arthrosiques et leur région: en effet, des patients humains souffrant

d'arthrose montrent des seuils de douleur bien inférieurs pour des stimuli mécaniques appliqués au niveau du front, site exempt d'arthrose.¹⁰¹

CONCLUSION

L'arthrose est donc un processus irréversible incluant un degré variable de synovite, une fibrose de la capsule articulaire, la destruction des cartilages, la sclérose de l'os sous-chondral et la production de nouvelles structures osseuses. La douleur chronique associée limite l'utilisation du membre atteint et aggrave la faiblesse musculaire tout en altérant les capacités de fonctionnement de l'animal. Le processus d'inflammation neurogénique vient corroborer le rôle primordial de la douleur dans la progression de l'arthrose. Par défaut de soutien de l'articulation ou par aggravation de l'inflammation, la douleur va augmenter. Ainsi, la douleur et l'inflammation entretiennent le cercle vicieux du processus arthrosique.

II. TRAITEMENTS USUELS DE L'ARTHROSE

Comme nous l'avons décrit précédemment, l'arthrose est une maladie complexe incluant des changements macroscopiques, histologiques, biochimiques et biomécaniques du cartilage articulaire, de l'os sous-chondral, de la synovie et des tissus de soutien de l'articulation. Ces changements induisent un cycle irréversible d'inflammation et de dégradation conduisant à un état douloureux, à un gonflement et à un dysfonctionnement articulaire.¹⁰² Dans la première partie, nous avons expliqué que l'inflammation, la douleur, la diminution de la masse musculaire et les stress mécaniques infligés au cartilage et aux autres structures de l'articulation initiaient puis entretenaient le cycle de l'arthrose.

Il n'existe à ce jour aucun traitement curatif -en opposition à palliatif- de l'arthrose. Seuls des traitements palliatifs ont été proposés.^{5,102,103} Ils visent à :

- Diminuer la douleur ;
- Améliorer la fonction articulaire ;
- Améliorer la qualité de vie de l'animal ;
- Ralentir la progression de la maladie ;
- Apporter un soutien aux mécanismes de réparation.

Les traitements utilisés contre les processus arthrosiques sont variés. Ils vont de la simple modification des habitudes quotidiennes (nutrition, exercice et perte de poids, par exemple), à l'administration de médicaments (le plus souvent des anti-inflammatoires) ou à la réalisation de procédures chirurgicales. Enfin, certains compléments alimentaires potentiellement bénéfiques pour le cartilage sont disponibles sur le marché.

A. LES MODIFICATIONS DE LA VIE QUOTIDIENNE ET LES MESURES COMPLEMENTAIRES PROPOSEES DANS LE TRAITEMENT DE L'ARTHROSE

a *L'exercice contrôlé*

Les chiens souffrant d'arthrose ont une activité limitée.^{5,104} Un cercle vicieux s'établit où l'articulation peu utilisée devient plus raide, l'amplitude articulaire diminue, la masse musculaire se réduit.¹⁰⁴ L'exercice contrôlé a été associé à un renforcement des tissus péri-articulaires (notamment les muscles). L'utilisation de l'articulation permettrait même de promouvoir les mécanismes anaboliques de guérison et de réparation du cartilage.¹⁰⁴ Les opioïdes endogènes produits lors de l'exercice participeraient peut-être à la diminution de la

douleur.¹⁰⁴ Cependant, l'exercice est limité par l'instabilité et l'inflammation des articulations, et le niveau excédentaire de poids du sujet.

L'exercice contrôlé, s'il suit des règles strictes, semble être une mesure complémentaire intéressante : on parle même d'« exercice thérapeutique ».¹⁰⁴

La restriction de l'exercice reste fondamentale. Certaines activités comme jouer avec d'autres chiens¹⁰⁵ ou courir après une balle ou un bâton¹⁰⁶ ont été associés avec l'accélération du développement d'arthrose des coudes et des hanches chez des chiens à risque.

b *La perte de poids*

Chez l'homme, l'obésité est considérée comme un des facteurs de risque principaux dans le développement de l'arthrose. L'excès de poids augmente le stress sur l'articulation.¹⁰³ Chez le chien, Impellizeri et collaborateurs ont montré que la réduction de 11 à 18% du poids initial de l'animal améliorerait la boiterie des chiens souffrant d'arthrose coxo-fémorale.¹⁰⁷ Il est important de garder cela à l'esprit surtout pour une pathologie où les animaux sont susceptibles de prendre du poids à cause de la diminution de leur niveau d'exercice.¹¹ Certaines médications comme le mitratapide¹⁰⁸ ou le dirilotapide^{109,110} ont été utilisées chez le chien pour faciliter la perte de poids.

Chez des chiens arthrosiques en excès pondéral, la restriction énergétique a amélioré l'appui des membres au sol mesuré avec la plaque de force. Dans cette même étude, l'ajout d'un programme intense de physiothérapie a augmenté la perte de poids et intensifié l'amélioration de l'appui.¹¹¹ Il a aussi été démontré que la prise de poids se faisait au détriment de la fonction musculosquelettique du chien arthrosique.¹¹²

c *Une ration équilibrée*

Une revue de littérature par Richardson et collaborateurs¹⁰³ liste les nutriments qui pourraient influencer le développement de l'arthrose (calcium, phosphore, cuivre, zinc, vitamines...) et fournit des recommandations pour potentiellement limiter les risques. Une étude suédoise auprès de 325 Labrador retrievers a montré que la quantité d'acides gras et la proportion d'énergie apportée par les acides gras étaient positivement corrélées avec le risque de développer de l'arthrose des coudes.¹⁰⁶

d *La restriction alimentaire*

Les besoins quotidiens en énergie métabolisable (BE) pour un chien arthrosique sont normalement calculés selon les formules suivantes :

$$(a) \text{ BE (kcal)} = 1.6 * 70 * (\text{Poids Corporel})^{0,75^{103}}$$

ou

$$(b) \text{ BE (kcal)} = 1.6 * (30 * (\text{Poids Corporel}) + 70)^{103}$$

ou

$$(c) \text{ BE (kcal)} = 62.1 * (\text{Poids Corporel}) \text{ pour des chiens de plus de } 25 \text{ kg}^{113}$$

Plusieurs études réalisées sur des Labradors ont comparé deux cohortes : une population contrôle nourrie selon ses besoins calculés avec la formule usuelle (formule c) et une population identique recevant une même ration diminuée de 25% en quantité . Ces études ont montré une augmentation de l'espérance de vie de 1,8 ans dans le groupe où la ration était limitée.^{114,115} La restriction alimentaire a aussi été associée à un délai pour l'apparition,¹¹⁶ à une diminution de l'incidence et de la sévérité des lésions d'arthrose pour les hanches sur une période de 5 ans.¹¹⁷ Une deuxième étude réalisée sur la même cohorte de chiens a montré une

diminution de la sévérité radiographique des lésions d'arthrose pour les épaules à 6 et 8 ans d'âge, bien que peu de différences aient été documentées lors des comparaisons macroscopiques et histologiques post-mortem.¹¹⁸ Une troisième étude n'a pas démontré de différence entre ces deux populations pour les lésions arthrosiques des coudes.¹¹⁴ À 8 ans, les chiens recevant 25% moins de nourriture ont montré une sévérité du processus arthrosique dans les hanches, les épaules et les coudes significativement moindre que chez les chiens alimentés selon les recommandations usuelles.¹¹³

e *L'acupuncture*

Hjelm-Björkman et associés ont testé l'effet d'implants en or à des points d'acupuncture connus pour traiter l'arthrose induite par la dysplasie de la hanche chez 38 chiens de propriétaires.¹¹⁹ Cette étude prospective et randomisée a montré une amélioration de la condition arthrosique des chiens traités d'après l'évaluation subjective des vétérinaires et des propriétaires. Cependant, aucune différence significative n'a été observée lors de la comparaison avec le groupe contrôle, ce qui suggère l'interférence d'un effet placebo ou d'un effet temps.

f *La physiothérapie, la chiropraxie*

La physiothérapie et la chiropraxie ont été recommandées depuis longtemps pour améliorer la qualité de vie des chiens arthrosiques.^{25,104,120} Cela inclut à la fois des exercices physiques ainsi que des massages, l'application de froid ou de chaud,¹²⁰ ou l'utilisation d'ultrasons, de laser ou de stimulations électriques.^{25,120} Il existe cependant peu d'évidence en médecine factuelle quant aux effets de ces techniques. Toutefois, une étude clinique sur les étirements

passifs d'articulations arthrosiques a montré une amélioration de l'amplitude de mouvement.¹²¹

Deux études^{122,123} ont testé l'efficacité du traitement par ondes de choc pour l'arthrose chez le chien. Dans la première étude¹²² les résultats obtenus à l'évaluation cinétique (plaque de force) ont montré un effet positif sur la population traitée par les ondes de choc extracorporelles, bien que 3 chiens sur les 7 du groupe n'aient montré aucune amélioration. L'évaluation subjective par les propriétaires n'a pas montré d'effet positif chez les chiens traités. Dans la deuxième étude¹²³ qui portait sur l'effet d'ondes de choc radiales, l'évaluation par la plaque de force a montré une amélioration plus importante dans le groupe traité, bien que certaines mesures se soient améliorées aussi dans le groupe contrôle.

Ces deux études ne permettent pas de tirer des conclusions définitives sur cette modalité de traitement.¹²⁴

Mlacnik et collaborateurs¹¹¹ ont étudié les effets d'un programme intense de physiothérapie incluant l'utilisation de stimulation nerveuse électrique transcutanée. Le protocole de cette étude ne permet cependant pas de séparer les effets directs de la physiothérapie par rapport aux résultats obtenus grâce à la perte de poids qu'elle a induit chez les chiens traités.

g *L'homéopathie*

Bien que fréquemment évoquée comme modalité de traitement de la douleur chronique¹²⁵ une seule étude a testé l'efficacité d'un traitement homéopatique chez le chien.^{126,127} Cette étude réalisée sur 44 chiens a montré une amélioration de la condition arthrosique mesurée par des méthodes subjectives (index de mobilité et EVA pour mesurer la douleur) ou des méthodes objectives (pic de force verticale par analyse cinétique). Toutefois, l'index de douleur

chronique, l'appui vertical et l'EVA mesurant la mobilité n'ont pas montré d'amélioration significative pour le groupe de chiens recevant le traitement homéopatique. Il est intéressant de noter que les six paramètres utilisés pour évaluer les chiens documentaient une amélioration significative lorsqu'ils recevaient du carprofène.¹²⁷

B. LES ANTI-INFLAMMATOIRES ET MOLECULES A EFFETS SIMILAIRES

a *Les AINS*

Bien que le degré d'inflammation soit très variable suivant les patients, les AINS sont fréquemment utilisés et représentent actuellement la référence dans le traitement de l'arthrose.^{5,10,13} L'efficacité clinique de certaines de ces molécules a été montrée chez le chien souffrant d'arthrose. Parmi celles-ci, on compte le carprofène,^{128,129} le méloxicam,¹²⁹ le firocoxib,¹³⁰ la licofélone¹³¹ et l'étodolac.¹³²

Leurs mécanismes d'action ne sont pas encore complètement élucidés¹³³ mais ils sont principalement fondés sur l'inhibition des cyclooxygénases (COXs) 1 et 2, enzymes qui ouvrent la voie principale du métabolisme de l'acide arachidonique.¹³⁴ Ces COXs sont responsables de la formation de prostaglandines ainsi que de radicaux libres ayant un rôle important dans la physiopathologie de l'arthrose.⁴ D'autre part, les AINS produisent une analgésie locale et centrale.^{5,135,136} Les prostaglandines sont impliquées dans la douleur, le développement et le cycle d'entretien de l'arthrose.^{5,133} Les prostaglandines sensibilisent et stimulent de manière indirecte les nocicepteurs en potentialisant l'action des bradykinines, de la sérotonine et de l'histamine.^{5,10,137} Les prostaglandines participent également au phénomène

de sensibilisation centrale.^{10,137} Les inhibiteurs des COXs diminuent le phénomène d'hyperalgésie,^{10,133} renforçant ainsi l'analgésie qu'ils procurent.

La voie des COXs n'est pas la seule voie de métabolisme de l'acide arachidonique. La voie des lipooxygénases aboutit à la synthèse de leucotriènes, autres médiateurs impliqués dans l'arthrose.^{133,138} L'enzyme au départ de cette voie est la lipooxygénase contre laquelle les AINS conventionnels n'ont pas d'action inhibitrice. Les leucotriènes sont des facteurs chimotactiques pour les neutrophiles, acteurs primordiaux dans l'entretien du cycle de l'arthrose.¹³³ De nouveaux AINS comme la licofélone et le tépoxalin (non commercialisés au Canada) inhibent à la fois les COXs et les lipooxygénases. La licofélone a montré une bonne efficacité clinique chez le chien arthrosique.¹³¹

Certains AINS modifient la réponse immunitaire cellulaire et humorale, et peuvent agir contre l'inflammation par des mécanismes différents des leucotriènes ou des prostaglandines.^{139,140}

L'inhibition de la production de l'oxyde nitrique (NO) par l'enzyme NO synthase pourrait aussi expliquer une partie de l'action anti-inflammatoire des AINS, mais cela reste encore au stade de supposition.¹³³ Enfin, il a été prouvé que les AINS avaient des effets anti-nocicepteurs au niveau du tronc cérébral sur des stimulations nociceptives réflexes (tests de retrait de la queue ou de la plaque chaude) chez le rat, et que ces effets impliquaient le système opioïde endogène.¹⁴¹ Une telle découverte sous-tend l'efficacité analgésique de la combinaison AINS – opioïde. Par ailleurs, parmi les patients arthrosiques canins on rapporte un taux de 10 à 12% maximum de non-répondants à un traitement par AINS.¹⁴²

i Effets secondaires systémiques

L'utilisation des AINS n'est pas sans conséquences et les effets secondaires sont d'autant plus préoccupants que le traitement, à l'image de la maladie à traiter, se prolonge dans le temps.⁶⁰

Les principaux effets secondaires des AINS sont gastro-entériques (inappétance, vomissements et diarrhée), avec le développement d'ulcères.¹⁰ Des études rapportent que le méloxicam a, par exemple, une incidence d'effets secondaires gastro-intestinaux d'environ 12%,^{143,144} alors qu'on rapporterait une incidence globale attendue variant entre 5 et 10%.¹⁴² L'utilisation d'AINS plus spécifiques de la COX-2 (induite par l'inflammation) devrait permettre de limiter ces effets en réduisant l'inhibition de la COX-1 constitutive. La COX-1 est une enzyme constitutive : elle synthétise les prostaglandines nécessaires à l'activité de base de la cellule. Ces prostaglandines sont notamment impliquées dans la sécrétion de mucus riche en bicarbonates, dans la concentration de bicarbonates au niveau de la membrane apicale des cellules épithéliales, et dans le maintien du débit sanguin nécessaire au métabolisme et à la survie des cellules épithéliales.^{10,145} Un débit sanguin important au niveau gastrique est nécessaire pour la production de bicarbonates et pour la neutralisation et l'élimination de l'excès de protons.^{145,146} Cependant, bien qu'il soit moins marqué, les AINS spécifiques COX-2 gardent un effet gastroentérique toxique.¹⁴⁷ Cette persistance serait possiblement due à l'implication d'autres mécanismes dans la formation d'ulcères comme l'inhibition des prostanoïdes au rôle vasodilatateur.¹³³ Les COX-2 seraient aussi fortement impliquées dans la guérison des lésions de la paroi stomacale.¹⁴⁵ La toxicité gastrique serait aussi possiblement médiée par l'action des leucotriènes. Le blocage des COXs semble favoriser la voie de la lipooxygénase (bypass) et l'augmentation de la production de leucotriènes ; le recrutement des leucocytes et la puissante vasoconstriction qu'ils induisent contribuent aux effets toxiques des AINS sur la muqueuse gastrique.^{147,148}

Les AINS peuvent aussi avoir un effet néfaste sur les reins. En effet, les prostaglandines permettent la vasodilatation de l'artère afférente rénale et ainsi le contrôle du débit de filtration

glomérulaire. Comme le taux basal de prostaglandines rénales dans des conditions normales est bas, seuls les chiens souffrant d'insuffisance rénale ou dans un état d'hypotension ou d'hypovolémie semblent présenter un risque.^{5,137}

Les AINS sont aussi connus pour leur action anticoagulante par inhibition de la synthèse de thromboxane A₂. Cependant, les AINS plus spécifiques de la COX-2, bien qu'influençant encore légèrement la synthèse de tromboxane A₂, ont montré peu de conséquences cliniques sur l'hémostase des chiens sains.^{149,150}

L'utilisation de certains anti-COX-2 spécifiques (communément appelés les « coxibs ») a été associée, chez l'homme à une augmentation du risque d'insuffisance cardiaque congestive soit par exacerbation de l'hypertension¹⁵¹ ou par une absence de l'effet anticoagulant cardioprotecteur procuré par l'inhibition de la COX-1.¹⁵² L'existence de ce phénomène chez nos animaux de compagnie n'est pas démontrée.

Bien qu'extrêmement rares vue l'utilisation très répandue de cet AINS, les réactions idiosyncrasiques provoquées par le carprofène sont aussi à évoquer : il a été rapporté une toxicose hépatocellulaire réversible chez 21 chiens de races diverses, notamment des Retrievers. La plupart de ces chiens avaient reçu une dose normale de ce produit pendant des durées très variables (de 3 à 180 jours) et ne semblaient pas avoir de prédisposition à des problèmes hépatiques.¹⁵³

ii Effets sur le métabolisme articulaire

Les prostaglandines sont un facteur vital du cartilage articulaire et leur inhibition à long terme par les AINS pourrait avoir un effet délétère dans le maintien de l'homéostasie des chondrocytes et de la matrice extracellulaire.^{25,133,154,155} Des observations *in vitro* et *in vivo* ont montré un effet néfaste de certains AINS sur la synthèse des protéoglycanes par les

chondrocytes.¹⁵⁶ Le mécanisme en question n'est pas élucidé mais on pense que soit les AINS contribuent à la production de cytokines cataboliques, soit ils empêchent l'expression des cytokines anaboliques dans les cartilages.²⁵

La conséquence clinique de ceci est incertaine^{5,157} car, comme discuté précédemment, les anti-inflammatoires ont de nombreuses propriétés bénéfiques chez les sujets arthrosiques.¹³⁷ Des études *in vitro* montrent que les AINS ont un effet positif parce qu'ils diminuent l'action catabolique des prostaglandines articulaires.³⁷ Des preuves existent notamment pour des molécules agissant spécifiquement sur les COX-2 comme le célécoxib,³⁸ le carprofène à faible dose,¹⁵⁸ ou le méloxicam.¹⁵⁹

Chez l'homme, une étude clinique a cependant montré des changements dégénératifs plus rapides sous AINS que sous analgésique seul.¹⁶⁰ Cet effet délétère se retrouve *in vitro* avec des doses d'AINS élevées.¹⁵⁸ Parmi les AINS les plus utilisés en clinique, le méloxicam et le carprofène semblent peu influencer le métabolisme des chondrocytes aux doses employées chez l'homme.^{25,159} Chez le chien, le carprofène semble même ralentir la progression des changements structuraux *in vivo*.^{161,162} La licofélone semble aussi prévenir les changements structuraux associés aux premières phases du développement de l'arthrose.¹⁶³ Des effets bénéfiques sur la qualité de vie et un ralentissement de la progression des lésions observées à la résonance magnétique ont été obtenus chez l'homme avec la licofélone.¹⁶⁴

Les AINS ont ainsi des propriétés intéressantes dans le traitement de l'arthrose principalement au niveau symptomatique, mais aussi au niveau du métabolisme des cartilages. La diminution des effets secondaires avec les nouvelles générations permet une utilisation plus sûre à long terme, sans pour autant garantir une sécurité totale. Enfin, leur action ne répond pas

complètement aux problèmes que pose cette pathologie et il est légitime que d'autres perspectives soient envisagées pour compléter, remplacer, ou au moins diminuer l'utilisation de ces molécules.

b *Les glucocorticoïdes*

Les glucocorticoïdes bloquent l'action de la phospholipase A2, enzyme à l'origine de la synthèse de l'AH, molécule de base pour la synthèse de la plupart des facteurs inflammatoires. Ainsi, les glucocorticoïdes bloquent la synthèse des médiateurs de l'inflammation à un stade plus précoce que les AINS dans la cascade inflammatoire. Les glucocorticoïdes ont donc la propriété d'inhiber à la fois la production des prostaglandines et des leucotriènes.^{10,137} Comme la licofélone, ils diminuent l'activité catabolique des MMPs.¹⁶⁵ Leurs effets sur le liquide synovial sont bénéfiques : ils diminuent l'inflammation, augmentent la viscosité et la concentration en AH et ils diminuent le gonflement de l'articulation.^{133,137} Une dose systémique de prednisone de 0,25 mg/kg/jour peut, à court terme, limiter les changements dégénératifs consécutifs à la rupture d'un ligament croisé crânial chez le chien^{13,25} sans entraîner de dommages sur les articulations saines.¹⁶⁶

Leur utilisation dans un cadre clinique est cependant fortement contestée.^{10,13,25} Lors d'administration intra-articulaire chez des chevaux sains, ils ralentissent les phénomènes de guérison¹⁶⁷ et entraînent de la nécrose des chondrocytes.¹⁶⁷ Une seule injection intraarticulaire d'acétate de méthylprednisolone dans une articulation saine fait diminuer la concentration de protéoglycanes de moitié dans le cartilage au bout de 16 semaines.¹⁶⁷ Ces changements rendent l'articulation plus sensible au stress : l'exercice doit donc être limité après l'administration.¹³⁷ Lors d'administrations répétées, la synthèse des protéoglycanes et du

collagène est inhibée⁵ et le réseau de collagène est fragilisé. La sensibilité des cartilages aux traumatismes augmente alors de manière significative.²⁵ Cet appauvrissement et cette fragilisation du cartilage s'appelle l'arthropathie stéroïdienne.⁵ Elle se caractérise par l'amincissement des cartilages, puis la formation de fissures et de fibrillation.⁵ De plus, les glucocorticoïdes ont des effets systémiques non négligeables lors d'une administration à long terme comme l'hépatopathie stéroïdienne, les pancréatites, la polyphagie, l'atrophie musculaire et l'hyperadrénocorticisme iatrogène.^{5,168}

L'utilisation des corticoïdes est habituellement réservée aux cas devenus réfractaires aux autres traitements. Bien qu'envisageable de manière ponctuelle, les effets systémiques et les risques de dommages articulaires rendent l'utilisation à long terme fortement controversée.

c *Les acides gras ω -3*

Les aliments pourraient aussi affecter le niveau inflammatoire des articulations par leur teneur en certains acides gras. En effet, les carnivores domestiques ne sont pas capables de produire les acides gras poly-insaturés. Ils se les procurent entièrement par l'alimentation. Ces acides gras sont nécessaires aux fonctions de l'organisme, notamment pour la formation et la fonction des membranes cellulaires.¹⁶⁹ L'acide arachidonique est à l'origine de la synthèse des prostaglandines E2 et des leucotriènes B4, acteurs importants de l'inflammation. L'acide arachidonique est issu de la transformation de certains acides gras poly-insaturés ω -6. Une corrélation positive entre la teneur des tissus en acide arachidonique et la sévérité de l'inflammation observée a été montrée en comparant des cartilages humains arthrosiques à des cartilages sains.⁵⁴ Le taux plasmatique d'acides gras ω -3 a aussi été négativement corrélé avec le niveau d'inflammation dans le genou arthrosique de patients humains.¹⁷⁰

Les acides gras poly-insaturés ω -3, dont les plus connus sont l'acide eicosapentanoïque (EPA) et l'acide docosahexanoïque (DHA) vont produire des prostaglandines E3 et des leucotriènes B5 moins inflammatoires en utilisant les enzymes nécessaires à la transformation de l'acide arachidonique.¹⁰³ Une autre étude a montré que les ω -3 diminuaient la production de protéinases-clé dans la dégradation des cartilages.¹⁷¹ L'utilisation des acides gras ω -3 dans le traitement des processus inflammatoires est fondée sur deux principes : premièrement, augmenter la disponibilité des acides gras polyinsaturés ω -3 afin de limiter la disponibilité des acides gras ω -6 nécessaires à la synthèse de l'acide arachidonique. Le deuxième principe est d'augmenter les autres substrats des enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique afin d'inhiber par compétition la synthèse des prostaglandines E2 et des leucotriènes B4.¹⁰³ Certains ω -6 comme l'acide gamma linoléique (GLA), n'entraînent pas non plus la synthèse de prostaglandines E2 et donnent aussi des métabolites moins inflammatoires, comme PGE1.¹⁰³

Chez l'homme, des essais cliniques ont prouvé l'efficacité de l'apport en GLA, EPA et DHA dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde.¹⁰³ Une étude réalisée sur un an a aussi montré que les patients pouvaient, sous EPA et DHA arrêter ou diminuer leur dose d'AINS pour un même résultat clinique.¹⁰³ Le premier rapport d'efficacité clinique sur les chiens provient d'une étude dermatologique. Des propriétaires dont les chiens étaient traités pour des problèmes cutanés par des acides gras polyinsaturés spécifiques ont noté une amélioration de leur condition arthrosique. Ils notaient moins de douleur ou une amélioration de la démarche.¹⁶⁹ Une autre étude chez des chiens avec une rupture unilatérale spontanée du ligament croisé crânial a montré une diminution significative de l'expression de MMP-2 dans le genou non-affecté après 7 et 14 jours de traitement.¹⁷² Une étude basée sur la mesure objective du pic de force

verticale a documenté une amélioration significative de la fonction du membre affecté dans un groupe de chiens recevant de l'EPA pendant 90 jours, alors que le groupe contrôle ne montrait pas d'amélioration significative, sans toutefois que la différence entre les deux groupes ne soit significative.¹⁷³

L'administration orale d'EPA améliorerait de manière significative le confort des chiens dans leur activités quotidiennes.¹⁷⁴ Une étude plus récente a montré qu'une diète contenant des acides gras ω -3 permettait d'améliorer la fonction locomotrice et le confort de chiens de propriétaires souffrant d'arthrose spontanée après 6 et 12 semaines de traitement.¹⁷⁵ Une étude similaire a montré qu'une diète supplémentée en acides gras ω -3 permettait de diminuer la dose de carprofène nécessaire pour assurer le confort des chiens.¹⁷⁶

Les effets secondaires des acides gras ω -3 rapportés chez le chien sont rares. Une action sur la thromboxane A2 et une augmentation des temps de saignement ont cependant été notées chez le chien lors d'utilisation à long terme mais pas lors de fortes doses à court terme.¹⁷⁷

C. LES ANTI-DOULEURS

a *Opiïdes et apparentés (tramadol)*

Les opioïdes μ -agonistes analogues de la morphine régulièrement utilisés pour traiter la douleur aigue dans un cadre hospitalier et périopératoire tels que la morphine, l'hydromorphone ou la buprénorphine sont rarement utilisés dans le traitement de l'arthrose à long terme. Les principales raisons sont 1) leur pharmacocinétique peu propice à leur utilisation avec un bon niveau de compliance au traitement ; 2) l'absence d'évidence

d'efficacité et 3) leurs effets secondaires, principalement la sédation, ou les risques d'utilisation abusive.

D'autres opioïdes partageant cet effet μ -agoniste ont été utilisés dans le traitement de l'arthrose. La plupart de ces molécules sont administrées par voie orale.¹⁴²

La codéine a été utilisée historiquement dans le traitement de l'arthrose canine mais peu d'information existe au sujet de son efficacité chez le chien.¹⁰ De plus, les études pharmacologiques décrivent une faible biodisponibilité et une courte durée d'action.¹⁷⁸

Le tramadol, analogue synthétique de la codéine, a progressivement remplacé la codéine dans les pratiques vétérinaires. Il est utilisé tant pour le traitement de la douleur aigue que chronique. Un de ses métabolites (O-desméthyl tramadol ou ODM) agit sur les récepteurs opioïdes μ avec une activité plus faible que les analogues de la morphine.^{142,179} Puisque l'ODM est produit en quantité relativement faible chez le chien et que sa demi-vie y est de 1,1 heure, l'efficacité du tramadol dépendrait plus de mécanismes dépendant de l'inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline que de son action sur les récepteurs opioïdes.^{142,180} L'utilisation de cette molécule reste cependant limitée par l'absence de preuves d'efficacité clinique et par les données pharmacocinétiques obtenues qui sont peu enclines à supporter son efficacité, notamment après administration par voie orale.¹⁴² Une étude clinique randomisée et contrôlée a montré un effet positif du tramadol (4 mg/kg trois fois par jour par voie orale) sur les scores de douleur chez des chiens souffrant d'arthrose, tout en montrant des concentrations plasmatiques faibles et de courte durée.¹⁸¹ Chez le chat, l'ODM est produit en quantités beaucoup plus importantes.¹⁸² Ainsi un effet opioïdergique est fortement plus probable dans cette espèce.¹⁴²

L'hydrocodone est un précurseur de l'hydromorphone. Cette drogue semble avoir des propriétés pharmacocinétiques prometteuses,¹⁷⁸ mais aucune étude clinique n'a prouvé son efficacité.¹⁴²

La pharmacocinétique de la morphine,¹⁸³ de l'oxycodone¹⁸⁴ et de la méthadone¹⁸⁵ ont été étudiés chez le chien. Les résultats ont été décevants à cause de la courte demi-vie et de la faible biodisponibilité obtenues. De plus, le risque d'usage abusif de ces molécules reste préoccupant.¹⁴²

b *Antagonistes N-MDA.*

Une étude chez des chiens souffrant d'arthrose spontanée et recevant du méloxicam à long terme a montré que l'ajout d'amantadine dans le traitement avait un effet positif après 42 jours de traitement à 3-5 mg/kg une fois par jour par voie orale, mais la différence observée était mince.⁹⁸ Les études pharmacocinétiques chez le chien ont depuis montré qu'une administration aux 12 heures serait préférable.¹⁴²

c *Cannabinoïdes*

Il est très difficile de classer l'acétaminophène (ou paracétamol) dans une catégorie unique. Pourtant, cette drogue est communément utilisée pour ses propriétés analgésiques chez l'homme.¹⁸⁶ Cette molécule semble avoir très peu d'effets périphériques et son action centrale serait expliquée par l'activation de récepteurs cannabinoïdes.¹⁸⁷ L'acétaminophène semble aussi utiliser d'autres voies pour exercer ses effets analgésiques. Cela inclut l'inhibition d'une variante de COX-1, la stimulation des voies inhibitrices descendantes dépendantes de la sérotonine, l'interaction avec les systèmes opioïdiques et dépendants du NO.¹⁸⁸ Bien qu'impossible chez le chat pour des questions de toxicité, son utilisation chez le chien semble

sécuritaire¹⁸⁹ et intéressante.^{137,190} A notre connaissance, aucune étude clinique n'a été réalisée pour montrer son efficacité dans le traitement de la douleur arthrosique chez le chien, mais on rapporte des cas cliniques d'utilisation du cannabis médical dans les cas cancéreux.^b

^b <http://news.yahoo.com/vet-recommends-medical-marijuana-pets-pain-192422828.html>
consulté le 10 Juin 2013

d *Antidépresseurs*

i **Inhibiteurs de la recapture de neuromédiateurs**

a *Sérotonine*

Très peu de données sont disponibles pour des molécules qui inhibent spécifiquement la recapture de la sérotonine. La plupart des antidépresseurs utilisés chez le chien tombent dans la catégorie mixte (voir paragraphe suivant). Parmi ces antidépresseurs, on compte la fluoxétine, la paroxétine, la sertraline et la fluvoxamine.

b *Mixtes (Sérotonine-Noradrénaline)*

Ces antidépresseurs sont des inhibiteurs de la recapture de sérotonine et de noradrénaline qui agissent en augmentant l'activité des voies descendantes inhibitrices qui modulent les signaux afférents.¹⁹¹

La duloxétine est un inhibiteur de la recapture de sérotonine et de la noradrénaline. Elle a été testée chez l'homme pour le traitement de l'arthrose ainsi que pour d'autres douleurs chroniques.^{192,193} Cette molécule a montré des effets bénéfiques pour diminuer la douleur ressentie.¹⁹⁴

Comme expliqué précédemment, le tramadol a aussi des propriétés similaires.¹⁸⁰

Récemment, l'utilisation de la venlafaxine a été préférée chez le chien puisque les données pharmacocinétiques obtenues avec cette molécule semblent plus avantageuses que celles obtenues avec la duloxétine.^{142,195}

ii Antidépresseurs tricycliques

L'amitriptyline et l'imipramine sont des antidépresseurs tricycliques. Longtemps utilisé pour traiter la douleur neuropathique chez l'humain, l'amitriptyline a aussi été administrée chez le chien pour traiter la douleur chronique.¹²⁰ Parmi les mécanismes suspectés pour expliquer ses effets, on compte une action centrale par inhibition de la recapture de sérotonine et de noradrénaline, un antagonisme NMDA, une amplification des effets dopaminergiques et GABA-ergiques, et une action périphérique par inhibition des canaux sodiques.^{142,196}

L'utilisation des ces drogues est limitée par leurs effets secondaires incluant polyurie, polydypsie, sédation, hypotension et xérostomie, ainsi que par leur courte demi-vie.^{142,197}

e *Anticonvulsivants*

i Inhibiteurs de canaux sodiques

Certaines molécules appartenant à des familles différentes partagent ce mode d'action comme, par exemple, l'amitriptyline.¹⁹⁶ A notre connaissance, peu d'information existe sur les molécules de cette famille dans le traitement de l'arthrose canine. La lamotrigine est un exemple de cette catégorie utilisée chez l'homme pour le traitement de la douleur neuropathique mais son profil pharmacocinétique chez le chien n'est pas favorable.⁹⁵

ii Gabapentinoïdes (gabapentine et prégabaline) : inhibiteurs des canaux calciques

Ce sont des analogues du GABA. Le plus connu est la gabapentine. Elle a été développée comme anticonvulsivant. Elle a ensuite été utilisée pour traiter la douleur neuropathique chez l'homme et chez le chien. Bien que ces effets ne soient pas complètement expliqués,

l'inhibition des canaux calciques est considérée comme son principal mécanisme d'action^{10,198,199} puisqu'on n'a montré aucune interaction avec les récepteurs GABA.^{84,199} Des effets sur les voies descendantes inhibitrices impliquant la sérotonine et la noradrénaline ont été démontrées.⁸⁴ Seuls des rapports anecdotaux existent quant à l'utilisation de la gabapentine chez les chiens arthrosiques.^{10,95,200} Bien que son utilisation semble de plus en plus courante,⁹⁵ le niveau d'évidence pour l'efficacité de la gabapentine comme analgésique chez le chien (et le chat) reste faible.¹⁴² La prégabaline est utilisée pour les mêmes indications chez les patients humains. Même si les études pharmacocinétiques de cette drogue chez le chien recommandent une administration de 4 mg/kg aux douze heures, la dose nécessaire chez le chien pour obtenir des effets analgésiques n'a pas été établie et son coût reste prohibitif pour l'instant.^{95,142}

f *Autres molécules : les immunomodulateurs*

L'omniprésence des mécanismes immunologiques est telle que de nombreux immunomodulateurs ont été testés *in vitro*. Parmi ceux-ci, un agoniste des récepteurs gamma activés par le proliférateur du péroxisome (PPAR) diminuait la production de NO et de MMP-13 induites par IL-1 β dans des cultures de cartilage arthrosique humain²⁰¹ et diminuait la concentration de PGE-2 dans des cultures de chondrocytes et de synoviocytes d'articulations arthrosiques canines.²⁰²

La cyclosporine A a été testée dans une étude pilote²⁰³ et n'a pas montré de bénéfices chez les chiens après rupture iatrogénique du ligament croisé crânial après 28 jours de traitement oral tel que mesuré par l'appui au sol.

La toxine botulique a été administrée par voie intra-articulaire chez 5 chiens de propriétaires souffrant d'arthrose chronique spontanée. Le traitement a entraîné une amélioration

temporaire du pic de force verticale et de l'impulsion verticale pour des périodes allant de 4 à 6 semaines après l'administration.²⁰⁴

La pentoxyfylline est un inhibiteur de la phosphodiesterase connue pour diminuer la production de TNF- α . Chez le rat, l'association pentoxyfylline-lyprinol a montré des effets bénéfiques dans un modèle d'inflammation chronique.²⁰⁵ L'inhibition de TNF- α a montré des effets bénéfiques dans un rapport de cas chez des patients humains souffrant d'arthrose du genou.²⁰⁶ L'amélioration du confort des patients s'est accompagnée d'une amélioration des lésions documentées par la résonance magnétique.

L'inhibition d'IL-1, par antagonisme de ses récepteurs pharmacologiques ou par thérapie génique, a été étudiée chez le chien,^{207,208} le lapin²⁰⁹ et le cheval²¹⁰ en conditions expérimentales. Cette inhibition a été associée à un ralentissement de la progression de l'arthrose²⁰⁷⁻²¹⁰ et à une diminution de l'expression des collagénases.²⁰⁷ Dans les essais cliniques humains, ces molécules ont cependant apporté peu d'évidence quant à leur efficacité. Un déficit pharmacocinétique a été suspecté pour expliquer cet échec relatif.²¹¹

D. LES PROCEDURES CHIRURGICALES

La plupart des procédures chirurgicales utilisées ont trois objectifs. Le premier est d'essayer de rétablir dans l'articulation un équilibre en faveur des processus anaboliques en diminuant l'inflammation et en stimulant les procédés normaux de guérison tissulaire. Le deuxième est d'améliorer le confort du patient, et le troisième est de prévenir ou de stabiliser le processus arthrosique.

a *Facilitation des processus anaboliques*

i **Lavage ou irrigation**

Bien que minimisant l'inflammation et les changements dégénératifs, le lavage arthroscopique ne permet pas de stopper complètement le processus d'arthrose une fois celui-ci initié.²¹² Contrairement à l'homme, il est à noter que les effets d'un lavage seul n'ont jamais été investigués spécifiquement chez le chien ou le chat.⁵

ii **Débridement des tissus anormaux**

Le débridement de l'articulation consiste à retirer les ostéophytes, les fragments ou les ménisques lorsque le cas se présente. Ce traitement exacerbe les lésions arthrosiques à plus ou moins long terme,^{213,214} et il est seulement recommandé pour améliorer le confort de certains patients.²¹⁵

Le développement de l'arthroscopie a permis de développer de nouvelles techniques pour le débridement des tissus endommagés (notamment dans les cas d'ostéochondrodystrophies) ou comme la synoviectomie partielle. Cette technique, toujours associée au lavage et si besoin au débridement des cartilages et des ménisques, consiste à retirer l'intima de la membrane synoviale. La source de facteur d'inflammation et de dégradation intra-articulaire est ainsi réduite.^{216,217}

iii Débridement du cartilage ou chondroplastie

Différentes techniques superficielles ou plus profondes ont été décrites. Certaines impliquent seulement le nivellement mécanique du cartilage endommagé pour obtenir une surface lisse. Aucune évidence ne permet de recommander ce traitement à l'heure actuelle.²¹⁵ La chondroplastie peut aussi se faire par traitement au laser,²¹⁸ sans que cela n'apporte davantage de bénéfices par rapport au traitement mécanique.²¹⁵

Comme le cartilage est avasculaire, la vascularisation de l'os sous-chondral doit être atteinte pour obtenir les éléments nécessaires à la guérison tissulaire. Le débridement du cartilage hyalin et la pénétration de l'os sous-chondral par forage²¹⁹ ou par microfracture^{220,221} vont permettre de rompre les vaisseaux sanguins et faciliter la mise en place d'un fibrocartilage.²²² Cependant celui-ci n'a pas les mêmes propriétés mécaniques que le cartilage hyalin et il est détérioré plus rapidement que le cartilage hyalin original.²²³ Cette procédure permet malgré tout une amélioration des signes cliniques chez l'homme, le chien et le cheval, même si les effets à long terme chez l'homme sont incertains.^{5,219,221,223,224} Une technique arthroscopique utilisant les effets thermiques d'une unité de radiofréquence pour débrider et stimuler la synthèse de fibrocartilage a été décrite.^{225,226} Cependant cette procédure n'est plus recommandée à cause de ses effets néfastes sur le cartilage autour de la lésion.¹⁰²

iv Greffes

Les greffes de cartilage ont été réalisées chez de nombreuses espèces.²¹⁵ Malheureusement, malgré de nombreuses améliorations incluant le choix du site donneur,²²⁷ l'ajout de facteurs de croissance²²⁸ ou les modifications de l'environnement,²²⁹ la restauration du cartilage reste sub-

optimale.²³⁰ Pour améliorer la survie des chondrocytes, les greffes ostéochondrales incluant le cartilage et la couche d'os sous-chondral associé ont été développées.²³¹ Avec ces techniques, la survie à long terme de la portion cartilagineuse n'est cependant pas garantie.²³² Dans un modèle chez le mouton, ce type de greffe a aussi été associé à la dégénérescence des chondrocytes du receveur avoisinant le greffon.²³³ En l'état actuel des connaissances, les greffes de cartilage ou les greffes ostéochondrales n'apportent pas chez l'homme de bénéfices évidents à long terme.²¹⁵ Puisque ces techniques peuvent offrir quelques années de confort, leur utilisation chez nos animaux de compagnie à l'espérance de vie plus courte reste intéressante.

Devant les problèmes d'incorporation et de survie des tissus greffés, la recherche s'est orientée vers la mise au point de composés stimulant la synthèse de tissus biologiques. Ces tissus cherchent à offrir une structure de base ou matrice, des cellules capables de synthétiser les composants du cartilage et enfin des molécules stimulant les synthèses et l'organisation du tissu.^{234,235}

Les résultats sont cependant loin d'offrir les résultats escomptés ; tant pour les qualités mécaniques et biologiques des tissus produits que pour la longévité de ces tissus.²¹⁵

b *Diminution de la stimulation douloureuse*

Le deuxième but est le traitement de la douleur en conservant la meilleure fonction articulaire possible.²³⁶ Les arthrodèses et les arthroplasties excisionnelles empêchent la stimulation biochimique et mécanique des nocicepteurs en supprimant l'articulation synoviale.²³⁶ Le plus souvent, il en résulte une démarche altérée mais une qualité de vie améliorée. Les résultats peuvent, notamment dans le cas de l'arthrodèse, varier suivant l'articulation traitée (résultats

très bons pour le carpe, décevant pour le coude).²³⁶ La mesure de l'appui par la plaque de force a montré qu'après 2 ans, l'arthrodèse partielle ou totale du carpe modifiait de manière significative les mesures obtenues, sans que cela ne semble altérer la fonction locomotrice générale des chiens traités.²³⁷ Pour l'articulation coxofémorale, l'utilisation de plus en plus répandue des prothèses totales permet aussi de supprimer la plupart des stimulations des nocicepteurs et a l'avantage d'offrir un meilleur résultat biomécanique, du moins pour les hanches²³⁸ et pour les coudes.^{236,238,239} Mais ces procédures ont un coût et un risque. Dans l'exemple des prothèses totales de coude, une importante amélioration de l'appui sur la plaque de force après remplacement total de l'articulation a été documentée à court terme chez des chiens souffrant d'arthrose spontanée sévère. Cependant, 20% des chiens de l'étude ont présenté des complications majeures (infection, fracture de l'humérus ou luxation).²³⁸ Une technique intermédiaire moins risquée consiste à supprimer la sensation douloureuse en pratiquant la dénervation de l'articulation arthrosique. Des résultats convenables ont été obtenus chez le chien au niveau de l'articulation coxo-fémorale.²⁴⁰

c *Ralentissement du processus arthrosique*

La stabilisation et le réalignement des articulations devraient ralentir la progression de la maladie.²⁴¹ La description des procédures visant à contrôler le développement de l'arthrose dépasse amplement le sujet de cette revue. Cependant, il est intéressant d'expliquer que des procédures ont été développées pour améliorer l'alignement et/ou la stabilité d'une articulation. On citera en exemple la triple ostéotomie du bassin (TPO)^{242,243} ou l'ostéotomie pour niveler le plateau tibial (TPLO).²⁴⁴ Les résultats de ces techniques sur le processus arthrosique sont variables.^{242,245-247} Malheureusement, une fois les processus dégénératifs

débutés, aucune chirurgie ne fait régresser les dommages déjà présents.²⁵ Dans un modèle d'arthrose provoquée par transection du ligament croisé crânial chez le chien, la distraction mécanique de l'articulation restaurait le métabolisme des protéoglycanes, sans complètement rétablir la teneur en protéoglycanes ou l'organisation histologique du cartilage.²⁴⁸

Les procédures de stabilisation ou d'alignement peinent aussi à stopper le processus une fois que celui-ci est initié. La dégénérescence des cartilages continue donc inexorablement malgré la correction.^{245,246} Par exemple, il a été montré que la TPLO ne modifiait pas de manière significative l'expression de biomarqueurs usuels de l'arthrose dans les genoux traités par rapport aux niveaux obtenus avant la chirurgie.²⁰

d *Conclusion*

Comme pour toute procédure chirurgicale, le coût, l'implication du propriétaire, les risques associés et les complications possibles doivent être pris en considération. Il faut aussi noter que l'intervention chirurgicale est parfois nécessaire comme dans le cas de lésions méniscales ou d'une souris articulaire. Dans les cas où l'arthroscopie est possible, cette technique est moins invasive qu'une arthrotomie et ainsi offre plus d'avantages post-opératoires.²³⁶ De nos jours, les différentes procédures chirurgicales apportent essentiellement un traitement préventif ou symptomatique de l'arthrose. Le développement de la thérapie par les cellules mésenchymateuses²⁴⁹ et de la thérapie génique donne certains espoirs.^{5,215}

E. LES CHONDROPROTECTEURS OU « AGENTS ANTI-ARTHROSIQUES MODIFIANT LA MALADIE »

Les connaissances dans le métabolisme du cartilage ne cessent de progresser. Ceci laisse entrevoir la possibilité de moduler ce métabolisme et de traiter de manière plus spécifique l'arthrose. Le terme « chondroprotecteur » est utilisé pour une substance qui pourrait :

- stimuler la synthèse des chondrocytes et des synoviocytes ;
- diminuer l'action catabolique des enzymes de dégradation ;
- inhiber la formation de thrombi et de fibrine dans les tissus périarticulaires.²⁵

Aucun composé connu à ce jour n'a, à lui seul, toutes ces propriétés et donc, une association de composés est nécessaire.²⁵ Dans les cas de composés répondant partiellement à la définition, le terme « agent anti-arthrosique modifiant la maladie » a été préféré.²⁵ La Société Internationale de Recherche sur l'Arthrose (OARSI) préconise maintenant un classement en deux sous-parties : ceux modifiant les symptômes et ceux modifiant la structure.^{11,250} Les agents modifiant la structure sont ceux qui sont capables de retarder, de stabiliser ou de réparer les lésions arthrosiques.²⁵¹ Pour alléger le texte, le terme « chondroprotecteur » sera utilisé. Ces molécules sont administrées de deux manières : par voie orale ou parentérale.

Un nutraceutique est un produit fabriqué à partir de substances alimentaires, mais rendu disponible sous forme de comprimé, de poudre, de potion ou d'autres formes médicinales habituellement non associées à des aliments, et qui s'est avéré avoir un effet physiologique bénéfique ou protecteur contre les maladies chroniques. De fait, de nombreux nutraceutiques ont vu le jour dans le traitement de l'arthrose, en particulier dans la classe des chondroprotecteurs. Le terme *nutraceutique* fait référence à l'ingrédient actif présent à l'état naturel dans un aliment qui procure un effet bénéfique pour la santé. Ce qui distingue le

nutraceutique de *l'aliment fonctionnel* (ou *aliments*) est que ce dernier a comme caractéristique d'être un produit qui se consomme sous forme d'aliment, alors que le nutraceutique se présente sous forme de pilule, de poudre, de supplément ou d'autres formes médicinales (Définitions par le Conseil Nutraceutique Vétérinaire Nord-Américain).

a ***Les chondroprotecteurs oraux***

i **Glucosamine**

La glucosamine est un sucre aminé précurseur des unités disaccharides des glycosaminoglycanes qui a un effet stimulant sur la synthèse de collagène et de protéoglycanes par les chondrocytes et les fibroblastes *in vitro*.^{25,252} La glucosamine est utilisée directement par les synoviocytes pour produire l'AH. Elle semble aussi préserver l'expression constitutive du collagène type II et moduler la synthèse des protéoglycanes par les chondrocytes des cartilages arthrosiques.²⁵ La glucosamine restaure aussi l'adhésion à la fibronectine, mécanisme améliorant les processus de réparation.²⁵³ Dans un modèle d'arthrose expérimentale chez le lapin, l'administration d'hydrochlorure de glucosamine préserve le renouvellement de l'os sous-chondral, sa structure et sa minéralisation.²⁵⁴ Cependant, dans ce même modèle, l'administration de glucosamine n'empêche pas la fibrillation et les érosions du cartilage articulaire.²⁵⁵

Ainsi, la glucosamine est essentiellement un précurseur, un stimulant et un modulateur de la synthèse des structures articulaires physiologiques.

Chez l'homme, des études de niveau I en médecine factuelle (études cliniques multicentriques randomisées et contrôlées) ont montré une diminution de la douleur, une augmentation de l'amplitude articulaire et une amélioration clinique comparable à celle de l'ibuprofène.²⁵⁶ Une

étude sur 2 ans²⁵⁷ a montré une réduction de la progression des lésions radiographiques chez les patients recevant du sulfate de glucosamine. Une métaanalyse récente pointe du doigt la différence entre les concentrations évaluées *in vitro*, et les concentrations bien inférieures apportées par les dosages oraux utilisés en conditions cliniques.²⁵⁸ Les données issues d'études cliniques récentes montrent aussi que l'administration de glucosamine est associée à des effets analgésiques bien inférieurs à ceux précédemment présentés.²⁵⁸ De plus, une autre métaanalyse a montré que la glucosamine n'avait pas été bénéfique pour la structure du cartilage après 1 an de traitement.²⁵⁹ Un effet faible à modéré a cependant été montré pour ralentir le rétrécissement de l'espace articulaire après trois ans de traitement.²⁵⁹ Il semble donc que les études les plus récentes remettent en cause les espoirs basés sur les premiers résultats rapportés pour cette molécule.

Une différence a été suspectée quant à la biodisponibilité des différents sels de glucosamine qui pourrait expliquer l'incohérence des résultats cliniques rapportés chez l'humain.²⁶⁰ Chez le chien, le sulfate de glucosamine a une excellente biodisponibilité orale et se retrouve au niveau des articulations.^{261,262} Les sels d'hydrochlorure ont une biodisponibilité inférieure :²⁶¹ une deuxième étude réalisée sur des chiens Beagle sains a mesuré la biodisponibilité orale d'hydrochlorates de glucosamine après une dose unique (12,1 à 12,7%) ou après administrations répétées (9,7 à 10,6%).²⁶³ Des études réalisées chez des chevaux sains produisent des chiffres comparables et montrent que les hydrochlorates de glucosamine pourraient avoir une biodisponibilité inférieure aux sulfates (de 5,9 à 6,1% pour les hydrochlorates versus 9,4% pour les sulfates).^{264,265} Il est à noter qu'une étude chez le rat remet en cause l'effet des sels sur la biodisponibilité de la glucosamine, remettant la responsabilité sur les caractéristiques de la glucosamine elle-même.²⁶⁶ Une étude clinique chez

l'humain a comparé directement les deux préparations, et n'a pas montré de différences d'efficacité ou de toxicité entre elles.²⁶⁷ A notre connaissance, aucune comparaison directe entre les différents sels de glucosamine n'a été réalisée chez le chien. A ce jour, l'essentiel des informations dont nous disposons dans cette espèce concerne les hydrochlorates de glucosamine. Il n'est pas impossible d'exclure que les différences apparentes observées entre différentes formulations de glucosamine soient en fait liées à la qualité (pureté) de la glucosamine administrée dans telle ou telle étude. Considérant la démonstration de disparités importantes sur la qualité des différentes formulations de glucosamine,²⁶⁸⁻²⁷⁰ il serait donc critique de vérifier la pureté de chaque formulation avant de procéder à son administration chez l'animal et à la détermination de sa biodisponibilité.

ii Chondroïtine

La diminution de la concentration en chondroïtine dans les cartilages avec l'âge a été associée à des phénomènes dégénératifs.²⁷¹ La chondroïtine est une glycosaminoglycane qui inhibe la destruction du cartilage *in vivo*,²⁷² en partie par inhibition des MMPs.²⁷³ D'autre part, la chondroïtine inhibe la synthèse de COX-2 et de PGE2 induites par l'IL-1.¹³ Elle pourrait aussi avoir des effets anti-inflammatoires qui ne dépendent pas de la COX-2, en inhibant la relâche de cytokines et en inhibant l'activation et la dégranulation des neutrophiles.²⁷³ Enfin, la chondroïtine est synthétisée par les plaquettes de manière physiologique et participe au contrôle de la coagulation ; son effet pourrait prévenir l'apparition de thrombi dans les capillaires de l'os sous-chondral et de la membrane synoviale.²⁷¹ Des études cliniques en double aveugle réalisées chez l'homme ont montré que le sulfate de chondroïtine réduisait la douleur, améliorait la mobilité articulaire, stabilisait le métabolisme articulaire, augmentait la

viscosité de la synovie et diminuait l'activité collagénolytique.²⁵ Quoiqu'il en soit, la chondroïtine semblerait diminuer le processus inflammatoire et réduire les mécanismes cataboliques associés à la condition arthrosique. Une étude clinique randomisée et contrôlée confirme les effets de la chondroïtine dans le traitement de l'arthrose du genou chez l'homme.²⁷⁴ Il est cependant incertain que ses résultats soient transposables chez le chien. D'une part, la biodisponibilité orale du sulfate de chondroïtine est très faible dans cette espèce.²⁶³ D'autre part, le passage de la chondroïtine au niveau des articulations est aussi discutée.^{273,275} A notre connaissance, aucune étude clinique contrôlée en double aveugle n'a été réalisée chez le chien pour la chondroïtine. Devant l'hétérogénéité des résultats et les biais identifiés dans les différentes études présentées, l'utilisation de la chondroïtine seule ne peut pas être actuellement recommandée pour le traitement de l'arthrose canine.¹⁰

iii Association glucosamine- chondroïtine

L'association glucosamine-chondroïtine augmente *in vitro* la synthèse de protéoglycanes par les chondrocytes sans effet détectable sur le collagène constitutif (type II) ou sur la prolifération cellulaire, contrecarre partiellement les effets de IL-1 β sur les synthèses de protéoglycanes et de métalloprotéinases, inhibe la synthèse de COX-2 et de PGE2 induite par IL-1, sans effet sur COX-1.¹³ Cela suggère que l'association glucosamine-chondroïtine interfère avec les effets délétères de l'un des principaux acteurs de la physiopathologie de l'arthrose.¹³ Le rôle anti-inflammatoire préventif de l'association glucosamine-chondroïtine a aussi été confirmé par scintigraphie sur un modèle de synovite aigue canine.²⁷⁶ Chez l'homme, l'association glucosamine-chondroïtine a été efficace dans le traitement d'arthrose modérée à sévère du genou mais pas lors de conditions arthrosiques moins sévères.²⁷⁷ A ce jour, certains

auteurs affirment que la littérature existante ne supporte pas l'utilisation de la glucosamine et de la chondroïtine pour le traitement de l'arthrose chez le chien.¹⁴²

iv Ascorbate de manganèse

L'ascorbate de manganèse est un oligo-élément co-facteur dans la synthèse des glycosaminoglycanes. Lorsqu'il est en défaut, son rôle est limitant dans la synthèse du cartilage et du liquide synovial.²⁷⁸ Il pourrait aussi avoir un rôle antioxydant.²⁷¹

v Dasuquin®

Le Dasuquin® est un mélange de glucosamine, chondroïtine et d'extraits non-saponifiables d'avocat et de soja. Une étude *in vitro* sur des cultures de chondrocytes équins a montré que les extraits non-saponifiables d'avocat et de soja avaient des effets anti-inflammatoires.²⁷⁹ Une deuxième étude *in vitro* sur des chondrocytes stimulés par des lipopolysaccharides a montré que les extraits non-saponifiables d'avocat et de soja pouvaient réduire la production de TNF- α , IL-1 β , COX-2, et de la NO synthase inductible à des niveaux similaires à ceux des chondrocytes non-stimulés.²⁸⁰ Dans un modèle expérimental d'arthrose du genou par transection du ligament croisé crânial, Boileau et collaborateurs ont montré que les extraits non-saponifiables d'avocat et de soja à raison de 10mg/kg/jour diminuaient significativement les lésions macroscopiques et microscopiques associées à l'arthrose. Une diminution significative de la NO synthase inductible et de la MMP-13 a aussi été documentée, suggérant une diminution du niveau d'inflammation articulaire.²⁸¹ Dans un modèle de défaut ostéochondral canin au niveau du genou, l'administration des extraits non-saponifiables à

raison de 300mg tous les 3 jours a permis de stimuler les processus de guérison tissulaires, possiblement par l'augmentation de production de TGF- β .²⁸²

Enfin une méta-analyse chez l'humain,²⁸³ supporte son utilisation chez les patients arthrosiques, avec un effet potentiellement plus important dans l'arthrose du genou que dans celle de la hanche.

vi Cosequin®

L'association hydrochlorure de glucosamine-sulfate de chondroïtine-ascorbate de manganèse (Cosequin®), en associant les propriétés vues précédemment, répond à la définition d'un chondroprotecteur au sens strict.^{25,271} Un sondage chez 3080 praticiens d'Amérique du Nord a rapporté une large utilisation du Cosequin® (64% des praticiens contactés), une très grande satisfaction à l'égard de ce produit (71 à 93 % des praticiens classaient les effets cliniques entre bon et excellent) et très peu d'effets secondaires (moins de 2 %) étaient décrits.²⁸⁴

Une action synergique entre les trois composés du Cosequin® est même souvent évoquée.^{25,285}

En conclusion, le Cosequin® semble présenter tous les avantages d'un chondroprotecteur. Cependant, malgré des données subjectives ou expérimentales en faveur d'un effet bénéfique de cette association chez le lapin, le cheval et le chien,²⁵ une étude de deux mois portant sur des chiens souffrant d'arthrose spontanée n'a montré d'amélioration ni clinique, ni dynamique après un traitement au Coséquin®,¹²⁹ avec un niveau modéré d'évidence en médecine factuelle.²

vii Diacerhéine

Cette molécule est un inhibiteur des interleukines classé parmi les agents modifiant la structure. Des études *in vitro* ont montré qu'elle induisait une réduction de l'apoptose des chondrocytes, ainsi qu'une réduction de la synthèse de caspase-3 et de l'enzyme inductible de synthèse du NO.²⁸⁶ Des études sur modèles arthrosiques chez le cobaye²⁸⁷ et le chien^{288,289} ont rapporté qu'un traitement oral avec diacerhéine diminuait le score de chondropathie^{287,289} mais les différences avec le groupe placebo contrôle n'étaient pas éclatantes. Des résultats similaires (bénéfices structuraux lors des évaluations radiographiques, en particulier sur la perte d'espace articulaire et l'indice fonctionnel Lequesne) ont été rapportés chez l'humain avec un suivi sur 3 ans²⁹⁰ ou encore n'ont pu démontrer un effet traitement sur un an.²⁹¹

viii Glyco Flex® et Lyproflex®

Ces composés sont des dérivés de la moule verte associés à d'autres composants (glucosamine, chondroïtine, méthyl sulfonyle méthane, acides gras ω -3 pour le Lyproflex® et encore plus pour le Glyco Flex® qui se décline sous différentes formulations I, II et III selon le niveau d'atteinte arthrosique de l'animal). Leurs propriétés seront traitées dans la partie sur les aliments fonctionnels.

ix S-Adénosyl méthionine

Cette molécule aurait un rôle anti-inflammatoire,²⁷¹ anti-radicaux libres, analgésique et augmenterait la synthèse des protéoglycanes.²⁵ Des études cliniques en médecine humaine ont montré l'efficacité de cette molécule dans le traitement de l'arthrose : ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires étaient comparables à celles du celecoxib.²⁹² Malgré ces

études prometteuses, son utilisation est toujours restée très discrète dans le traitement de l'arthrose canine.

Une étude clinique randomisée et contrôlée n'a pas montré d'amélioration significative des chiens arthrosiques traités à l'évaluation par la plaque de force. L'amélioration observée des chiens du groupe contrôle a pu cependant masquer les effets de cette molécule.²⁹³

x Doxycycline

Elle ralentirait la dégradation du cartilage en limitant les activités des MMPs¹³ et le remodelage de la couche la plus superficielle de l'os sous-chondral.²⁹⁴ Elle aurait un effet préventif et curatif.¹⁶⁰ Bien qu'ayant montré des effets bénéfiques chez l'homme,²⁹⁵ elle est très peu utilisée dans le traitement de l'arthrose canine alors que des résultats positifs ont été obtenus sur modèle expérimental canin.^{296,297}

b Les chondroprotecteurs parentéraux

i Adequan® (polysulfates de glycosaminoglycanes-PSGAG)

En concentration suffisante dans le liquide synovial, les PSGAG ont la propriété de se lier, et ainsi de bloquer, les protéinases dégradant les cartilages. Cet effet anti-catabolique a été prouvé *in vitro* :²⁹⁸ ils auraient un rôle de médiateurs dans la synthèse et la répliation des chondrocytes. Les PSGAG auraient aussi un rôle anti-inflammatoire.⁵ Une étude multicentrique a montré une tendance à l'amélioration des signes cliniques chez des chiens

adultes souffrant d'arthrose mais les résultats n'étaient pas significatifs.²⁹⁹ Une étude clinique sur 16 chiens a montré sur un mois des effets bénéfiques du traitement (injection intramusculaire 4,4 mg/kg, 2 fois par semaine pour 4 semaines) sur le score de boiterie et le taux sérique d'un marqueur du catabolisme cartilagineux.³⁰⁰ Puisque le produit est approuvé par la FDA, les propriétés bénéfiques pour le traitement de l'arthrose semblent acquises.¹⁴² Cependant, des études s'opposent sur la capacité de l'Adequan® à préserver l'homéostasie du cartilage *in vivo*.^{25,120} Le seul effet positif clinique confirmé de l'Adequan® chez le chien est un effet préventif.^{5,25} Ceci se retrouve chez le cheval : les PSGAG intra-articulaires semblent protéger le cartilage existant soumis à un traumatisme chimique mais n'ont aucun effet sur un modèle de défaut de cartilage.³⁰¹

ii CartroPHEN-VET® (pentosan polysulfate ou PPS)

Il améliorerait la mobilité articulaire, diminuerait la douleur, améliorerait les scores cliniques, augmenterait la fibrinolyse.²⁵ Le PPS réduirait aussi les dommages articulaires lors d'une utilisation préventive.³⁰² Cette molécule supporterait la synthèse de la matrice cartilagineuse extracellulaire et atténuerait la dégradation des cartilages par une liaison directe sur les enzymes ou par une inhibition de l'expression des gènes produisant les MMPs. *In vitro*, la synthèse d'AH par les synoviocytes arthrosiques, diminuée lors d'arthrose, retrouve un niveau normal en présence de PPS.¹³

Chez des chiens âgés souffrant d'arthrose, le Cartrophen-Vet® améliore la boiterie, la condition corporelle, la participation au jeu et le confort lors de la mobilisation des articulations.³⁰³ Il normaliserait la fonction thrombolytique et lipolytique ;³⁰⁴ cela pourrait

permettre d'améliorer la perfusion sanguine de la membrane synoviale et de l'os sous-chondral.¹³

Enfin, un essai clinique randomisé et contrôlé, sur un an, a été réalisée pour comparer le Cartrophen-Vet® à un placebo sur des chiens venant d'être opérés d'un ligament croisé. Dès la sixième semaine post-opératoire, les chiens recevaient 10 mg/kg de PPS calcique par voie orale une fois par semaine pour 4 semaines, et ce traitement était répété toutes les 12 semaines. Aucune différence radiologique ou de fonction n'a été décelée entre les groupes. Cependant, la concentration en kératane (protéoglycane associée aux états arthrosiques) dans la synovie était plus basse pour le groupe traité laissant penser que le PPS a un effet bénéfique sur la structure du cartilage arthrosique.³⁰⁵

Devant les résultats différents des deux études cliniques citées, des données supplémentaires manquent avant de recommander l'utilisation de cette molécule dans le traitement de l'arthrose canine.^{2,120} Une étude randomisée et contrôlée plus récente³⁰⁶ a montré un effet bénéfique du PPS chez des chiens souffrant de rupture du ligament croisé crânial. Le PPS était injecté par voie sous-cutanée une fois par semaine pour 4 semaines après stabilisation chirurgicale. Les effets bénéfiques ont été notés sur la force de décélération à l'analyse de la démarche par la plaque de force et sur des biomarqueurs urinaires du catabolisme des cartilages. L'impact clinique de ces changements reste à élucider. D'autre part, le Cartrophen-Vet® peut favoriser une thrombocytopénie et, à l'image de l'Adequan®, il diminue l'aggrégation plaquettaire. Il serait donc risqué de l'associer à des AINS à long terme.²⁵

iii Acide hyaluronique intra-articulaire

Les mécanismes d'action de l'AH ont été peu étudiés.³⁰² Une étude montre une amélioration des propriétés biochimiques de la synovie chez des chiens dont on a coupé le ligament croisé crânial.³⁰⁷ Il aurait en plus des effets anti-inflammatoires, anti radicaux libres et limiterait la migration des cellules inflammatoires dans l'articulation.^{25,302} Des études chez l'homme et chez le cheval ont montré un effet positif de cette molécule dans le traitement de l'arthrose^{25,302} mais une étude a montré une augmentation du catabolisme articulaire chez le mouton.⁴⁰ De plus, on peut noter une diminution marquée de la composition en protéoglycanes suivant une injection de AH intra-articulaire chez le chien.³⁰⁸ Cette diminution est transitoire. L'étude utilisait un modèle d'arthrose par transection du ligament croisé crânial, et a comparé 3 groupes de 10 chiens : un groupe contrôle, un groupe recevant l'AH durant les 5 premières semaines après chirurgie et un groupe recevant l'AH durant 5 semaines consécutives débutant 12 semaines après la chirurgie. Cette étude n'a montré aucun ralentissement du processus d'arthrose dans les genoux traités et aucune différence d'appui des membres dans les 32 semaines post-opératoires chez les groupes traités par rapport au groupe placebo.³⁰⁸ Cependant, sur des modèles canins d'arthrose du genou provoqués depuis deux mois, une administration d'AH intra-articulaire a diminué la sévérité des changements macroscopiques et histologiques du cartilage.³⁰⁹ Par opposition, une injection intra-articulaire au moment de la chirurgie n'a pas eu d'effets significatifs, montrant ainsi que l'AH n'aurait pas d'effet préventif.³⁰⁹ L'injection intra-articulaire d'AH a aussi des effets possiblement meilleurs que l'administration systémique.¹³ L'AH pourrait donc avoir un effet bénéfique sur l'arthrose en tant que traitement par ses effets mécaniques et pharmacologiques³⁰² sans pour autant avoir d'effet préventif.^{5,13} Une étude sur 20 chiens souffrant d'arthrose du genou après transection

de leur ligament croisé crânial a montré que l'injection d'AH intra-articulaire n'apportait aucune amélioration et aucun effet préventif.³¹⁰

A l'heure actuelle, aucune conclusion précise ne peut être donnée sur l'utilisation de l'AH dans le traitement de l'arthrose.²⁴

c *Preuves expérimentales en attente de confirmations cliniques*

i **Biphosphonates**

Ces molécules pourraient avoir des effets bénéfiques par leur potentiel analgésique,³¹¹ par la diminution de la taille des ostéophytes³¹² et par l'inhibition des ostéoclastes responsables de la résorption du cartilage à sa jonction avec l'os sous-chondral.³¹³ Les effets préventifs du zolédronate contre la dégénérescence du cartilage ont été montrés chez le rat.³¹³ Le tiludronate, autre molécule de la famille des biphosphonates, a été testé sur des chiens après transection de leur ligament croisé crânial dans une étude randomisée, contrôlée et en double aveugle.³¹¹ Une amélioration de leur fonction et de leur confort a été notée de manière objective, subjective et semi-subjective. Bien que les lésions macroscopiques chez le groupe traité étaient semblables à celles du groupe contrôle, les paramètres biochimiques et moléculaires étaient également significativement améliorés dans le groupe traité, témoignant d'un effet anti-inflammatoire et analgésique.

ii **Les chélateurs de radicaux libres**

Parmi ceux-ci, on compte la super oxyde dismutase, le glutathion, le di-méthyl sulfoxyde, les bioflavones, le méthyl sulfonyl méthane. Ces chélateurs ont été proposés pour traiter l'arthrose, mais aucune évidence de leur efficacité n'est disponible à ce jour.⁹

La super oxyde dismutase est l'enzyme transformant les superoxydes (radicaux libres) en peroxyde d'hydrogène. Elle aurait des effets anti-inflammatoires puissants mais ne ralentirait pas la guérison comme les corticoïdes et n'aurait pas d'effets secondaires observables.²⁷¹ Même si peu d'informations sont disponibles en médecine vétérinaire, ces molécules intéressent les chercheurs.³⁹

d *Nouvelles perspectives de recherche*

Sont aussi envisagées dans le traitement de l'arthrose : les collagènes de type II,³¹⁴ d'autres anti-oxydants,³¹⁵ ou des acides aminés.³¹⁵ La recherche se porte aussi sur la stimulation de la réparation des cartilages hyalins par des facteurs de croissance comme le TGF- β , le facteur de croissance similaire à l'insuline-1 (IGF-1) ou le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), seuls ou en association avec la thérapie régénératrice cellulaire.²⁴ L'apport de cellules capables de régénérer *in situ* les composants du cartilage a été considéré. Les injections de plasma enrichi en plaquettes^{316,317} ou de cellules souches³¹⁸ ont été proposés pour le traitement de l'arthrose. Peu d'évidence existe à ce jour, mais les résultats en médecine humaine sont encourageants ; tout au moins dans les stades précoces du développement de l'arthrose, ou en complément de traitements plus conventionnels. Chez le chien, des études cliniques montrent des résultats encourageants pour l'arthrose du coude²⁴⁹ ou des hanches,³¹⁹ même si le design expérimental et les analyses effectuées lors de ces études sont discutables et ne permettent pas de tirer une conclusion nette.

F. LES ALIMENTS FONCTIONNELS:

Ce sont des aliments préparés à base de matières premières contenant des nutraceutiques. Nous avons précisé auparavant la distinction entre aliment (ou aliment fonctionnel) et nutraceutique. Cette portion de la recension de littérature se limitera donc, à la différence de la précédente, uniquement aux aliments fonctionnels.

De nombreux chondroprotecteurs ou « agents modifiant la maladie » précédemment cités correspondent à cette définition car ils sont souvent incorporés dans l'aliment, comme par exemple la glucosamine, la chondroïtine, le manganèse, le S-adénosyl-méthionine ou encore les chélateurs de radicaux libres. Bien que souvent évoqués parmi le groupe des nutraceutiques, les aliments bruts qui contiennent différents composés de cette famille ne rentrent pas exactement dans cette définition. Nous les qualifierons d'« aliments fonctionnels ».

A *Moule verte*

La Moule verte (*Perna canaliculus*) contient différents composés appartenant au groupe des nutraceutiques : les acides gras poly-insaturés ω -3, des glycosaminoglycanes, des acides aminés, des vitamines et des minéraux.³²⁰ En 1993, Miller et associés ont mis en évidence des effets anti-inflammatoires pour un extrait osidique de la Moule verte.³²¹ La majorité des informations au sujet de la Moule verte provient de l'étude de ses extraits. Un extrait lipidique (appelé le Lyprinol®) a aussi montré des effets anti-inflammatoires (anti-COX et anti-lipoxygénase) chez le rat, avec très peu d'effets secondaires.³²² Ce même composé a prouvé

son efficacité clinique chez des patients humains souffrant d'arthrose du genou et de la hanche.³²³

Une étude par Bui et Bierer³²⁰ a évalué subjectivement l'effet de six semaines de poudre de Moule verte sur des chiens souffrant d'arthrose spontanée. Ils montrent une amélioration significative des scores évaluant la condition arthrosique. Pollard et ses associés³²⁴ ont seulement montré une tendance à l'amélioration chez des chiens arthrosiques de propriétaires. La différence des doses reçues par les animaux et des procédés de fabrication des composés utilisés entre les diverses études réalisées sur la Moule verte peuvent suffire à expliquer l'inconstance des résultats obtenus.³²⁴

Une étude randomisée et contrôlée en double-aveugle a montré que l'ajout de Moule verte à la ration de chiens souffrant d'arthrose entraînait une amélioration de leur condition orthopédique mesurée par des méthodes objectives (plaque de force) et subjectives (échelle visuelle analogique et index de douleur chronique).³²⁵

B *Poudre de bois de velours de Wapiti*

Une amélioration de la fonction articulaire a été prouvée subjectivement et objectivement chez des chiens de propriétaires recevant de la poudre de bois de velours de wapiti.³²⁶ Cette poudre contient de la chondroïtine mais un autre composant, la pantocrine, peut avoir des effets stimulants et myotrophiques qui pourraient aussi expliquer les résultats obtenus.³²⁶

C *Extraits de safrans indiens et javanais (P54FP®)*

Cet aliment contient des huiles essentielles et des curcuminoïdes. Une étude clinique prospective randomisée et contrôlée a été menée chez 54 chiens souffrant d'arthrose des coudes ou des hanches pour tester ce produit. Une amélioration subjective a été montrée³²⁷

avec un niveau modéré de confiance en médecine factuelle.² Durant cette étude, l'analyse objective de la démarche n'a pas montré d'amélioration significative avec le traitement.³²⁷

**D *Concentré spécial de protéines du lait de vaches
hyperimmunisées***

Ce produit empêcherait la migration des neutrophiles à partir de l'espace vasculaire.¹¹ Des évaluations subjectives élaborées et réalisées par les propriétaires ont décrit un effet bénéfique sur des chiens arthrosiques dans une étude clinique prospective randomisée et contrôlée.³²⁸

e *Aquamin® (Calcium extrait d'algues rouges)*

Un supplément minéral dérivé d'algues rouges a montré des propriétés bénéfiques dans le traitement de l'arthrose du genou chez l'homme.³²⁹ Ces résultats ont été expliqués par des propriétés anti-inflammatoires *in vitro*,³³⁰ ainsi que par la capacité d'inhiber le facteur de transcription NF (*nuclear factor*)-kappa B.³³¹

F *Brachystemma calycinum D. Don*

Cette plante issue de l'Himalaya aurait des effets inhibiteurs sur les récepteurs 2 activés par les protéases (PAR-2) impliquées dans l'arthrose et les voies d'inflammation, et en particulier via la NO synthase inductible,³³² tout en témoignant des bénéfices structuraux et fonctionnels sur le modèle expérimental d'arthrose canine induit par transection chirurgicale du ligament croisé crânial. L'administration de cette plante à des chiens de propriétaires souffrant d'arthrose a entraîné une amélioration significative de la condition arthrosique de ces chiens.³³³ Cette amélioration a été mesurée par des méthodes objectives : plaque de force et mesure de l'activité motrice par télémétrie, tout en étant associée à aucun effet secondaire notable.

g *Autres*

Des effets ont été suspectés, mais jamais démontrés chez le chien, pour d'autres produits tels une famille particulière de Yucca (les Agavacées),³¹⁵ *Boswellia serrata* (le guggul est une gomme résineuse sèche extraite de *Boswellia serrata*),^{11,334} le curcumin (*Curcuma longa* ou safran des Indes, rhizome de curcuma – cf P54FP – ou *Turmeric root*),³¹⁵ l'association avocat-soja,^{11,13} le Boron,¹¹ le cassis (*Ribes nigrum*), l'écorce de Saule (*Salix alba* ou *Willow bark*), la camomille (*Tanacetum parthenium* ou *Feverfew*), la bromélaïne (extrait de l'*Ananas comosus*) et la Griffes du Diable (*Harpagophytum procumbens*, une plante d'Amazonie).¹¹

Comme certains auteurs l'ont évoqué dans des cas particuliers, la fabrication et les contrôles des aliments fonctionnels, comme des nutraceutiques en général, ne sont pas réglementés. Ceci pose un problème de taille pour leur utilisation et l'étude de leurs effets. Il est possible que la qualité des produits varie dans le temps ou même entre les essais cliniques et la commercialisation.³¹⁵

G. LES DIETES THERAPEUTIQUES

Depuis plusieurs années, des diètes « vétérinaires » sont commercialisées. Certaines de ces diètes affirment avoir des propriétés bénéfiques pour les chiens souffrant d'arthrose.¹¹ Dans les publicités ou sur les fiches techniques, sont proposées notamment des propriétés de « soutien » pour les articulations, des effets anti-inflammatoires pour diminuer la douleur, le gonflement des articulations et les scores d'arthrose.^c

^c <http://www.royalcanin.ca/index.php/Veterinary-Exclusive-Nutrition/Canine-Nutrition/Veterinary-Therapeutic-Formulas/Mobility-Support-Dry> consulté le 10 Octobre 2012

Certaines diètes ont des densités énergétiques inférieures à la normale afin d'aider à contrôler le poids des chiens arthrosiques. Ces diètes contiennent des aliments fonctionnels comme la Moule verte³²⁰ ou sont complémentées en nutraceutiques.^{173-176,333} Une description comparative précise de ces diètes a été réalisée par Budsberg et Bartges.¹¹ Depuis cette revue de littérature, deux études ont montré l'efficacité de diètes contenant des acides gras ω -3.^{175,325} L'efficacité des suppléments a déjà été discutée dans la partie sur les aliments fonctionnels. Parmi ces diètes, on compte :

- La Diète Prescription Canine j/d[®] commercialisée par Hill's Science Diet.^d

Cette diète a pour source de protéine le poulet et contient de l'huile de poisson riche en acides gras ω -3 (dont le taux total est de 3,74% de matière sèche selon l'information du paquet), des hydrochlorures de glucosamine et des sulfates de chondroïtine. La densité énergétique est de 356 kcal par tasse.

- La Mobility Support[®], commercialisée par Medi-Cal/Royal Canin. Elle contient du poulet comme principale source de protéine. Elle est complémentée avec de la poudre de Moule verte (0,8% de matière sèche), des huiles de poisson (ω -3 constituent 1,5% de matière sèche), des hydrochlorures de glucosamine et des sulfates de chondroïtine (1 g/kg pour l'association glucosamine-chondroïtine). La densité énergétique est maintenue à 324 kcal par tasse.^c

- La JM Joint Mobility[®], commercialisée par Nestlé Purina PetCare. Elle est préparée à base de multiples sources de protéines incluant le saumon, la truite, le poulet et les œufs. Elle contient des acides gras ω -3 (0,85% matière sèche) et de la glucosamine à raison de 1 g/kg. Le

^d <http://www.hillspet.com/products/pd-canine-jd-canine-mobility-dry.html> consulté le 10 Octobre 2012

sel de glucosamine impliqué n'est pas spécifié. La densité énergétique est de 408 kCal par tasse.^e

Pour le moment, les acides gras ω -3, ainsi que la glucosamine et la chondroïtine ne sont pas reconnus comme nutriments essentiels par l'organisme de régulation des nourritures animales (AAFCO). Il n'existe donc pas de législation ni de règles quant à la teneur minimale ou maximale, la nature des ingrédients ou les procédés de fabrication. Il a été suggéré que les procédés d'extrusion pratiqués dans l'industrie des aliments pour chiens pourraient détériorer les propriétés des composés ajoutés aux diètes. A notre connaissance, aucune preuve n'existe à ce jour quant au contenu exact des diètes destinées à améliorer la condition arthrosique des chiens. De plus, même si de tels chiffres étaient disponibles, la dose nécessaire pour un effet thérapeutique reste à déterminer.

L'efficacité de ces diètes thérapeutiques a déjà été démontrée lors d'arthrose canine que ce soit *via* les effets anti-inflammatoires des acides gras ω -3 (*cf.* section II-B-3), ou chondroprotecteurs et anti-inflammatoires de la Moule verte (*cf.* section II-F-1) ou encore *via* le contrôle du poids corporel de l'animal (*cf.* sections II-A-2 et II-A-4) ou *via* l'administration d'une diète équilibrée (*cf.* section II-A-3). Dès lors, les compagnies de nutrition animale ont apporté un soin important à limiter l'apport énergétique mais aussi à incorporer des aliments de qualité susceptibles de minimiser les atteintes des organes d'élimination comme le foie et le rein, fréquemment fragiles dans la population arthrosique canine.

^e <http://www.purinaveterinarydiets.com/Product/JMJointMobilityDogFood.aspx> consulté le 10 Octobre 2012

H. CONCLUSION

D'après la méta-analyse conduite par Aragon et collaborateurs,² le seul traitement pour le chien arthrosique possédant un niveau élevé d'évidence d'efficacité est le méloxicam. La même étude décrit un niveau d'évidence modéré pour le carprofène et de l'étodolac.² La répétition de cette métaanalyse deux ans plus tard en utilisant les mêmes critères décrit un niveau élevé d'évidence d'efficacité pour le carprofène, le firocoxib et le méloxicam.¹²⁴

La deuxième méta-analyse décrit un niveau modéré d'évidence d'efficacité pour l'étodolac, la licofélone et les PSGAG, la poudre de bois de velours de Wapiti et pour la Moule verte. Elle recommande d'autres études afin de confirmer les effets de ces molécules.

A cause de la qualité des évaluations ou du nombre d'animaux inclus dans la plupart des études réalisées chez les chiens, les auteurs considèrent que les autres méthodes de traitement n'atteignent pas un niveau d'évidence assez fort pour être recommandées pour le moment pour traiter des chiens arthrosiques.

Il est intéressant de noter que parmi les huit modalités avec un niveau d'évidence correct en médecine factuelle dans cette étude, cinq sont des AINS.¹²⁴

Aucun traitement disponible à l'heure actuelle n'est entièrement satisfaisant dans le sens où l'essentiel des effets observés reste dans le cadre expérimental, ou encore dans le domaine symptomatique. Des études sur certaines molécules semblent suggérer un effet « réparateur » des cartilages, mais celui-ci reste à prouver. Leurs mécanismes d'action ne sont pas non plus totalement élucidés. Enfin des études cliniques prospectives randomisées, en double aveugle et contrôlées pour l'effet placebo manquent pour l'essentiel des molécules utilisées chez le chien. Le traitement de l'arthrose est donc toujours un domaine qui mérite une recherche active que

ce soit pour la physiopathologie de l'arthrose, ou pour la découverte de nouveaux traitements et de leurs mécanismes d'action.

III. EVALUATION CLINIQUE DE L'EFFICACITE DES DIFFERENTS TRAITEMENTS

Comme évoqué précédemment, les moyens d'évaluation du traitement de la condition arthrosique utilisés actuellement conduisent à des conclusions parfois controversées. Ceci remet en cause non seulement l'efficacité réelle des traitements mais aussi la validité, notamment la sensibilité et la spécificité des méthodes utilisées.

En août 2012, 42 études cliniques sur l'arthrose et réalisées chez le chien ou le chat ont été recensées sur la base de données MEDLINE de la plateforme OvidSP.^{98,107,113,119,127-129,131,132,143,144,169,173,174,176,204,293,299,303,305,314,320,324-328,333,335-348}

Parmi ces études, 20 (48%) utilisaient une méthode objective d'évaluation du traitement. Le plus souvent (18 études), la démarche observait une analyse cinétique (dite par « la plaque de force »^{127-129,131,132,173,204,293,325-327,333,338,340,342,343,346,348} ou encore la durée et l'intensité de l'activité locomotrice était mesurée de manière télémétrique (5 études).^{333,337,344,346,348} Les 22 autres études utilisaient seulement des méthodes subjectives. Dans 17 études, une méthode subjective complétait l'évaluation objective.^{127-129,131,132,173,204,293,325-327,333,337,338,343,346,348} Dans seulement 7 de ces 17 études (41%), la conclusion apportée par une méthode subjective différait de la conclusion apportée par la méthode objective.^{129,173,325,327,333,338,348} Dans 4 de ces 7 études,^{129,325,327,338} l'évaluation subjective était réalisée par les investigateurs. Cinq de ces études démontraient que les méthodes subjectives avaient un biais lié à l'espoir d'obtenir un effet traitement puisqu'une amélioration significative était notée dans le groupe contrôle, que l'évaluation ait été réalisée par l'investigateur¹³¹ ou par le propriétaire.^{98,173,325,337}

Dans les différentes études cliniques réalisées chez le chien arthrosique, les chercheurs ont évalué des paramètres liés à la pathologie de l'arthrose. Parmi ceux-ci, on compte A) les limitations de fonction physique, telles que la fonction locomotrice (analyses cinétique, cinématique, score de boiterie ou activité motrice), B) la douleur ressentie, ou encore C) les limitations dans les activités usuelles ou les participations restreintes, signes de détérioration de la qualité de vie, et enfin D) les changements structuraux.

A. EVALUATION DE LA FONCTION LOCOMOTRICE

La douleur ressentie au niveau des articulations impliquées dans la locomotion entraîne un changement de la démarche pour éviter la stimulation douloureuse. Cela se traduit chez les animaux par la boiterie.⁶⁷ Il existe plusieurs méthodes de quantification de la boiterie, à savoir par des évaluations objectives, basées sur des mesures découlant de notions de physique (poids, forces et accélérations/décélérations en cinétique, mouvements, temps et angles en cinématique et activité motrice), ou des évaluations subjectives, basées sur le ressenti de l'évaluateur face au niveau de boiterie manifesté par l'animal.

a *Analyse cinétique de la démarche par la plaque de force*

La plaque de force permet de mesurer les forces que le membre de l'animal exerce sur le sol lors de son appui. La mesure est réalisée dans trois directions orthogonales : médio-latérale, crânio-caudale et verticale (Figure 5).

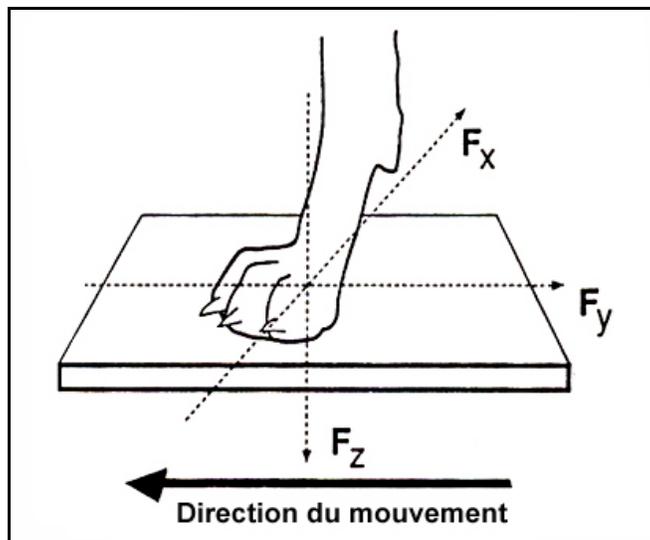


Figure 5 : Mesure des forces de réaction à l'appui d'un membre par la plaque de force sur les axes médio-latéral (F_x), crânio-caudal (F_y) et vertical (F_z) (D'après Budsberg, 1987).³⁴⁹

L'étude de ces forces permet une mesure quantitative et objective de la boiterie qui s'est montrée plus sensible que l'examen visuel.³⁵⁰ Il est important de mesurer plusieurs forces lors de l'évaluation afin de mieux cerner les différents aspects de chaque boiterie.³⁵¹ Il a cependant été montré que l'étude de la force médio-latérale avait peu d'amplitude et une importante variabilité chez les chiens.³⁵² Cela donnait des résultats peu significatifs ou peu utiles.³⁵² La plupart des études utilisent le pic de force verticale (intensité maximale de la force verticale), l'impulsion verticale (dérivée de la force verticale), et les pics négatif et positif de la force crânio-caudale (représentant respectivement le freinage et la propulsion).³⁵² L'association du pic de force verticale et de la vitesse de diminution de l'appui vertical dans le temps (*falling slope*) a permis une meilleure acuité pour discriminer des Labradors boiteux de Labradors avec une démarche normale.³⁵⁰ Il est important de standardiser le nombre de passages sur la

plaque, la technique de conduite du chien et la vitesse de son déplacement afin d'augmenter la répétabilité des mesures³⁵² et de limiter la fatigue de l'animal.³⁵³ Il existe aussi une variabilité inter-individuelle non-négligeable due aux différences de conformation des chiens^{354,355} ou au problème orthopédique dont ils souffrent.³⁵⁶

L'amélioration de l'appui est souvent utilisée pour évaluer l'amélioration de la fonction articulaire des chiens.^{2,3} Il est cependant clair que la boiterie peut aussi être provoquée par un problème purement mécanique comme dans l'exemple d'une luxation de rotule. Il existe donc des boiteries non associées à un phénomène douloureux.³⁵¹ Le grand avantage de la plaque de force est d'être capable de détecter de très légers changements grâce à la précision des mesures obtenues.³⁵⁷

La plaque de force (ou le matelas de pression) est un excellent outil dans le domaine expérimental. Dans le domaine clinique, il est cependant difficile de se limiter à ce seul outil car il ne sera jamais facilement disponible pour tous les praticiens.³⁵¹ En effet, un équipement coûteux et un personnel expérimenté sont nécessaires pour l'analyse cinétique, l'obtention de résultats précis et l'interprétation des données.³⁵²

Quarante trois pour cent des études cliniques recensées en 2012 utilisaient l'analyse cinétique. Ce chiffre est comparable à celui obtenu dans la méta-analyse réalisée par Aragon et al² où 6/15 soit 40% seulement des études utilisaient cet outil. L'évaluation par des mesures subjectives apparaît plus facilement réalisable, plus rapide et moins coûteuse que l'évaluation cinétique.^{129,131,326} Mais quelles en sont les valeurs respectives ?

Quoiqu'il en soit, l'analyse cinétique est un outil essentiel dans la recherche orthopédique chez le chien. Elle a permis de tester objectivement l'efficacité de nombreux traitements de l'arthrose canine.^{128,129,131,132,326,327,338,340,342} Il est aujourd'hui accepté que l'analyse cinétique

est la méthode de référence dans la mesure de la boiterie chez le chien.³⁵² Une étude chez des chiens souffrant d'une boiterie légère des membres pelviens rapporte une sensibilité de 0.9 et une spécificité de 1.0 pour le diagnostic de boiterie par le pic de force verticale mesuré par la plaque de force au trot.³⁵⁸ La variabilité du pic de force verticale et de l'impulsion verticale restent faibles lors de la répétition des mesures à un temps donné ou à une semaine d'intervalle.³⁵⁹ Le pic de force verticale semble le paramètre le plus intéressant dans le suivi des chiens arthrosiques, bien que l'impulsion verticale puisse être un marqueur plus intéressant pour l'arthrose des hanches.^{132,360}

b *Analyse cinématique*

Bien que l'étude de la démarche par la plaque de force semble un très bon outil pour évaluer la boiterie due à la douleur, sa sensibilité a été remise en question lors de boiterie d'origine mécanique, par exemple dans le cas de comparaison entre différentes techniques chirurgicales de réparation de rupture du ligament croisé crânial.³⁵² L'analyse cinématique de la démarche, c'est-à-dire des mouvements des différentes structures les unes par rapport aux autres, apporterait souvent une meilleure sensibilité.³⁵² Le faible nombre d'études réalisées chez les chiens arthrosiques met peu de données à notre disposition. L'attrait pour cette technique ne cesse de grandir.³⁶¹⁻³⁶³

Cette méthode souffre cependant de certaines limitations pour évaluer cliniquement les différents traitements de l'arthrose canine. D'une part, la variabilité intra-individuelle bien que faible,³⁵² reste non négligeable.³⁶⁴ D'autre part, l'impact de la morphologie de l'animal sur les résultats obtenus explique l'importante variabilité inter-individuelle.^{352,362,365} Un troisième facteur, semblable à la plaque de force, est que la mobilité de l'articulation dépend du confort

mais aussi de paramètres mécaniques.³⁶³ L'analyse cinématique de la démarche ne permet pas de caractériser l'importance relative de l'amélioration de la mobilisation de l'articulation *versus* le soulagement de la douleur une fois le phénomène d'arthrose installé. Par ailleurs, la méthodologie est encore perfectible et, à la différence de l'évaluation cinétique, aucune méthode ne fait l'unanimité, en particulier pour ce qui touche à l'utilisation des traceurs. Ces facteurs font que cet outil n'est pas le premier choix. Son rôle majeur dans l'étude des causes biomécaniques du développement de l'arthrose est cependant affirmé.^{352,366-368}

c *Analyse subjective de la fonction (examen orthopédique)*

L'analyse subjective de la fonction locomotrice a été largement utilisée comme moyen pour suivre les effets d'un traitement de l'arthrose. Sur les 27 études cliniques recensées, 17 utilisent un score basé sur un examen orthopédique plus ou moins approfondi, allant de la simple analyse subjective de la démarche par une échelle visuelle analogue¹³¹ jusqu'à un examen orthopédique complet incluant la mobilisation des articulations concernées ou la mesure angulaire de l'amplitude de mouvement articulaire.^{107,119,128,129,143,144,299,303,314,320,324,326,327,336,338,339}

Les résultats obtenus sont très variables. Dans certaines de ces études, l'examen orthopédique par le vétérinaire montre peu de sensibilité dans l'évolution de la condition de l'animal.^{128,326} ou lors de la discrimination entre des chiens d'un groupe placebo par rapport à des chiens traités.¹³¹ D'autres études montrent, au contraire, une bonne sensibilité de cet outil dans la discrimination des groupes.^{320,336} Une de ces deux études s'effectuait sur des chiens de chenil, et donc évalués directement dans leur environnement quotidien³²⁰; la deuxième étude testait le méloxicam, c'est-à-dire un produit réputé pour avoir un effet marqué.³³⁶

Une corrélation très faible a aussi été montrée entre les résultats obtenus par l'analyse cinétique et par l'examen orthopédique par les vétérinaires pour le diagnostic d'une boiterie modérée.^{369,370} Ceci montre l'importance prépondérante de l'analyse cinétique de la boiterie par une plaque de force ou un matelas de pression.

Une autre étude³⁷¹ a corroboré l'idée d'une faible corrélation entre les scores de locomotion par le propriétaire et par le vétérinaire. Ses auteurs expliquent cette différence par le stress subi par l'animal lors du transport et de l'arrivée en milieu hospitalier, ce qui peut influencer son comportement de manière plus importante que la douleur chronique qu'il ressent à ce moment précis.³⁷¹ De plus, la manipulation d'une région douloureuse peut aggraver une douleur faible à modérée et fausser l'évaluation du niveau de douleur quotidien.³⁷²

Devant ce constat, Hudson et associés³⁵¹ ont mis au point et affiné un questionnaire d'évaluation de la boiterie. Le but était de rendre les propriétaires complètement autonomes pour réaliser ce questionnaire dans leur environnement quotidien. Ils ont réussi à obtenir une liste de 19 questions dont les réponses avaient une bonne corrélation avec les résultats de la plaque de force pour des boiteries modérées.³⁵¹ Il s'agit du premier questionnaire aussi bien validé chez le chien.

d *Mesure télémétrique de l'activité locomotrice (Actimétrie)*

Dans les descriptions réalisées par les propriétaires,^{371,373,374} la diminution de l'activité générale du chien souffrant d'arthrose revient souvent comme un changement de comportement observable. Il a aussi été décrit des cas d'hyperactivité chez certains sujets.³⁷⁴ De plus, il a été montré que les cycles d'éveil et de sommeil étaient modifiés chez les patients atteints d'arthrose.^{373,374} Des systèmes de mesure de l'activité ont été mis au point chez

l'homme.³⁷⁵ Le système ActiWatch® a été utilisé pour mesurer de manière indirecte la dépense énergétique chez l'adulte et l'enfant.³⁷⁵ Il semble donner une quantification précise et répétable de l'activité chez ces individus.³⁷⁵ Chez l'homme, les graphes obtenus permettent d'identifier et de mesurer en temps les périodes de repos, les périodes d'activité modérée ou les périodes d'activité plus importante (sport, jeux physiques).³⁷⁵ Une étude expérimentale interne a montré qu'un compte de 30 (unité arbitraire propre au système) permettait de dissocier une période de repos d'une période active chez le chien (Dossier confidentiel A020CEV04D). Le suivi de l'activité par le système ActiWatch® a été récemment validé chez le chien^{175,344,376-378} et chez le chat.³⁷⁹

B. EVALUATION GENERALE DU NIVEAU DE DOULEUR RESSENTIE

Une fois considérés tous les composants psychologiques et physiologiques de la douleur, il est facilement admissible qu'il n'est pas aisé de reconnaître et de mesurer la douleur chez les animaux.³⁷⁴ Selon un document du collège américain des anesthésiologistes vétérinaires, la réponse des individus à la douleur varie avec de nombreux facteurs incluant l'âge, l'espèce, la race, le sexe et l'état de santé (d'après *Association of Veterinary Teachers and Research Workers*).³⁷⁴ Plusieurs moyens ont été retenus pour évaluer la douleur. Nous proposons ici une liste non exhaustive de ceux qui sont les plus utilisés dans la littérature vétérinaire.

a *Echelles de notation :*

Il existe trois principales échelles de notation.

L'échelle visuelle analogue (EVA) :³⁸⁰ L'évaluateur quantifie le niveau du paramètre évalué (la douleur ressentie par l'animal dans cet exemple) en plaçant un point sur une ligne de 10

cm. L'extrémité gauche de la ligne correspond à l'absence de douleur, l'autre extrémité à la douleur maximale possiblement perçue par l'animal, du moins comme le matérialise l'évaluateur. La distance en cm entre l'extrémité gauche et le point donne le score.

L'échelle de cotation numérique (ECN)³⁸¹ permet de faire correspondre un nombre entier au niveau de douleur ressenti par l'animal. Le point 0 représente l'absence de douleur et le score maximum, selon une échelle linéaire de Likert le plus souvent, représente la douleur maximale pouvant être ressentie. L'évaluateur choisit le nombre entier qui correspond au niveau de douleur de l'animal qu'il évalue.

L'échelle descriptive simple (EDS)³⁸¹ est une ECN où les chiffres sont représentés par des descriptions courtes. L'évaluateur choisit la description la plus appropriée. Le score sera le chiffre qui lui correspond.

Dans une étude sur la notation de boiterie chez les moutons par deux observateurs,³⁸² il a été montré une bonne corrélation entre les deux échelles EVA et ECN ainsi qu'une bonne reproductibilité et répétabilité pour chacune d'entre elles.^{382,383} Il n'y avait, en outre, aucune différence significative entre les scores obtenus par les différents observateurs pour chaque méthode. La sensibilité de l'EVA est plus forte que celle des autres méthodes de notation lors de la notation générale de la douleur ressentie. Par contre, l'EVA est réputée pour avoir plus de variations entre les évaluateurs.³⁷² Ceci pourrait être dû à l'absence de catégories pré-établies³⁷² ou de qualificatifs dont le sens peut changer suivant l'expérience personnelle des évaluateurs.^{351,384}

Par opposition à une étude réalisée chez des chiennes après ovario-hystérectomie,³⁸³ Conzemius et al montrent une absence de corrélation entre les méthodes d'évaluation subjectives permises par l'EVA et l'ECN avec les paramètres objectifs (fréquence cardiaque,

pression artérielle moyenne) et le seuil de tolérance à la douleur chez les chiens se réveillant d'une chirurgie de ligament croisé.³⁸⁵ L'EVA et l'ECN sont nettement influencées par la fréquence respiratoire et les vocalisations, alors que ces paramètres ne sont pas forcément reliées à un état de douleur.^{385,386} Ils montrent aussi une grande différence des comportements entre chaque chien, basée selon eux sur les degrés de domestication et de socialisation des individus.³⁸⁵ Cela compromettrait la validité des EDS et des ECN.

b *Activité électrodermique*

Cet appareil vise à mesurer la conductance électrique cutanée. Il est démontré que cette conductance est reliée à l'activité du système autonome. Ce système a été utilisé de manière extensive chez l'homme et l'animal pour quantifier non seulement la douleur, mais aussi l'anxiété et le stress.³⁸⁷ En effet, lorsque les nocicepteurs sont stimulés, le système nerveux autonome répond en même temps qu'un niveau de douleur est ressenti. Ce même système nerveux autonome peut agir sur la peau en diminuant l'activité électrique.³⁸⁷ Fenz et Epstein, en 1967, ont montré que l'activité électrodermique était influencée par les fonctions autonomes du cerveau et que cela variait avec l'excitation et l'anxiété.³⁸⁸ Cet outil a d'ailleurs été d'abord utilisé comme détecteur de mensonge.³⁸⁷ En 1982, Dowling montra que la mesure de la conductance cutanée était corrélée aux réponses obtenues au questionnaire de douleur de l'université McGill de Montréal (Québec, Canada) chez des humains venant de subir un stress de refroidissement.³⁸⁹ Enfin Hampf, en 1990, montra une augmentation significative (en moyenne 24%) de la résistance cutanée lors d'une douleur aiguë chez l'homme.³⁹⁰ Une étude chez l'homme montre une diminution de l'activité électrodermique chez les patients en dépression.³⁹¹ Enfin, une étude montre que des médicaments connus pour inhiber une partie de

la réponse du système nerveux autonome, prévenaient l'augmentation de la résistance cutanée chez le rat.^{392,393} A notre connaissance, aucune étude de cette nature n'a été réalisée chez le chien, et à plus forte raison lors de douleur chronique et en conditions cliniques. En effet, une étude expérimentale de douleur postopératoire chez le rat n'a pas permis de valider l'activité électrodermique quantifiée par l'appareil Pain Gauge® comme outil de mesure de la douleur.³⁹³ Mais notre propre groupe de recherche a observé chez le chien une certaine sensibilité de détection de la douleur par le Pain Gauge® en période postopératoire après chirurgie orthopédique³⁹⁴ et en condition chronique sur un modèle d'arthrose chirurgical.³¹¹ Toutefois, on notera que ces deux dernières études ont été réalisées en conditions expérimentales, soit dans un environnement standardisé susceptible d'amenuiser les sources de stress, après une certaine période d'acclimatation, toujours en présence du même personnel et avec des chiens qui se ressemblent. D'ailleurs, l'étude de Richardson et associés³⁹³ présente une validation négative du Pain Gauge®, mais on pourrait toujours argumenter que le rat est une espèce à haut tonus sympathique, donc pour laquelle le niveau de stress est plus susceptible d'interférer avec la valeur d'activité électrodermique.

c *Activité hypothalamo-hypophysaire-surrénalienne*

Bien que les hormones sériques (catécholamines, cortisol, vasopressine ou β -endorphines) soient certainement de bons marqueurs objectifs de la douleur post-opératoire,^{371,372,385,395} cela ne semble pas être le cas dans une situation chronique.³⁷² En effet, les résultats contradictoires obtenus dans la littérature³⁷¹ et les larges variations intra-individuelles³⁷¹ compromettent l'utilisation de cet outil dans le cadre d'un état chronique. Il est aussi accepté que ces mesures

apportent une indication sur le caractère négatif d'une expérience, pas forcément douloureuse.³⁷² Le trajet en voiture et l'arrivée à la clinique sont souvent perçus comme une expérience négative par les animaux.³⁷¹ D'autres considérations s'ajoutent comme les variations rapides au cours de la journée³⁹⁵ et la difficulté de réaliser un suivi étroit sur des durées plus importantes que lors des suivis postopératoires. Cet outil n'est pas utilisable dans des protocoles d'études cliniques chez des chiens de propriétaire où les mesures sont rares et espacées de plusieurs jours. De plus, il a été démontré que la mesure du cortisol n'est pas valable lors d'une douleur de faible grade.³⁷²

C. EVALUATION DES CONSEQUENCES SUR LA QUALITE DE VIE

La douleur arthrosique, comme toute douleur chronique, est une expérience particulièrement complexe qui a un impact très important sur la qualité de vie de l'humain et de l'animal. L'évaluation directe de la douleur étant extrêmement subjective, certains auteurs ont préféré évaluer les conséquences de cette douleur sur la qualité de vie, et plus particulièrement sur les limitations générées par la douleur chronique sur la réalisation d'activités (ou tâches) usuelles, sur la participation restreinte dans des interactions de jeux, d'échanges sociaux... Des outils évaluant la qualité de vie sont utilisés pour le suivi de la condition arthrosique.³⁷³ Parce que les changements affectant la qualité de vie peuvent s'exprimer de plusieurs manières, la plupart des outils utilisés sont des échelles multifactorielles évaluant plusieurs points comme les changements comportementaux (apparition de comportements nouveaux ou disparition de comportements habituels), les difficultés à réaliser des activités normales et la perte de fonction.³⁹⁶

a *Echelles multifactorielles*

Les échelles de douleur multifactorielles (MFPS) peuvent être des questionnaires comportementaux (scores psychométriques standardisés),³⁷³ des échelles multifactorielles de douleur, ou des échelles de cotation du bien-être.^{127,325,371} Les échelles multifactorielles de douleur ont été souvent utilisées dans les études cliniques vétérinaires.^{119,127,129,320,324-327,336,385,397,398} Les plus connues sont les échelles Melbourne,³⁸³ Helsinki^{127,325} ou le *Canine Brief Pain Inventory* (CPBI).^{293,399}

Une échelle multifactorielle est composée d'une série d'EDS ou d'ECN.³⁷² Chaque item est associé à une série de qualificatifs, eux-mêmes associés à un nombre. Le score final est la somme de tous les scores individuels.^{299,328,372,384}

b *Etude du comportement : Scores psychométriques standardisés*

i **Importance de l'étude du comportement**

Comme les nourrissons ou les personnes à capacité diminuée, les animaux n'ont pas la possibilité de décrire leur état de douleur. Des auteurs proposent d'examiner les comportements des animaux afin de déceler des signes liés à l'état de douleur chronique.³⁹⁵ Cela a même amené à une définition de la douleur plus adaptée : « La douleur chez les animaux est une expérience sensorielle aversive qui induit des actions motrices protectrices, résulte en un évitement appris et peut modifier des traits de comportement spécifiques à l'espèce, incluant le comportement social ». ⁴⁰⁰ Des comportements ont déjà été décrits comme pouvant révéler un état douloureux chez l'homme et les rats : démarche anormale, hyperventilation, mobilité et exploration réduites, troubles du sommeil, altérations des rapports sociaux.³⁹⁵ Cependant, même si beaucoup peuvent aussi être provoqués par le

stress,³⁹⁵ un niveau d'activité anormale (hyperactivité ou apathie), les rythmes de sommeil, le comportement exploratoire, l'appétit ou le comportement social semblent avoir un intérêt prometteur.³⁷⁴ Il en est de même pour le jeu, la mobilité, l'expression faciale et la posture.³⁷³ Il est accepté qu'un observateur, même naïf, est capable de mesurer ces comportements.³⁷³

Il est important de garder à l'esprit que même si un comportement est relié à un stimulus nociceptif, il ne sera pas forcément relié à l'intensité du stimulus.³⁷² Il est donc possible qu'une faible variation d'intensité d'un stimulus douloureux ne se répercute pas de manière directe sur le comportement. De même, on saisira immédiatement le défi de pondération de chaque catégorie de comportement à l'aide d'une EDS ou d'une ECN, car chaque changement de comportement ne peut pas systématiquement se traduire par une augmentation ou une diminution similaire dans l'intensité de douleur.

ii Importance de l'évaluation par le propriétaire à la maison

L'absence de comportements normaux est le signe le plus frappant lors de douleur chez un animal.³³⁶ Il est difficile de juger cela lorsqu'un animal se retrouve stressé dans un environnement inconnu où il n'aura pas de comportement normal, même sans douleur.³⁸⁴ De plus le propriétaire est la personne qui connaît le mieux les comportements normaux de son chien.^{336,351} Un chien peut sous l'effet du stress, cacher ou moins montrer sa boiterie.^{351,384} En outre, des études montrent que la douleur chronique peut être associée à des changements comportementaux très légers^{371,373} comme l'expression faciale.³⁷² Les comportements relatifs au bien-être comme le jeu ou l'appétit sont aussi à prendre en compte dans l'évaluation et ne sont pas, ou peu, exprimés en milieu hospitalier.³⁸⁴ De plus les opportunités pour exacerber l'expression d'un comportement ou des difficultés, comme les escaliers ou un sol glissant,

sont peu fréquentes en milieu hospitalier vétérinaire.³⁸⁴ Tout ceci souligne le rôle clé joué par le propriétaire dans l'évaluation de son animal. Dans une étude en double aveugle, l'évaluation globale de l'amélioration des chiens de pire (-1) à excellente (3) s'est montrée plus sensible lorsqu'elle était réalisée par le propriétaire plutôt que par le vétérinaire.³⁹⁶ L'évaluation globale par le propriétaire s'est aussi montrée plus sensible que l'examen physique du praticien.³⁹⁶

De nombreux rapports montrent que les propriétaires ne se rendent souvent pas compte de l'état de douleur chronique de leur animal et expliquent les changements dûs à l'arthrose par l'âge.^{5,67} Une part importante de la difficulté à caractériser un état de douleur chronique semble résider dans le fait que les signes cliniques se mettent en place progressivement, parfois sur plusieurs années. Il est donc sûrement plus facile de déceler l'efficacité d'un traitement dont les effets sont visibles sur quelques jours ou semaines que la douleur chronique en elle-même.^{371,401} Ainsi, ce n'est pas parce qu'un propriétaire ne se rend pas compte que son animal souffre, qu'il n'est pas apte à juger l'amélioration qu'offre un traitement. Les deux parties impliquées devraient travailler ensemble :^{336,371,374} le vétérinaire explique et interprète les données rapportées par le propriétaire.³⁷⁴

iii Limites des scores standardisés

Un score psychométrique standardisé doit être validé :

- validation de contenu lors de laquelle des experts confirment l'adéquation des paramètres psychométriques avec ce qu'ils sont supposés mesurer ;
- validation de construit (surtout) qui témoigne de la sensibilité, de la spécificité et du niveau de réponse de la grille ;

- fiabilité testant la répétabilité et la reproductibilité inter-observateurs de la mesure) pour s'assurer que les paramètres psychométriques utilisés sont à la fois sensibles (capables de détecter une différence quand elle existe) et spécifiques (non influencés par d'autres paramètres).

C'est par le processus de validation qu'on parvient à pondérer l'importance de chaque paramètre psychométrique les uns par rapport aux autres. Cependant, même s'il est validé, la principale limitation d'un score standardisé réside dans l'utilisation de descripteurs généraux et de comportements habituels pour une espèce. Les scores standardisés ne peuvent pas prendre en considération les différences de caractère individuel, d'environnement, d'activité ou d'interactions entre le propriétaire et son animal qui sont propres à chaque couple chien-propriétaire. Même la signification des termes utilisés pour décrire les comportements peut varier selon les propriétaires.³⁷¹

c *Questionnaires spécifiques d'évaluation fonctionnelle*

En conclusion d'une de leurs études, Conzemius et associés affirment que les signes de douleur sont un comportement subjectif unique pour chaque animal.³⁸⁵ Partagée par de nombreux auteurs, cette idée a fait naître des questionnaires spécifiques.

i **Les questionnaires « personnalisés »**

Récemment, un exemple de questionnaire spécifique, ou *Client-Specific Outcome Measures* (CSOM), a vu le jour : le *Cincinnati Orthopedic Disability Index* (CODI).^{328,396} Ce type de questionnaire est inspiré des questionnaires WOMAC⁴⁰² et MACTAR⁴⁰³ développés en médecine humaine.

Le CODI se base sur un maximum de cinq paramètres que le client choisit en présence du vétérinaire. Le client regardera l'évolution de ces paramètres le long de l'étude. Ainsi le questionnaire est adapté à chaque couple chien-proprétaire. Il permet de se focaliser sur les comportements modifiés pour un animal et, en même temps, sur les comportements que le propriétaire perçoit comme modifiés.

Ce questionnaire a montré une plus grande sensibilité que les questionnaires standardisés où seulement les comportements habituellement modifiés étaient reportés.³²⁸ Cela peut-être dû au fait que les comportements généralement modifiés restent normaux chez ce chien.³²⁸ Le propriétaire peut aussi ne pas être attentif à ces paramètres. Il peut aussi ne pas être apte à les juger dans l'environnement quotidien de l'animal ; par exemple, un comportement standardisé peut être « monter les escaliers », et l'animal peut très bien ne jamais être confronté à cette activité. Dans les trois cas cités, il n'est pas bon que ce paramètre apparaisse dans l'évaluation, d'où l'avantage d'un questionnaire spécialement conçu pour chaque patient.

Ce questionnaire a été utilisé pour l'évaluation d'un traitement de l'arthrose chez le chien^{175,328} et chez le chat.³³⁷ Dans ces trois exemples, il a fourni des résultats prometteurs.

Des questionnaires spécifiques d'une articulation sont aussi à l'essai.⁴⁰⁴

D. EVALUATION DES CHANGEMENTS STRUCTURAUX :

a *L'imagerie*

Le consensus actuel est qu'il n'existe pas de corrélation marquée entre l'apparence radiographique et l'état clinique de l'animal.⁴⁰⁵ Une étude clinique montre que, malgré une corrélation entre l'apparence radiographique (exostoses et fragments osseux) avec le score de mobilité, les corrélations entre les évaluations cliniques et l'examen radiologique sont très

faibles.^{371,406} En médecine humaine, la radiologie standard peut être utilisée pour évaluer les dommages cartilagineux au niveau des genoux. Cependant, les principaux critères utilisés (rétrécissement de l'espace articulaire, par exemple) ne sont pas compatibles avec le positionnement utilisé en radiologie des petits animaux.³ De plus, là encore, la relation entre les dommages structuraux et la douleur a été démontrée comme modeste dans l'arthrose humaine.⁴⁰⁷ La radiologie est essentiellement utilisée pour le diagnostic de l'arthrose, pour écarter d'autres pathologies ou pour le suivi à long terme.

Par la plus grande sensibilité qu'elle offre pour l'évaluation des cartilages,⁵ la résonance magnétique est une voie d'avenir dans l'évaluation des traitements de l'arthrose.³ La résonance est aussi plus sensible pour détecter les stades précoces d'arthrose.⁴⁰⁸ Elle s'est aussi montrée plus sensible que la radiographie pour la détection des lésions arthrosiques chez le chat.⁴⁰⁹ Malgré ces très nets avantages pour les projets expérimentaux, la répétition des anesthésies générales, le fait que la résolution spatiale limite l'examen des ménisques chez le chien, et le coût de cette modalité limitent son utilisation dans les projets cliniques réalisés sur des chiens de propriétaires.

b *Les marqueurs sériques et urinaires du métabolisme cartilagineux*

Peu de résultats concluants et validés ont été obtenus mais plusieurs types de molécules ont été étudiés :

- Fragments issus du clivage des protéoglycanes ou du collagène ;⁴¹⁰⁻⁴¹²
- Cytokines ;^{410,413}
- Autres protéines non collagéniques ;¹⁹

- Métalloprotéinases ;⁴¹⁴
- Marqueurs du métabolisme osseux.^{3,410,415}

Les marqueurs étudiés semblent plus spécifiques lorsqu'ils sont dosés dans le liquide synovial.^{9,415} L'arthrocentèse est une technique jugée trop invasive pour être utilisée dans le suivi de sujets dans un cadre clinique. De plus, l'inflammation causée par la ponction peut fausser les évaluations suivantes, tout comme le lavage articulaire peut être associé à des bénéfices anti-douleur. Nous serons limités au cours de notre étude aux marqueurs sériques et urinaires. La concentration en protéine de la matrice oligomérique du cartilage (COMP) dans le sérum est augmentée chez les chiens ayant naturellement développé de l'arthrose, par rapport à des chiens sains.¹⁹ Ceci est aussi vrai chez l'humain.⁴¹³ Ce marqueur pourrait avoir un intérêt dans le suivi des traitements. Les marqueurs de l'arthrose chez le chien ont été peu étudiés au niveau urinaire.⁹ Des études ont utilisées le dosage des télopeptides c-terminaux permettant l'adhésion type I et II (CTX-I et CTX-II) avec succès pour quantifier le développement d'arthrose après une ménisectomie partielle chez le chien.⁴¹⁶

E. METHODES SUBJECTIVES ET METHODES OBJECTIVES

Les moyens d'évaluation à notre disposition peuvent être classés en deux catégories : moyens objectifs et moyens subjectifs.³ Une méthode objective est une méthode d'évaluation dont les résultats ne dépendent pas de l'observateur, ce qui veut dire que les mesures ne varient pas en fonction de la personne qui les prend.^f Une méthode subjective, par opposition, nécessite une part d'interprétation qui dépend de l'expérience personnelle et de la compréhension de

^f Wikipedia consulté le 27 Juillet 2012: [http://en.wikipedia.org/wiki/Objectivity_\(science\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Objectivity_(science))

l'opérateur.⁸ Cette part d'interprétation, puisqu'elle est propre à chacun et qu'elle varie en fonction du temps, rend les méthodes subjectives moins reproductibles que les méthodes objectives. Des guides offrant des descriptions détaillées pour différentes catégories ont été développés pour limiter l'impact de l'interprétation lors de l'utilisation de méthodes subjectives. Les biais associés aux méthodes subjectives ont souvent été montrés du doigt.⁴¹⁷ Le principal biais reconnu chez l'homme est l'effet placebo : l'administration d'un produit sans activité intrinsèque (eau sucrée par exemple) peut produire des effets mesurables chez le patient. Chez l'animal, les effets observés lors des périodes contrôles semblent relever plus des attentes du propriétaire et du vétérinaire ;³²⁸ le terme *intent to treat* serait donc peut-être plus approprié. Par exemple, un phénomène d'*intent to treat* a possiblement été observé chez les chats arthrosiques puisqu'une amélioration des scores subjectifs a été obtenue sous placebo mais que celle-ci n'était pas présente sur l'actimétrie.³³⁷ Du fait de la taille d'échantillon réduite (n=13 chats), il est possible que l'absence d'effet sur l'actimétrie ait été lié à une erreur de type II, mais dans l'état des données recueillies à ce stade, il est plus plausible d'avancer un effet placebo sur l'évaluation subjective. En effet, si on rapporte un taux de non-répondants au traitement dans l'arthrose canine de 10 – 12%,¹⁴² on peut s'interroger sur l'adéquation du dit traitement à la condition de l'animal. Une étude récente a caractérisé la nature de l'atteinte arthrosique chez le chat et démontré qu'un pourcentage important (25%) des chats arthrosiques souffrait de sensibilisation nociceptive (seuil d'allodynie mécanique abaissé).⁴⁰⁹ Or, cette condition rencontrée également chez l'humain est récalcitrante au traitement par AINS, et dans la même étude,⁴⁰⁹ les chats allodyniques, à la différence des autres chats arthrosiques, n'ont pas répondu au méloxicam. Mais pour ce qui est de l'effet placebo, les

⁸ Wikipedia consulté le 27 Juillet 2012: [http://en.wikipedia.org/wiki/Subjectivity_\(science\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Subjectivity_(science))

données sont convergentes : S'appuyant sur les dossiers d'homologation (NADA pour *New Animal Drug Application*), KuKanich¹⁴² rapporte un effet placebo de 25% pour l'évaluation par les vétérinaires et de 39% pour l'évaluation par les propriétaires dans le dossier carprofène (NADA 141-053) dans l'arthrose canine. Le taux atteint 33% pour l'évaluation par les vétérinaires dans le dossier PSGAG (NADA 141-038). Un essai clinique randomisé⁴¹⁸ sur 58 chiens rapporte un effet placebo pour 39,7% des propriétaires et ce taux atteint 43,1 à 44,8% pour les vétérinaires (selon le type d'évaluation). Lors de l'évaluation cinétique, le seuil de changement positif ayant été fixé arbitrairement à 5% (par rapport à la valeur basale), le taux de répondants au placebo n'atteint après 42 jours que $7/58=12,1\%$.

Les études portant sur les traitements de l'arthrose par les nutraceutiques réalisées chez le chien utilisent pour la plupart des outils subjectifs non validés.³ Ces problèmes de méthodes pourraient conduire à l'introduction de biais importants et entraîner une exagération des bénéfices apportés par ces molécules.

L'utilisation de méthodes objectives (dosages de marqueurs, analyse cinétique ou cinématique de la démarche, actimétrie) est souvent préférée car ces méthodes, lorsqu'elles sont utilisées de manière adéquate, apportent des données non biaisées par le jugement de l'évaluateur.³ En effet, des données internes au Groupe de recherche en pharmacologie animale du Québec (GREPAQ) rapportent, sur $n=40$ chiens arthrosiques de propriétaires, un seuil minimal de changement détectable à 95% (MDC_{95}) sur l'évaluation cinétique après 4 semaines, de 3,6% en comparaison de la valeur basale. L'effet placebo était alors de 12,5%, soit très similaire à celui observé par Conzemius & Evans.⁴¹⁸ De plus, l'actimétrie, suivie concomitamment sur $n=33$ chiens, fut corrélée positivement à l'évaluation cinétique. Toutefois, si le phénomène d'*intent to treat* est susceptible de biaiser fortement les évaluations subjectives de douleur ou

de qualité de vie, induisant de fait qu'un effet traitement du produit testé ne sera démontré par une supériorité au placebo que si plus de 40% des animaux traités répondent favorablement au dit produit, les évaluations objectives ont également des limites. Ainsi toutes les évaluations de la fonction locomotrice (cinétique, cinématique, score de boiterie ou actimétrie) ou des changements structuraux sont affectées par des modifications biomécaniques non corrélées aux modifications neurophysiologiques qui se traduisent par de la douleur chronique (*cf.* l'absence de relation entre les atteintes structurelles et les évaluations cliniques précédemment citée). Par exemple, la plupart des chiens arthrosiques boitent à cause de la douleur, mais une composante biomécanique (ankylose, ostéophytes, instabilité) peut aussi influencer l'appui sur le membre. Le chien soulagé de sa douleur peut ainsi continuer à boiter. Cela peut provoquer des erreurs de type II (c'est-à-dire de ne démontrer aucune différence malgré une différence réelle). De façon opposée, la sensibilité de ces méthodes peut permettre de montrer des différences significatives sans que celles-ci aient une réelle signification clinique.³ Ceci explique en quoi la détermination d'une MDC₉₅ sur l'évaluation cinétique était si importante. En clair, si un chien démontre une modification inférieure au MDC₉₅ alors à 95% on est certain que ce changement n'est pas significatif.

Le manque de spécificité se retrouve également fortement dans les mesures physiologiques (biomarqueurs, activité électrodermique, *etc.*) possiblement affectées par le stress du transport, du milieu ou de l'évaluation proprement dite. C'est d'ailleurs la lacune principale qui fait craindre une impossibilité de leur utilisation en conditions cliniques.

Il demeure établi que la douleur chronique ou la qualité de vie sont des expériences purement subjectives.^{372,384} Les critères reflétant au mieux ces paramètres comme l'altération de l'expression de comportements normaux ou l'émergence de comportements non familiers,

antalgiques pour l'individu ou « une expression de tristesse dans les yeux »³⁷² ne sont pas directement évaluables par des méthodes objectives.

Des recommandations ont été établies pour améliorer la sensibilité et la spécificité des questionnaires telles que l'évaluation par le client ou l'utilisation de certaines variables.³⁷¹

D'autre part, il est possible de valider des méthodes subjectives : cela a déjà été réalisé chez l'humain.^{3,402,403} Des études récentes ont établi un questionnaire validé par une nouvelle méthodologie.^{373,401}

Puisque les méthodes objectives ne mesurent spécifiquement ni la douleur, ni la qualité de vie, il est impératif de bien définir le paramètre mesuré et sa relation avec le paramètre qu'on voudrait mesurer. En contrepartie, les études d'efficacité analgésique, en particulier dans les conditions chroniques comme l'arthrose animale, bénéficient grandement de l'utilisation d'une batterie d'outils complémentaires d'évaluation de la condition arthrosique et de son évolution dans le temps.

IV. SOURCES DOCUMENTAIRES

1. Lascelles BD, Henry JB, 3rd, Brown J, Robertson I, Sumrell AT, Simpson W, Wheeler S, Hansen BD, Zamprogno H, Freire M, Pease A. Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Vet Surg.* 2010 Jul;39(5):535-44.
2. Aragon CL, Hofmeister EH, Budsberg SC. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2007 Feb 15;230(4):514-21.
3. Budsberg SC. Outcome assessment in clinical trials involving medical management of osteoarthritis in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):815-23.
4. Johnston SA. Osteoarthritis. joint anatomy, physiology, and pathobiology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):699-723.
5. Todhunter RJ, Johnston SA. Osteoarthritis In: Slatter D, editor. *Textbook of Small Animal Surgery.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company Elsevier Science; 2003; p. 2208-46.
6. Boskey AL. Connective Tissues of the Musculoskeletal System In: Slatter D, editor. *Textbook of Small Animal Surgery.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company Elsevier Science; 2003; p. 1774-84.
7. Eyre DR. Collagens and cartilage matrix homeostasis. *Clin Orthop Relat Res.* 2004 Oct;(427 Suppl)(427 Suppl):S118-22.
8. Hardingham TE, Fosang AJ. The structure of aggrecan and its turnover in cartilage. *J Rheumatol Suppl.* 1995 Feb;43:86-90.
9. Steffey MA, Todhunter RJ. Osteoarthritis In: Bojrab MJ, Monnet E, editors. *Mechanisms of Disease in Small Animal Surgery.* 3rd ed. Jackson WY: Teton NewMedia; 2010; p. 731-42.

10. Innes JF. Arthritis In: Tobias KM, Johnston SA, editors. *Veterinary Surgery Small Animal*. 1st ed. St Louis, MO: Elsevier; 2012; p. 1078-96.
11. Budsberg SC, Bartges JW. Nutrition and osteoarthritis in dogs: Does it help? *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2006 Nov;36(6):1307,23, vii.
12. Martel-Pelletier J. Pathophysiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12 Suppl A:S31-3.
13. Henrotin Y, Sanchez C, Balligand M. Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: Present and future perspectives. *Vet J*. 2005 Jul;170(1):113-23.
14. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, Schaller JG, Talal N, Winchester RJ. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982 Nov;25(11):1271-7.
15. Innes JF, Little CB, Hughes CE, Caterson B. Products resulting from cleavage of the interglobular domain of aggrecan in samples of synovial fluid collected from dogs with early- and late-stage osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2005 Oct;66(10):1679-85.
16. Fosang AJ, Little CB. Drug insight: Aggrecanases as therapeutic targets for osteoarthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008 Aug;4(8):420-7.
17. Lang J, Busato A, Baumgartner D, Fluckiger M, Weber UT. Comparison of two classification protocols in the evaluation of elbow dysplasia in the dog. *J Small Anim Pract*. 1998 Apr;39(4):169-74.
18. Davidson RK, Waters JG, Kevorkian L, Darrah C, Cooper A, Donell ST, Clark IM. Expression profiling of metalloproteinases and their inhibitors in synovium and cartilage. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(4):R124.

19. Misumi K, Vilim V, Carter SD, Ichihashi K, Oka T, Sakamoto H. Concentrations of cartilage oligomeric matrix protein in dogs with naturally developing and experimentally induced arthropathy. *Am J Vet Res.* 2002 Apr;63(4):598-603.
20. Girling SL, Bell SC, Whitelock RG, Rayward RM, Thomson DG, Carter SC, Vaughan-Thomas A, Innes JF. Use of biochemical markers of osteoarthritis to investigate the potential disease-modifying effect of tibial plateau levelling osteotomy. *J Small Anim Pract.* 2006 Dec;47(12):708-14.
21. Brandt KD, Braunstein EM, Visco DM, O'Connor B, Heck D, Albrecht M. Anterior (cranial) cruciate ligament transection in the dog: A bona fide model of osteoarthritis, not merely of cartilage injury and repair. *J Rheumatol.* 1991 Mar;18(3):436-46.
22. Adams ME, Brandt KD. Hypertrophic repair of canine articular cartilage in osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *J Rheumatol.* 1991 Mar;18(3):428-35.
23. Fujita Y, Hara Y, Nezu Y, Schulz KS, Tagawa M. Proinflammatory cytokine activities, matrix metalloproteinase-3 activity, and sulfated glycosaminoglycan content in synovial fluid of dogs with naturally acquired cranial cruciate ligament rupture. *Vet Surg.* 2006 Jun;35(4):369-76.
24. Pelletier JP, Martel-Pelletier J. DMOAD developments: Present and future. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2007;65(3):242-8.
25. McLaughlin R. Management of chronic osteoarthritic pain. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2000 Jul;30(4):933,49, ix.
26. Hashimoto S, Takahashi K, Amiel D, Coutts RD, Lotz M. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 1998 Jul;41(7):1266-74.

27. Aigner T, Soder S, Gebhard PM, McAlinden A, Haag J. Mechanisms of disease: Role of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis--structure, chaos and senescence. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007 Jul;3(7):391-9.
28. Loeser RF, Shanker G, Carlson CS, Gardin JF, Shelton BJ, Sonntag WE. Reduction in the chondrocyte response to insulin-like growth factor 1 in aging and osteoarthritis: Studies in a non-human primate model of naturally occurring disease. *Arthritis Rheum*. 2000 Sep;43(9):2110-20.
29. Oshin AO, Stewart MC. The role of bone morphogenetic proteins in articular cartilage development, homeostasis and repair. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2007;20(3):151-8.
30. Billingham RC, Wu W, Ionescu M, Reiner A, Dahlberg L, Chen J, van Wart H, Poole AR. Comparison of the degradation of type II collagen and proteoglycan in nasal and articular cartilages induced by interleukin-1 and the selective inhibition of type II collagen cleavage by collagenase. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):664-72.
31. Sanchez C, Mateus MM, Defresne MP, Crielaard JM, Reginster JY, Henrotin YE. Metabolism of human articular chondrocytes cultured in alginate beads. Longterm effects of interleukin 1beta and nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Rheumatol*. 2002 Apr;29(4):772-82.
32. Sanchez C, Deberg MA, Piccardi N, Msika P, Reginster JY, Henrotin YE. Osteoblasts from the sclerotic subchondral bone downregulate aggrecan but upregulate metalloproteinases expression by chondrocytes. This effect is mimicked by interleukin-6, -1beta and oncostatin M pre-treated non-sclerotic osteoblasts. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 Nov;13(11):979-87.

33. Milner JM, Elliott SF, Cawston TE. Activation of procollagenases is a key control point in cartilage collagen degradation: Interaction of serine and metalloproteinase pathways. *Arthritis Rheum.* 2001 Sep;44(9):2084-96.
34. Venn G, Nietfeld JJ, Duits AJ, Brennan FM, Arner E, Covington M, Billingham ME, Hardingham TE. Elevated synovial fluid levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor associated with early experimental canine osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 1993 Jun;36(6):819-26.
35. Shimpo H, Sakai T, Kondo S, Mishima S, Yoda M, Hiraiwa H, Ishiguro N. Regulation of prostaglandin E(2) synthesis in cells derived from chondrocytes of patients with osteoarthritis. *J Orthop Sci.* 2009 Sep;14(5):611-7.
36. Tortorella MD, Malfait AM, Deccico C, Arner E. The role of ADAM-TS4 (aggrecanase-1) and ADAM-TS5 (aggrecanase-2) in a model of cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage.* 2001 Aug;9(6):539-52.
37. Attur M, Al-Mussawir HE, Patel J, Kitay A, Dave M, Palmer G, Pillinger MH, Abramson SB. Prostaglandin E2 exerts catabolic effects in osteoarthritis cartilage: Evidence for signaling via the EP4 receptor. *J Immunol.* 2008 Oct 1;181(7):5082-8.
38. de Boer TN, Huisman AM, Polak AA, Niehoff AG, van Rinsum AC, Saris D, Bijlsma JW, Lafeber FJ, Mastbergen SC. The chondroprotective effect of selective COX-2 inhibition in osteoarthritis: Ex vivo evaluation of human cartilage tissue after in vivo treatment. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009 Apr;17(4):482-8.
39. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. *Joint Bone Spine.* 2007 Jul;74(4):324-9.

40. Ghosh P, Smith M. The role of cartilage-derived antigens, pro-coagulant activity and fibrinolysis in the pathogenesis of osteoarthritis. *Med Hypotheses*. 1993 Aug;41(2):190-4.
41. Bondeson J. Activated synovial macrophages as targets for osteoarthritis drug therapy. *Curr Drug Targets*. 2010 May;11(5):576-85.
42. Blom AB, van Lent PL, Libregts S, Holthuysen AE, van der Kraan PM, van Rooijen N, van den Berg WB. Crucial role of macrophages in matrix metalloproteinase-mediated cartilage destruction during experimental osteoarthritis: Involvement of matrix metalloproteinase 3. *Arthritis Rheum*. 2007 Jan;56(1):147-57.
43. Bondeson J, Lauder S. Osteoarthritis synovial macrophages regulate the production of proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases via interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum*. 2004;50:S279.
44. Sakkas LI, Platsoucas CD. Role of T cells in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2002 Nov;46(11):3112-3.
45. Nalbant S, Martinez JA, Kitumnuaypong T, Clayburne G, Sieck M, Schumacher HR, Jr. Synovial fluid features and their relations to osteoarthritis severity: New findings from sequential studies. *Osteoarthritis Cartilage*. 2003 Jan;11(1):50-4.
46. Vaes RB, Rivadeneira F, Kerkhof JM, Hofman A, Pols HA, Uitterlinden AG, van Meurs JB. Genetic variation in the GDF5 region is associated with osteoarthritis, height, hip axis length and fracture risk: The rotterdam study. *Ann Rheum Dis*. 2009 Nov;68(11):1754-60.
47. van der Kraan PM, van den Berg WB. Osteophytes: Relevance and biology. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 Mar;15(3):237-44.

48. Dedrick DK, Goldstein SA, Brandt KD, O'Connor BL, Goulet RW, Albrecht M. A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate-deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months. *Arthritis Rheum.* 1993 Oct;36(10):1460-7.
49. Sniekers YH, Intema F, Lafeber FP, van Osch GJ, van Leeuwen JP, Weinans H, Mastbergen SC. A role for subchondral bone changes in the process of osteoarthritis; a micro-CT study of two canine models. *BMC Musculoskelet Disord.* 2008 Feb 12;9:20.
50. Day JS, Ding M, van der Linden JC, Hvid I, Sumner DR, Weinans H. A decreased subchondral trabecular bone tissue elastic modulus is associated with pre-arthritic cartilage damage. *J Orthop Res.* 2001 Sep;19(5):914-8.
51. Intema F, Hazewinkel HA, Gouwens D, Bijlsma JW, Weinans H, Lafeber FP, Mastbergen SC. In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage damage: Results from a canine ACLT-menisectomy model. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010 May;18(5):691-8.
52. Massicotte F, Lajeunesse D, Benderdour M, Pelletier JP, Hilal G, Duval N, Martel-Pelletier J. Can altered production of interleukin-1beta, interleukin-6, transforming growth factor-beta and prostaglandin E(2) by isolated human subchondral osteoblasts identify two subgroups of osteoarthritic patients. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002 Jun;10(6):491-500.
53. Hilal G, Massicotte F, Martel-Pelletier J, Fernandes JC, Pelletier JP, Lajeunesse D. Endogenous prostaglandin E2 and insulin-like growth factor 1 can modulate the levels of parathyroid hormone receptor in human osteoarthritic osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2001 Apr;16(4):713-21.
54. Lippiello L, Walsh T, Fienhold M. The association of lipid abnormalities with tissue pathology in human osteoarthritic articular cartilage. *Metabolism.* 1991 Jun;40(6):571-6.

55. Tobon GJ, Youinou P, Saraux A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2010 Aug;35(1):10-4.
56. Holderbaum D, Haqqi TM, Moskowitz RW. Genetics and osteoarthritis: Exposing the iceberg. *Arthritis Rheum.* 1999 Mar;42(3):397-405.
57. Kaandorp CJ, Dinant HJ, van de Laar MA, Moens HJ, Prins AP, Dijkmans BA. Incidence and sources of native and prosthetic joint infection: A community based prospective survey. *Ann Rheum Dis.* 1997 Aug;56(8):470-5.
58. Friedenbergs SG, Zhu L, Zhang Z, Foels WB, Schweitzer PA, Wang W, Fisher PJ, Dykes NL, Corey E, Vernier-Singer M, Jung SW, Sheng X, Hunter LS, McDonough SP, Lust G, Bliss SP, Krotscheck U, Gunn TM, Todhunter RJ. Evaluation of a fibrillin 2 gene haplotype associated with hip dysplasia and incipient osteoarthritis in dogs. *Am J Vet Res.* 2011 Apr;72(4):530-40.
59. Kellgren JH, Lawrence JS, Bier F. Genetic factors in generalized osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis.* 1963 Jul;22:237-55.
60. Innes JF, Clayton J, Lascelles BD. Review of the safety and efficacy of long-term NSAID use in the treatment of canine osteoarthritis. *Vet Rec.* 2010 Feb 20;166(8):226-30.
61. Innes JF, Sharif M, Barr AR. Relations between biochemical markers of osteoarthritis and other disease parameters in a population of dogs with naturally acquired osteoarthritis of the genual joint. *Am J Vet Res.* 1998 Dec;59(12):1530-6.
62. Buckwalter JA, Roughley PJ, Rosenberg LC. Age-related changes in cartilage proteoglycans: Quantitative electron microscopic studies. *Microsc Res Tech.* 1994 Aug 1;28(5):398-408.

63. Martin JA, Buckwalter JA. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85-A Suppl 2:106-10.
64. Lascelles BD, King S, Roe S, Marcellin-Little DJ, Jones S. Expression and activity of COX-1 and 2 and 5-LOX in joint tissues from dogs with naturally occurring coxofemoral joint osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2009 Sep;27(9):1204-8.
65. Marshall W, Bockstahler B, Hulse D, Carmichael S. A review of osteoarthritis and obesity: Current understanding of the relationship and benefit of obesity treatment and prevention in the dog. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2009;22(5):339-45.
66. German AJ, Hervera M, Hunter L, Holden SL, Morris PJ, Biourge V, Trayhurn P. Improvement in insulin resistance and reduction in plasma inflammatory adipokines after weight loss in obese dogs. *Domest Anim Endocrinol.* 2009 Nov;37(4):214-26.
67. Johnston SA. Overview of pain in the lame patient. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2001 Jan;31(1):39-53.
68. Wyke B. The neurology of joints: A review of general principles. *Clin Rheum Dis.* 1981;7:223-39.
69. Dye SF, Vaupel GL, Dye CC. Conscious neurosensory mapping of the internal structures of the human knee without intraarticular anesthesia. *Am J Sports Med.* 1998 Nov-Dec;26(6):773-7.
70. Kellgren JH. The sensitivity and innervation of the articular capsule. *J Bone Joint Surg Br.* 1950;32:84.
71. Mense S. Considerations concerning the neurobiological basis of muscle pain. *Can J Physiol Pharmacol.* 1991 May;69(5):610-6.

72. Zimmermann M. Pain mechanisms and mediators in osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 1989 May;18(4 Suppl 2):22-9.
73. Konttinen YT, Kemppinen P, Segerberg M, Hukkanen M, Rees R, Santavirta S, Sorsa T, Pertovaara A, Polak JM. Peripheral and spinal neural mechanisms in arthritis, with particular reference to treatment of inflammation and pain. *Arthritis Rheum.* 1994 Jul;37(7):965-82.
74. Bolay H, Moskowitz MA. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. *Neurology.* 2002 Sep 10;59(5 Suppl 2):S2-7.
75. Inglis JJ, Notley CA, Essex D, Wilson AW, Feldmann M, Anand P, Williams R. Collagen-induced arthritis as a model of hyperalgesia: Functional and cellular analysis of the analgesic actions of tumor necrosis factor blockade. *Arthritis Rheum.* 2007 Dec;56(12):4015-23.
76. Samad TA, Moore KA, Sapirstein A, Billet S, Allchorne A, Poole S, Bonventre JV, Woolf CJ. Interleukin-1beta-mediated induction of cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature.* 2001 Mar 22;410(6827):471-5.
77. Lamont LA. Multimodal pain management in veterinary medicine: The physiologic basis of pharmacologic therapies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008 Nov;38(6):1173,86, v.
78. Woolf CJ, American College of Physicians, American Physiological Society. Pain: Moving from symptom control toward mechanism-specific pharmacologic management. *Ann Intern Med.* 2004 Mar 16;140(6):441-51.
79. Kofoed H. Positive correlation between osteoarthritic ankle pain and bone marrow pressure. *J Rheumatol.* 1986 Aug;13(4):801-3.
80. Reimann I, Christensen SB. A histological demonstration of nerves in subchondral bone. *Acta Orthop Scand.* 1977;48(4):345-52.

81. Dickenson AH. Spinal cord pharmacology of pain. *Br J Anaesth*. 1995 Aug;75(2):193-200.
82. Meintjes RA. An overview of the physiology of pain for the veterinarian. *Vet J*. 2012 Aug;193(2):344-8.
83. Eide PK. Wind-up and the NMDA receptor complex from a clinical perspective. *Eur J Pain*. 2000;4(1):5-15.
84. Miljanich G, Rauck R, Saulino M. Spinal mechanisms of pain and analgesia. *Pain Pract*. 2013 Feb;13(2):114-30.
85. Bowersox SS, Gadbois T, Singh T, Pettus M, Wang YX, Luther RR. Selective N-type neuronal voltage-sensitive calcium channel blocker, SNX-111, produces spinal antinociception in rat models of acute, persistent and neuropathic pain. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996 Dec;279(3):1243-9.
86. Sluka KA. Blockade of N- and P/Q-type calcium channels reduces the secondary heat hyperalgesia induced by acute inflammation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998 Oct;287(1):232-7.
87. Verri WA, Jr, Cunha TM, Parada CA, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? *Pharmacol Ther*. 2006 Oct;112(1):116-38.
88. Harvey RJ, Depner UB, Wassle H, Ahmadi S, Heindl C, Reinold H, Smart TG, Harvey K, Schutz B, Abo-Salem OM, Zimmer A, Poisbeau P, Welzl H, Wolfer DP, Betz H, Zeilhofer HU, Muller U. GlyR alpha3: An essential target for spinal PGE2-mediated inflammatory pain sensitization. *Science*. 2004 May 7;304(5672):884-7.
89. Lu Y, Perl ER. A specific inhibitory pathway between substantia gelatinosa neurons receiving direct C-fiber input. *J Neurosci*. 2003 Sep 24;23(25):8752-8.

90. Budai D, Fields HL. Endogenous opioid peptides acting at mu-opioid receptors in the dorsal horn contribute to midbrain modulation of spinal nociceptive neurons. *J Neurophysiol.* 1998 Feb;79(2):677-87.
91. Lee YC, Nassikas NJ, Clauw DJ. The role of the central nervous system in the generation and maintenance of chronic pain in rheumatoid arthritis, osteoarthritis and fibromyalgia. *Arthritis Res Ther.* 2011 Apr 28;13(2):211.
92. McCann ME, Andersen DR, Zhang D, Brideau C, Black WC, Hanson PD, Hickey GJ. In vitro effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. *Am J Vet Res.* 2004 Apr;65(4):503-12.
93. Neugebauer V, Schaible HG. Evidence for a central component in the sensitization of spinal neurons with joint input during development of acute arthritis in cat's knee. *J Neurophysiol.* 1990 Jul;64(1):299-311.
94. Lemming D, Sorensen J, Graven-Nielsen T, Arendt-Nielsen L, Gerdle B. The responses to pharmacological challenges and experimental pain in patients with chronic whiplash-associated pain. *Clin J Pain.* 2005 Sep-Oct;21(5):412-21.
95. Mathews KA. Neuropathic pain in dogs and cats: If only they could tell us if they hurt. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008 Nov;38(6):1365,414, vii-viii.
96. Mersky H, Bogduk N. Classification of chronic pain. Seattle: IASP press; 1994; p. xi-xii.
97. Isola M, Ferrari V, Miolo A, Stabile F, Bernardini D, Carnier P, Busetto R. Nerve growth factor concentrations in the synovial fluid from healthy dogs and dogs with secondary osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011;24(4):279-84.

98. Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES, Roe SC, Marcellin-Little DJ, Davidson G, Boland E, Carr J. Amantadine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med.* 2008 Jan-Feb;22(1):53-9.
99. Arendt-Nielsen L, Nie H, Laursen MB, Laursen BS, Madeleine P, Simonsen OH, Graven-Nielsen T. Sensitization in patients with painful knee osteoarthritis. *Pain.* 2010 Jun;149(3):573-81.
100. Kosek E, Ordeberg G. Lack of pressure pain modulation by heterotopic noxious conditioning stimulation in patients with painful osteoarthritis before, but not following, surgical pain relief. *Pain.* 2000 Oct;88(1):69-78.
101. O'Driscoll SL, Jayson MI. Pain threshold analysis in patients with osteoarthrosis of hip. *Br Med J.* 1974 Sep 21;3(5933):714-5.
102. Cook JL, Marberry KM, Kuroki K, Kenter K. Assessment of cellular, biochemical, and histologic effects of bipolar radiofrequency treatment of canine articular cartilage. *Am J Vet Res.* 2004 May;65(5):604-9.
103. Richardson DC, Schoenherr WD, Zicker SC. Nutritional management of osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):883-911.
104. Millis DL, Levine D. The role of exercise and physical modalities in the treatment of osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):913-30.
105. Slater MR, Scarlett JM, Donoghue S, Kaderly RE, Bonnett BN, Cockshutt J, Erb HN. Diet and exercise as potential risk factors for osteochondritis dissecans in dogs. *Am J Vet Res.* 1992 Nov;53(11):2119-24.

106. Sallander MH, Hedhammar A, Trogen ME. Diet, exercise, and weight as risk factors in hip dysplasia and elbow arthrosis in labrador retrievers. *J Nutr.* 2006 Jul;136(7 Suppl):2050S-2S.
107. Impellizeri JA, Tetrick MA, Muir P. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2000 Apr 1;216(7):1089-91.
108. Dobenecker B, De Bock M, Engelen M, Goossens L, Scholz A, Kienzle E. Effect of mitratapide on body composition, body measurements and glucose tolerance in obese beagles. *Vet Res Commun.* 2009 Dec;33(8):839-47.
109. Gossellin J, McKelvie J, Sherington J, Wren JA, Eagleson JS, Rowan TG, Sunderland SJ. An evaluation of dirlotapide to reduce body weight of client-owned dogs in two placebo-controlled clinical studies in europe. *J Vet Pharmacol Ther.* 2007 Aug;30 Suppl 1:73-80.
110. Gossellin J, Peachey S, Sherington J, Rowan TG, Sunderland SJ. Evaluation of dirlotapide for sustained weight loss in overweight labrador retrievers. *J Vet Pharmacol Ther.* 2007 Aug;30 Suppl 1:55-65.
111. Mlacnik E, Bockstahler BA, Muller M, Tetrick MA, Nap RC, Zentek J. Effects of caloric restriction and a moderate or intense physiotherapy program for treatment of lameness in overweight dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2006 Dec 1;229(11):1756-60.
112. Moreau M, Troncy E, Bichot S, Lussier B. Influence of changes in body weight on peak vertical force in osteoarthritic dogs: A possible bias in study outcome. *Vet Surg.* 2010 Jan;39(1):43-7.
113. Kealy RD, Lawler DF, Ballam JM, Lust G, Biery DN, Smith GK, Mantz SL. Evaluation of the effect of limited food consumption on radiographic evidence of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2000 Dec 1;217(11):1678-80.

114. Huck JL, Biery DN, Lawler DF, Gregor TP, Runge JJ, Evans RH, Kealy RD, Smith GK. A longitudinal study of the influence of lifetime food restriction on development of osteoarthritis in the canine elbow. *Vet Surg.* 2009 Feb;38(2):192-8.
115. Lawler DF, Larson BT, Ballam JM, Smith GK, Biery DN, Evans RH, Greeley EH, Segre M, Stowe HD, Kealy RD. Diet restriction and ageing in the dog: Major observations over two decades. *Br J Nutr.* 2008 Apr;99(4):793-805.
116. Smith GK, Paster ER, Powers MY, Lawler DF, Biery DN, Shofer FS, McKelvie PJ, Kealy RD. Lifelong diet restriction and radiographic evidence of osteoarthritis of the hip joint in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2006 Sep 1;229(5):690-3.
117. Kealy RD, Lawler DF, Ballam JM, Lust G, Smith GK, Biery DN, Olsson SE. Five-year longitudinal study on limited food consumption and development of osteoarthritis in coxofemoral joints of dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1997 Jan 15;210(2):222-5.
118. Runge JJ, Biery DN, Lawler DF, Gregor TP, Evans RH, Kealy RD, Szabo SD, Smith GK. The effects of lifetime food restriction on the development of osteoarthritis in the canine shoulder. *Vet Surg.* 2008 Jan;37(1):102-7.
119. Hielm-Bjorkman A, Raekallio M, Kuusela E, Saarto E, Markkola A, Tulamo RM. Double-blind evaluation of implants of gold wire at acupuncture points in the dog as a treatment for osteoarthritis induced by hip dysplasia. *Vet Rec.* 2001 Oct 13;149(15):452-6.
120. Johnston SA, McLaughlin RM, Budsberg SC. Nonsurgical management of osteoarthritis in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008 Nov;38(6):1449,70, viii.
121. Crook T, McGowan C, Peard M. Effect of passive stretching on the range of motion of osteoarthritic joints in 10 labrador retrievers. *Vet Rec.* 2007 Apr 21;160(16):545-7.

122. Dahlberg J, Fitch G, Evans RB, McClure SR, Conzemius M. The evaluation of extracorporeal shockwave therapy in naturally occurring osteoarthritis of the stifle joint in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2005;18(3):147-52.
123. Mueller M, Bockstahler B, Skalicky M, Mlacnik E, Lorinson D. Effects of radial shockwave therapy on the limb function of dogs with hip osteoarthritis. *Vet Rec.* 2007 Jun 2;160(22):762-5.
124. Sanderson RO, Beata C, Flipo RM, Genevois JP, Macias C, Tacke S, Vezzoni A, Innes JF. Systematic review of the management of canine osteoarthritis. *Vet Rec.* 2009 Apr 4;164(14):418-24.
125. Sevar R. Audit of outcome in 455 consecutive patients treated with homeopathic medicines. *Homeopathy.* 2005 Oct;94(4):215-21.
126. Sarzi-Puttini P, Cimmino MA, Scarpa R, Caporali R, Parazzini F, Zaninelli A, Atzeni F, Canesi B. Osteoarthritis: An overview of the disease and its treatment strategies. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Aug;35(1 Suppl 1):1-10.
127. Hielm-Bjorkman A, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary therapies for canine osteoarthritis--part II: A homeopathic combination preparation (zeel). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 Dec;6(4):465-71.
128. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, Lincoln JD, Toombs JP, Whitehair JG, Lentz EL. Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1995 Mar 15;206(6):807-11.

129. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Desnoyers M. Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec.* 2003 Mar 15;152(11):323-9.
130. Autefage A, Palissier FM, Asimus E, Pepin-Richard C. Long-term efficacy and safety of firocoxib in the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec.* 2011 Jun 11;168(23):617.
131. Moreau M, Lussier B, Doucet M, Vincent G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Efficacy of licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec.* 2007 Apr 28;160(17):584-8.
132. Budsberg SC, Johnston SA, Schwarz PD, DeCamp CE, Claxton R. Efficacy of etodolac for the treatment of osteoarthritis of the hip joints in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1999 Jan 15;214(2):206-10.
133. Johnston SA, Fox SM. Mechanisms of action of anti-inflammatory medications used for the treatment of osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 1997 May 15;210(10):1486-92.
134. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol.* 1971 Jun 23;231(25):232-5.
135. Miranda HF, Prieto JC, Pinardi G. Spinal synergy between nonselective cyclooxygenase inhibitors and morphine antinociception in mice. *Brain Res.* 2005 Jul 12;1049(2):165-70.
136. Southall MD, Michael RL, Vasko MR. Intrathecal NSAIDS attenuate inflammation-induced neuropeptide release from rat spinal cord slices. *Pain.* 1998 Oct;78(1):39-48.
137. Johnston SA, Budsberg SC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):841-62.

138. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier JP. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis*. 2003 Jun;62(6):501-9.
139. Altman RD. Neutrophil activation: An alternative to prostaglandin inhibition as the mechanism of action for NSAIDs. *Semin Arthritis Rheum*. 1990 Feb;19(4 Suppl 2):1-5.
140. Garcia-Vicuna R, Diaz-Gonzalez F, Gonzalez-Alvaro I, del Pozo MA, Mollinedo F, Cabanas C, Gonzalez-Amaro R, Sanchez-Madrid F. Prevention of cytokine-induced changes in leukocyte adhesion receptors by nonsteroidal antiinflammatory drugs from the oxicam family. *Arthritis Rheum*. 1997 Jan;40(1):143-53.
141. Tsagareli MG, Nozadze I, Tsiklauri N, Gurtskaia G. Tolerance to non-opioid analgesics is opioid sensitive in the nucleus raphe magnus. *Front Neurosci*. 2011;5:92.
142. Kukanich B. Outpatient oral analgesics in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* [Internet]. 2013;in press:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.04.007>.
143. Doig PA, Purbrick KA, Hare JE, McKeown DB. Clinical efficacy and tolerance of meloxicam in dogs with chronic osteoarthritis. *Can Vet J*. 2000 Apr;41(4):296-300.
144. Nell T, Bergman J, Hoeijmakers M, Van Laar P, Horspool LJ. Comparison of vedaprofen and meloxicam in dogs with musculoskeletal pain and inflammation. *J Small Anim Pract*. 2002 May;43(5):208-12.
145. Burrows CF. The gastric mucosal barrier: why the stomach does not digest itself In: Bojrab MJ, Monnet E, editors. *Mechanics of Disease in Small Animal Surgery*. Third ed. Jackson, WY: Teton NewMedia; 2010; p. 146-58.

146. Rainsford KD. Profile and mechanisms of gastrointestinal and other side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Am J Med.* 1999 Dec 13;107(6A):27S,35S; discussion 35S-36S.
147. Moreau M, Daminet S, Martel-Pelletier J, Fernandes J, Pelletier JP. Superiority of the gastroduodenal safety profile of licofelone over rofecoxib, a COX-2 selective inhibitor, in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005 Feb;28(1):81-6.
148. Hudson N, Balsitis M, Everitt S, Hawkey CJ. Enhanced gastric mucosal leukotriene B4 synthesis in patients taking non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gut.* 1993 Jun;34(6):742-7.
149. Sessions JK, Reynolds LR, Budsberg SC. In vivo effects of carprofen, deracoxib, and etodolac on prostanoid production in blood, gastric mucosa, and synovial fluid in dogs with chronic osteoarthritis. *Am J Vet Res.* 2005 May;66(5):812-7.
150. O'Brien WM, Bagby GF. Carprofen: A new nonsteroidal antiinflammatory drug. pharmacology, clinical efficacy and adverse effects. *Pharmacotherapy.* 1987 Jan-Feb;7(1):16-24.
151. Mamdani M, Juurlink DN, Lee DS, Rochon PA, Kopp A, Naglie G, Austin PC, Laupacis A, Stukel TA. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors versus non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs and congestive heart failure outcomes in elderly patients: A population-based cohort study. *Lancet.* 2004 May 29;363(9423):1751-6.
152. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, Day R, Ferraz MB, Hawkey CJ, Hochberg MC, Kvien TK, Schnitzer TJ, VIGOR Study Group. Comparison of upper gastrointestinal toxicity of rofecoxib and naproxen in patients with rheumatoid arthritis. VIGOR study group. *N Engl J Med.* 2000 Nov 23;343(21):1520,8, 2 p following 1528.

153. MacPhail CM, Lappin MR, Meyer DJ, Smith SG, Webster CR, Armstrong PJ. Hepatocellular toxicosis associated with administration of carprofen in 21 dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1998 Jun 15;212(12):1895-901.
154. Anderson CC, Cook JL, Kreeger JM, Tomlinson JL, Wagner-Mann CC. In vitro effects of glucosamine and acetylsalicylate on canine chondrocytes in three-dimensional culture. *Am J Vet Res.* 1999 Dec;60(12):1546-51.
155. Manley PA. Treatment of degenerative joint disease In: Kirk RW, Bonagura JD, editors. *Current Veterinary Therapy.* 12th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc; 1995; p. 1196-9.
156. Brandt KD. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on chondrocyte metabolism in vitro and in vivo. *Am J Med.* 1987 Nov 20;83(5A):29-34.
157. Mastbergen SC, Marijnissen AC, Vianen ME, Zoer B, van Roermund PM, Bijlsma JW, Lafeber FP. Inhibition of COX-2 by celecoxib in the canine groove model of osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2006 Apr;45(4):405-13.
158. Benton HP, Vasseur PB, Broderick-Villa GA, Koolpe M. Effect of carprofen on sulfated glycosaminoglycan metabolism, protein synthesis, and prostaglandin release by cultured osteoarthritic canine chondrocytes. *Am J Vet Res.* 1997 Mar;58(3):286-92.
159. Rainsford KD, Skerry TM, Chindemi P, Delaney K. Effects of the NSAIDs meloxicam and indomethacin on cartilage proteoglycan synthesis and joint responses to calcium pyrophosphate crystals in dogs. *Vet Res Commun.* 1999 Mar;23(2):101-13.
160. Schnitzer TJ. Management of osteoarthritis In: McCarty DJ, Koopman WJ, editors. *Arthritis and allied conditions.* 12th ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993; p. 1761-9.

161. Pelletier JP, Lajeunesse D, Jovanovic DV, Lascau-Coman V, Jolicoeur FC, Hilal G, Fernandes JC, Martel-Pelletier J. Carprofen simultaneously reduces progression of morphological changes in cartilage and subchondral bone in experimental dog osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2000 Dec;27(12):2893-902.
162. Pelletier JP, Lajeunesse D, Hilal G, Jovanovic D, Fernandes JC, Martel-Pelletier J. Carprofen reduces the structural changes and the abnormal subchondral bone metabolism of experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 1999 May;7(3):327-8.
163. Pelletier JP, Boileau C, Brunet J, Boily M, Lajeunesse D, Reboul P, Laufer S, Martel-Pelletier J. The inhibition of subchondral bone resorption in the early phase of experimental dog osteoarthritis by licofelone is associated with a reduction in the synthesis of MMP-13 and cathepsin K. *Bone*. 2004 Mar;34(3):527-38.
164. Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Bias P, Laufer S, Haraoui B, Choquette D, Beaulieu AD, Abram F, Dorais M, Vignon E, Pelletier JP, Canadian Licofelone Study Group. Protective effects of licofelone, a 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibitor, versus naproxen on cartilage loss in knee osteoarthritis: A first multicentre clinical trial using quantitative MRI. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jun;68(6):938-47.
165. Pelletier JP, DiBattista JA, Raynauld JP, Wilhelm S, Martel-Pelletier J. The in vivo effects of intraarticular corticosteroid injections on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1, and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis. *Lab Invest*. 1995 May;72(5):578-86.
166. Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Protective effects of corticosteroids on cartilage lesions and osteophyte formation in the pond-nuki dog model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 1989 Feb;32(2):181-93.

167. Chunekamrai S, Krook LP, Lust G, Maylin GA. Changes in articular cartilage after intra-articular injections of methylprednisolone acetate in horses. *Am J Vet Res.* 1989 Oct;50(10):1733-41.
168. Cohn LA. Glucocorticoid therapy In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and cat.* 6th ed. St-Louis: WB Saunders Company, Elsevier, Inc; 2005; p. 508.
169. Miller WH. Fatty acid supplements as anti-inflammatory agents In: Kirk RW, Bonagura JD, editors. *Current Veterinary Therapy.* 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc; 1989; p. 563-6.
170. Baker KR, Matthan NR, Lichtenstein AH, Niu J, Guerhazi A, Roemer F, Grainger A, Nevitt MC, Clancy M, Lewis CE, Torner JC, Felson DT. Association of plasma n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids with synovitis in the knee: The MOST study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012 May;20(5):382-7.
171. Hurst S, Zainal Z, Catterson B, Hughes CE, Harwood JL. Dietary fatty acids and arthritis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010 Apr-Jun;82(4-6):315-8.
172. Hansen RA, Harris MA, Pluhar GE, Motta T, Brevard S, Ogilvie GK, Fettman MJ, Allen KG. Fish oil decreases matrix metalloproteinases in knee synovia of dogs with inflammatory joint disease. *J Nutr Biochem.* 2008 Feb;19(2):101-8.
173. Roush JK, Cross AR, Renberg WC, Dodd CE, Sixby KA, Fritsch DA, Allen TA, Jewell DE, Richardson DC, Leventhal PS, Hahn KA. Evaluation of the effects of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on weight bearing in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Jan 1;236(1):67-73.

174. Roush JK, Dodd CE, Fritsch DA, Allen TA, Jewell DE, Schoenherr WD, Richardson DC, Leventhal PS, Hahn KA. Multicenter veterinary practice assessment of the effects of omega-3 fatty acids on osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Jan 1;236(1):59-66.
175. Moreau M, Troncy E, Del Castillo JR, Bedard C, Gauvin D, Lussier B. Effects of feeding a high omega-3 fatty acids diet in dogs with naturally occurring osteoarthritis. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2012 Jul 14
176. Fritsch DA, Allen TA, Dodd CE, Jewell DE, Sixby KA, Leventhal PS, Brejda J, Hahn KA. A multicenter study of the effect of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on carprofen dosage in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Mar 1;236(5):535-9.
177. Bauer JE. The potential for dietary polyunsaturated fatty acids in domestic animals. *Aust Vet J.* 1994 Oct;71(10):342-5.
178. Kukanich B, Spade J. Pharmacokinetics of hydrocodone and hydromorphone after oral hydrocodone in healthy greyhound dogs. *Vet J.* 2013 May;196(2):266-8.
179. Lamont LA. Adjunctive analgesic therapy in veterinary medicine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008 Nov;38(6):1187,203, v.
180. Freye E, Latasch L, Von Bredow G, Neruda B. The opioid tramadol demonstrates excitatory properties of non-opioid character--a preclinical study using alfentanil as a comparison. *Schmerz.* 1998 Feb 28;12(1):19-24.
181. Malek S, Sample SJ, Schwartz Z, Nemke B, Jacobson PB, Cozzi EM, Schaefer SL, Bleedorn JA, Holzman G, Muir P. Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. *BMC Vet Res.* 2012 Oct 4;8:185,6148-8-185.

182. Pypendop BH, Ilkiw JE. Pharmacokinetics of tramadol, and its metabolite O-desmethyl-tramadol, in cats. *J Vet Pharmacol Ther.* 2008 Feb;31(1):52-9.
183. Kukanich B, Lascelles BD, Papich MG. Pharmacokinetics of morphine and plasma concentrations of morphine-6-glucuronide following morphine administration to dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005 Aug;28(4):371-6.
184. Weinstein SH, Gaylord JC. Determination of oxycodone in plasma and identification of a major metabolite. *J Pharm Sci.* 1979 Apr;68(4):527-8.
185. Kukanich B, Lascelles BD, Aman AM, Mealey KL, Papich MG. The effects of inhibiting cytochrome P450 3A, p-glycoprotein, and gastric acid secretion on the oral bioavailability of methadone in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005 Oct;28(5):461-6.
186. Bagge E, Brooks P. Osteoarthritis in older patients. optimum treatment. *Drugs Aging.* 1995 Sep;7(3):176-83.
187. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: New vistas of an old drug. *CNS Drug Rev.* 2006 Fall-Winter;12(3-4):250-75.
188. Smith HS. Potential analgesic mechanisms of acetaminophen. *Pain Physician.* 2009 Jan-Feb;12(1):269-80.
189. Savides MC, Oehme FW, Nash SL, Leipold HW. The toxicity and biotransformation of single doses of acetaminophen in dogs and cats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1984 Jun 15;74(1):26-34.
190. Papich MG. An update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008 Nov;38(6):1243,66, vi.
191. Ho KY, Huh BK, White WD, Yeh CC, Miller EJ. Topical amitriptyline versus lidocaine in the treatment of neuropathic pain. *Clin J Pain.* 2008 Jan;24(1):51-5.

192. Pergolizzi JV, Jr, Raffa RB, Taylor R, Jr, Rodriguez G, Nalamachu S, Langley P. A review of duloxetine 60 mg once-daily dosing for the management of diabetic peripheral neuropathic pain, fibromyalgia, and chronic musculoskeletal pain due to chronic osteoarthritis pain and low back pain. *Pain Pract.* 2012 Jun 21
193. Cui Z, Zhao Y, Novick D, Faries D. Predictors of duloxetine adherence and persistence in patients with fibromyalgia. *J Pain Res.* 2012;5:193-201.
194. Hochberg MC, Wohlreich M, Gaynor P, Hanna S, Risser R. Clinically relevant outcomes based on analysis of pooled data from 2 trials of duloxetine in patients with knee osteoarthritis. *J Rheumatol.* 2012 Feb;39(2):352-8.
195. Howell SR, Hicks DR, Scatina JA, Sisenwine SF. Pharmacokinetics of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine in laboratory animals. *Xenobiotica.* 1994 Apr;24(4):315-27.
196. Vadalouca A, Siafaka I, Argyra E, Vrachnou E, Moka E. Therapeutic management of chronic neuropathic pain: An examination of pharmacologic treatment. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Nov;1088:164-86.
197. Kukes VG, Kondratenko SN, Savelyeva MI, Starodubtsev AK, Gneushev ET. Experimental and clinical pharmacokinetics of amitriptyline: Comparative analysis. *Bull Exp Biol Med.* 2009 Apr;147(4):434-7.
198. Marais E, Klugbauer N, Hofmann F. Calcium channel alpha(2)delta subunits-structure and gabapentin binding. *Mol Pharmacol.* 2001 May;59(5):1243-8.
199. Sills GJ. The mechanisms of action of gabapentin and pregabalin. *Curr Opin Pharmacol.* 2006 Feb;6(1):108-13.
200. Gaynor J. Other drugs used to treat pain In: Gaynor J, Muir S, editors. *Handbook of veterinary pain management.* St-Louis: Mosby; 2008; p. 260.

201. Fahmi H, Di Battista JA, Pelletier JP, Mineau F, Ranger P, Martel-Pelletier J. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activators inhibit interleukin-1beta-induced nitric oxide and matrix metalloproteinase 13 production in human chondrocytes. *Arthritis Rheum.* 2001 Mar;44(3):595-607.
202. Hanks BC, Kuroki K, Stoker AM, Cook JL. Evaluation of anti-inflammatory and chondroprotective effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in cartilage and synovial explants from dogs. *Am J Vet Res.* 2010 Oct;71(10):1142-7.
203. de Mello Souza CH, Headrick J, Weigel JP, Millis DL. The use of cyclosporine-A in dogs with chronic osteoarthritis: A pilot study. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011;24(4):285-8.
204. Hadley HS, Wheeler JL, Petersen SW. Effects of intra-articular botulinum toxin type A (botox) in dogs with chronic osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2010;23(4):254-8.
205. Whitehouse MW. Anti-TNF-alpha therapy for chronic inflammation: Reconsidering pentoxifylline as an alternative to therapeutic protein drugs. *Inflammopharmacology.* 2004;12(3):223-7.
206. Grunke M, Schulze-Koops H. Successful treatment of inflammatory knee osteoarthritis with tumour necrosis factor blockade. *Ann Rheum Dis.* 2006 Apr;65(4):555-6.
207. Caron JP, Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Tardif G, Mineau F, Geng C, Pelletier JP. Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis. suppression of collagenase-1 expression. *Arthritis Rheum.* 1996 Sep;39(9):1535-44.

208. Pelletier JP, Caron JP, Evans C, Robbins PD, Georgescu HI, Jovanovic D, Fernandes JC, Martel-Pelletier J. In vivo suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin-1 receptor antagonist using gene therapy. *Arthritis Rheum.* 1997 Jun;40(6):1012-9.
209. Fernandes J, Tardif G, Martel-Pelletier J, Lascau-Coman V, Dupuis M, Moldovan F, Sheppard M, Krishnan BR, Pelletier JP. In vivo transfer of interleukin-1 receptor antagonist gene in osteoarthritic rabbit knee joints: Prevention of osteoarthritis progression. *Am J Pathol.* 1999 Apr;154(4):1159-69.
210. Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, Evans CH, McIlwraith CW. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther.* 2002 Jan;9(1):12-20.
211. Calich AL, Domiciano DS, Fuller R. Osteoarthritis: Can anti-cytokine therapy play a role in treatment? *Clin Rheumatol.* 2010 May;29(5):451-5.
212. Chang RW, Falconer J, Stulberg SD, Arnold WJ, Manheim LM, Dyer AR. A randomized, controlled trial of arthroscopic surgery versus closed-needle joint lavage for patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum.* 1993 Mar;36(3):289-96.
213. Neyret P, Donell ST, Dejour H. Osteoarthritis of the knee following meniscectomy. *Br J Rheumatol.* 1994 Mar;33(3):267-8.
214. Sprague NF, 3rd. Arthroscopic debridement for degenerative knee joint disease. *Clin Orthop Relat Res.* 1981 Oct;(160)(160):118-23.
215. Hunziker EB. Articular cartilage repair: Basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002 Jun;10(6):432-63.
216. Troise Rioda W, Nervetti A, Ugolotti G, Adorni G. Knee radiosynovectomy with Y90 in patients with rheumatoid arthritis: Our experiences. *Reumatismo.* 2008 Jul-Sep;60(3):206-11.

217. Gattorno M, Gerloni V, Morando A, Comanducci F, Buoncompagni A, Picco P, Fantini F, Pistoia V, Gambini C. Synovial membrane expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor 1 in juvenile idiopathic arthritides. *J Rheumatol.* 2002 Aug;29(8):1774-9.
218. Vangsness CT, Jr, Smith CF, Marshall GJ, Sweeney JR, Johansen E. The biological effects of carbon dioxide laser surgery on rabbit articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res.* 1995 Jan;(310)(310):48-51.
219. Ficat RP, Ficat C, Gedeon P, Toussaint JB. Spongialization: A new treatment for diseased patellae. *Clin Orthop Relat Res.* 1979 Oct;(144)(144):74-83.
220. Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK, Rodrigo JJ. The microfracture technic in the management of complete cartilage defects in the knee joint. *Orthopade.* 1999 Jan;28(1):26-32.
221. Frisbie DD, Trotter GW, Powers BE, Rodkey WG, Steadman JR, Howard RD, Park RD, McIlwraith CW. Arthroscopic subchondral bone plate microfracture technique augments healing of large chondral defects in the radial carpal bone and medial femoral condyle of horses. *Vet Surg.* 1999 Jul-Aug;28(4):242-55.
222. Altman RD, Kates J, Chun LE, Dean DD, Eyre D. Preliminary observations of chondral abrasion in a canine model. *Ann Rheum Dis.* 1992 Sep;51(9):1056-62.
223. Chen FS, Frenkel SR, Di Cesare PE. Repair of articular cartilage defects: Part II. treatment options. *Am J Orthop (Belle Mead NJ).* 1999 Feb;28(2):88-96.
224. Hunt SA, Jazrawi LM, Sherman OH. Arthroscopic management of osteoarthritis of the knee. *J Am Acad Orthop Surg.* 2002 Sep-Oct;10(5):356-63.
225. Owens BD, Stickles BJ, Balikian P, Busconi BD. Prospective analysis of radiofrequency versus mechanical debridement of isolated patellar chondral lesions. *Arthroscopy.* 2002 Feb;18(2):151-5.

226. Lu Y, Hayashi K, Hecht P, Fanton GS, Thabit G,3rd, Cooley AJ, Edwards RB, Markel MD. The effect of monopolar radiofrequency energy on partial-thickness defects of articular cartilage. *Arthroscopy*. 2000 Jul-Aug;16(5):527-36.
227. Bottcher P, Zeissler M, Maierl J, Grevel V, Oechtering G. Mapping of split-line pattern and cartilage thickness of selected donor and recipient sites for autologous osteochondral transplantation in the canine stifle joint. *Vet Surg*. 2009 Aug;38(6):696-704.
228. Miura Y, Fitzsimmons JS, Commisso CN, Gallay SH, O'Driscoll SW. Enhancement of periosteal chondrogenesis in vitro. dose-response for transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1). *Clin Orthop Relat Res*. 1994 Apr;(301)(301):271-80.
229. Mukherjee N, Saris DB, Schultz FM, Berglund LJ, An KN, O'Driscoll SW. The enhancement of periosteal chondrogenesis in organ culture by dynamic fluid pressure. *J Orthop Res*. 2001 Jul;19(4):524-30.
230. Angermann P, Riegels-Nielsen P, Pedersen H. Osteochondritis dissecans of the femoral condyle treated with periosteal transplantation. poor outcome in 14 patients followed for 6-9 years. *Acta Orthop Scand*. 1998 Dec;69(6):595-7.
231. Axhausen G. Die histologischen und kinischen gesetze der freien osteoplastik auf grund von tierversuchen. *Arch Klin Chir*. 1909;99:23-145.
232. Hurtig M, Pearce S, Warren S, Kalra M, Miniaci A. Arthroscopic mosaic arthroplasty in the equine third carpal bone. *Vet Surg*. 2001 May-Jun;30(3):228-39.
233. Aeschlimann D, Lyons P, Masterlark T, Hayashi K, Graf B, Vanderby R. Repair of articular defects with autogenous osteochondral transplants (mosaic plasty) in a sheep model. In: 46th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society ; 2000 2000; Orlando. Orlando: 2000. p. 183.

234. Reddi AH. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: Inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. *Tissue Eng.* 2000 Aug;6(4):351-9.
235. Hauschild G, Muschter N, Richter A, Ahrens H, Gosheger G, Fehr M, Bullerdiek J. Cartilage replacement in dogs -- A preliminary investigation of colonization of ceramic matrices. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2009;22(3):216-21.
236. Cook JL, Payne JT. Surgical treatment of osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):931-44.
237. Andreoni AA, Rytz U, Vannini R, Voss K. Ground reaction force profiles after partial and pancarpal arthrodesis in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2010;23(1):1-6.
238. Conzemius MG, Vandervoort J. Total joint replacement in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2005 Sep;35(5):1213,31, vii.
239. Conzemius MG, Aper RL, Corti LB. Short-term outcome after total elbow arthroplasty in dogs with severe, naturally occurring osteoarthritis. *Vet Surg.* 2003 Nov-Dec;32(6):545-52.
240. Kinzel S, Hein S, von Scheven C, Kupper W. 10 years experience with denervation of the hip joint capsule for treatment of canine hip joint dysplasia and arthrosis. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2002 Jan-Feb;115(1-2):53-6.
241. Pelletier JP, Raynauld JP, Berthiaume MJ, Abram F, Choquette D, Haraoui B, Beary JF, Cline GA, Meyer JM, Martel-Pelletier J. Risk factors associated with the loss of cartilage volume on weight-bearing areas in knee osteoarthritis patients assessed by quantitative magnetic resonance imaging: A longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2007;9(4):R74.
242. Schrader SC. Triple osteotomy of the pelvis and trochanteric osteotomy as a treatment for hip dysplasia in the immature dog: The surgical technique and results of 77 consecutive operations. *J Am Vet Med Assoc.* 1986 Sep 15;189(6):659-65.

243. Schrader SC. Triple osteotomy of the pelvis as a treatment for canine hip dysplasia. *J Am Vet Med Assoc.* 1981 Jan 1;178(1):39-44.
244. Slocum B, Slocum TD. Tibial plateau leveling osteotomy for repair of cranial cruciate ligament rupture in the canine. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1993 Jul;23(4):777-95.
245. Boyd DJ, Miller CW, Etue SM, Monteith G. Radiographic and functional evaluation of dogs at least 1 year after tibial plateau leveling osteotomy. *Can Vet J.* 2007 Apr;48(4):392-6.
246. Hurley CR, Hammer DL, Shott S. Progression of radiographic evidence of osteoarthritis following tibial plateau leveling osteotomy in dogs with cranial cruciate ligament rupture: 295 cases (2001-2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2007 Jun 1;230(11):1674-9.
247. de Kleuver M, Kooijman MA, Pavlov PW, Veth RP. Triple osteotomy of the pelvis for acetabular dysplasia: Results at 8 to 15 years. *J Bone Joint Surg Br.* 1997 Mar;79(2):225-9.
248. van Valburg AA, van Roermund PM, Marijnissen AC, Wenting MJ, Verbout AJ, Lafeber FP, Bijlsma JW. Joint distraction in treatment of osteoarthritis (II): Effects on cartilage in a canine model. *Osteoarthritis Cartilage.* 2000 Jan;8(1):1-8.
249. Black LL, Gaynor J, Adams C, Dhupa S, Sams AE, Taylor R, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Vet Ther.* 2008 Fall;9(3):192-200.
250. Altman R, Brandt K, Hochberg M, Moskowitz R, Bellamy N, Bloch DA, Buckwalter J, Dougados M, Ehrlich G, Lequesne M, Lohmander S, Murphy WA, Jr, Rosario-Jansen T, Schwartz B, Trippel S. Design and conduct of clinical trials in patients with osteoarthritis: Recommendations from a task force of the osteoarthritis research society. results from a workshop. *Osteoarthritis Cartilage.* 1996 Dec;4(4):217-43.

251. Richette P, Bardin T. Structure-modifying agents for osteoarthritis: An update. *Joint Bone Spine*. 2004 Jan;71(1):18-23.
252. Hellio MP, Vigron E, Annefeld M. The effects of glucosamine on the human osteoarthritic chondrocyte. In vitro investigations. In: *Proc 9th Eular Symp ; 1996 1996*1996. p. 11-2.
253. Piperno M, Reboul P, Hellio Le Graverand MP, Peschard MJ, Annefeld M, Richard M, Vignon E. Glucosamine sulfate modulates dysregulated activities of human osteoarthritic chondrocytes in vitro. *Osteoarthritis Cartilage*. 2000 May;8(3):207-12.
254. Wang SX, Lavery S, Dumitriu M, Plaas A, Grynblas MD. The effects of glucosamine hydrochloride on subchondral bone changes in an animal model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2007 May;56(5):1537-48.
255. Tiraloché G, Girard C, Chouinard L, Sampalis J, Moquin L, Ionescu M, Reiner A, Poole AR, Lavery S. Effect of oral glucosamine on cartilage degradation in a rabbit model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2005 Apr;52(4):1118-28.
256. Muller-Fassbender H, Bach GL, Haase W, Rovati LC, Setnikar I. Glucosamine sulfate compared to ibuprofen in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage*. 1994 Mar;2(1):61-9.
257. Reginster JY, Deroisy R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, Giacovelli G, Henrotin Y, Dacre JE, Gossett C. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: A randomised, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*. 2001 Jan 27;357(9252):251-6.

258. Henrotin Y, Mobasheri A, Marty M. Is there any scientific evidence for the use of glucosamine in the management of human osteoarthritis? *Arthritis Res Ther*. 2012 Jan 30;14(1):201.
259. Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Effect of glucosamine or chondroitin sulfate on the osteoarthritis progression: A meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2010 Jan;30(3):357-63.
260. Towheed TE, Maxwell L, Anastassiades TP, Shea B, Houpt J, Robinson V, Hochberg MC, Wells G. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Apr 18;(2)(2):CD002946.
261. Setnikar I, Giacchetti C, Zanol G. Pharmacokinetics of glucosamine in the dog and in man. *Arzneimittelforschung*. 1986 Apr;36(4):729-35.
262. Setnikar I, Cereda R, Pacini MA, Revel L. Antireactive properties of glucosamine sulfate. *Arzneimittelforschung*. 1991 Feb;41(2):157-61.
263. Adebawale A, Du J, Liang Z, Leslie JL, Eddington ND. The bioavailability and pharmacokinetics of glucosamine hydrochloride and low molecular weight chondroitin sulfate after single and multiple doses to beagle dogs. *Biopharm Drug Dispos*. 2002 Sep;23(6):217-25.
264. Laverty S, Sandy JD, Celeste C, Vachon P, Marier JF, Plaas AH. Synovial fluid levels and serum pharmacokinetics in a large animal model following treatment with oral glucosamine at clinically relevant doses. *Arthritis Rheum*. 2005 Jan;52(1):181-91.
265. Meulyzer M, Vachon P, Beaudry F, Vinardell T, Richard H, Beauchamp G, Laverty S. Comparison of pharmacokinetics of glucosamine and synovial fluid levels following administration of glucosamine sulphate or glucosamine hydrochloride. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008 Sep;16(9):973-9.

266. Aghazadeh-Habashi A, Jamali F. The glucosamine controversy; a pharmacokinetic issue. *J Pharm Pharm Sci.* 2011;14(2):264-73.
267. Qiu GX, Weng XS, Zhang K, Zhou YX, Lou SQ, Wang YP, Li W, Zhang H, Liu Y. A multi-central, randomized, controlled clinical trial of glucosamine hydrochloride/sulfate in the treatment of knee osteoarthritis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2005 Nov 16;85(43):3067-70.
268. Liang Z, Leslie J, Adebowale A, Ashraf M, Eddington ND. Determination of the nutraceutical, glucosamine hydrochloride, in raw materials, dosage forms and plasma using pre-column derivatization with ultraviolet HPLC. *J Pharm Biomed Anal.* 1999 Sep;20(5):807-14.
269. Russell AS, Aghazadeh-Habashi A, Jamali F. Active ingredient consistency of commercially available glucosamine sulfate products. *J Rheumatol.* 2002 Nov;29(11):2407-9.
270. Adebowale AO, Cox DS, Liang Z, Eddington ND. Analysis of glucosamine and chondroitin sulfate content in marketed products and the caco-2 permeability of chondroitin sulfate of raw materials. *Journal of the American Nutraceutical Association.* 2000;3(1):37-44.
271. Anderson MA. Oral chondroprotective agents. part I. common compounds. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians.* 1999;21(7):601-9.
272. Paroli E, Antonilli L, Biffoni M. A pharmacological approach to glycosaminoglycans. *Drugs Exp Clin Res.* 1991;17(1):9-19.
273. Ronca F, Palmieri L, Panicucci P, Ronca G. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthritis Cartilage.* 1998 May;6 Suppl A:14-21.
274. Michel BA, Stucki G, Frey D, De Vathaire F, Vignon E, Bruehlmann P, Uebelhart D. Chondroitins 4 and 6 sulfate in osteoarthritis of the knee: A randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2005 Mar;52(3):779-86.

275. Bernard P, Germain C, Bousquet Eea. Radioactivity distribution in a young dog dosed orally with (acetyl-1-14C) chondroitin sulphate. In: British Small Animal Veterinary Association ; 2000 2000; Birmingham. Birmingham: British Small Animal Veterinary Association; 2000. p. 85.
276. Canapp SO,Jr, McLaughlin RM,Jr, Hoskinson JJ, Roush JK, Butine MD. Scintigraphic evaluation of dogs with acute synovitis after treatment with glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate. *Am J Vet Res.* 1999 Dec;60(12):1552-7.
277. Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA, O'Dell JR, Hooper MM, Bradley JD, Bingham CO,3rd, Weisman MH, Jackson CG, Lane NE, Cush JJ, Moreland LW, Schumacher HR,Jr, Oddis CV, Wolfe F, Molitor JA, Yocum DE, Schnitzer TJ, Furst DE, Sawitzke AD, Shi H, Brandt KD, Moskowitz RW, Williams HJ. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med.* 2006 Feb 23;354(8):795-808.
278. Leach RM,Jr. Role of manganese in mucopolysaccharide metabolism. *Fed Proc.* 1971 May-Jun;30(3):991-4.
279. Heinecke LF, Grzanna MW, Au AY, Mochal CA, Rashmir-Raven A, Frondoza CG. Inhibition of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 production in chondrocytes by avocado soybean unsaponifiables and epigallocatechin gallate. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010 Feb;18(2):220-7.
280. Au RY, Al-Talib TK, Au AY, Phan PV, Frondoza CG. Avocado soybean unsaponifiables (ASU) suppress TNF-alpha, IL-1beta, COX-2, iNOS gene expression, and prostaglandin E2 and nitric oxide production in articular chondrocytes and monocyte/macrophages. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007 Nov;15(11):1249-55.

281. Boileau C, Martel-Pelletier J, Caron J, Msika P, Guillou GB, Baudouin C, Pelletier JP. Protective effects of total fraction of avocado/soybean unsaponifiables on the structural changes in experimental dog osteoarthritis: Inhibition of nitric oxide synthase and matrix metalloproteinase-13. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(2):R41.
282. Altinel L, Sahin O, Kose KC, Bas O, Ozen OA, Saritas ZK, Pamuk K. Healing of osteochondral defects in canine knee with avocado/soybean unsaponifiables: A morphometric comparative analysis. *Ekleml Hastalik Cerrahisi.* 2011;22(1):48-53.
283. Christensen R, Bartels EM, Astrup A, Bliddal H. Symptomatic efficacy of avocado-soybean unsaponifiables (ASU) in osteoarthritis (OA) patients: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008 Apr;16(4):399-408.
284. Anderson MA, Slater MR, Hammad TA. Results of a survey of small-animal practitioners on the perceived clinical efficacy and safety of an oral nutraceutical. *Prev Vet Med.* 1999 Jan 1;38(1):65-73.
285. McCarty MF, Russell AL, Seed MP. Sulfated glycosaminoglycans and glucosamine may synergize in promoting synovial hyaluronic acid synthesis. *Med Hypotheses.* 2000 May;54(5):798-802.
286. Pelletier JP, Mineau F, Boileau C, Martel-Pelletier J. Diacerein reduces the level of cartilage chondrocyte DNA fragmentation and death in experimental dog osteoarthritic cartilage at the same time that it inhibits caspase-3 and inducible nitric oxide synthase. *Clin Exp Rheumatol.* 2003 Mar-Apr;21(2):171-7.
287. Bendele AM, Bendele RA, Hulman JF, Swann BP. Beneficial effects of treatment with diacerhein in guinea pigs with osteoarthritis. *Rev Prat.* 1996 Mar 15;46(6 Spec No):S35-9.

288. Brandt KD, Smith G, Kang SY, Myers S, O'Connor B, Albrecht M. Effects of diacerhein in an accelerated canine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 1997 Nov;5(6):438-49.
289. Smith GN, Jr, Myers SL, Brandt KD, Mickler EA, Albrecht ME. Diacerhein treatment reduces the severity of osteoarthritis in the canine cruciate-deficiency model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 1999 Mar;42(3):545-54.
290. Dougados M, Nguyen M, Berdah L, Mazieres B, Vignon E, Lequesne M, ECHODIAH Investigators Study Group. Evaluation of the structure-modifying effects of diacerein in hip osteoarthritis: ECHODIAH, a three-year, placebo-controlled trial. evaluation of the chondromodulating effect of diacerein in OA of the hip. *Arthritis Rheum*. 2001 Nov;44(11):2539-47.
291. Pham T, Le Henanff A, Ravaud P, Dieppe P, Paolozzi L, Dougados M. Evaluation of the symptomatic and structural efficacy of a new hyaluronic acid compound, NRD101, in comparison with diacerein and placebo in a 1 year randomised controlled study in symptomatic knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2004 Dec;63(12):1611-7.
292. Najm WI, Reinsch S, Hoehler F, Tobis JS, Harvey PW. S-adenosyl methionine (SAME) versus celecoxib for the treatment of osteoarthritis symptoms: A double-blind cross-over trial. [ISRCTN36233495. *BMC Musculoskelet Disord*. 2004 Feb 26;5:6.
293. Imhoff DJ, Gordon-Evans WJ, Evans RB, Johnson AL, Griffon DJ, Swanson KS. Evaluation of S-adenosyl l-methionine in a double-blinded, randomized, placebo-controlled, clinical trial for treatment of presumptive osteoarthritis in the dog. *Vet Surg*. 2011 Feb;40(2):228-32.

294. Pardy CK, Matyas JR, Zernicke RF. Doxycycline effects on mechanical and morphometrical properties of early- and late-stage osteoarthritic bone following anterior cruciate ligament injury. *J Appl Physiol*. 2004 Oct;97(4):1254-60.
295. Brandt KD, Mazzuca SA, Katz BP, Lane KA, Buckwalter KA, Yocum DE, Wolfe F, Schnitzer TJ, Moreland LW, Manzi S, Bradley JD, Sharma L, Oddis CV, Hugenberg ST, Heck LW. Effects of doxycycline on progression of osteoarthritis: Results of a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Arthritis Rheum*. 2005 Jul;52(7):2015-25.
296. Yu LP, Jr, Smith GN, Jr, Brandt KD, Myers SL, O'Connor BL, Brandt DA. Reduction of the severity of canine osteoarthritis by prophylactic treatment with oral doxycycline. *Arthritis Rheum*. 1992 Oct;35(10):1150-9.
297. Yu LP, Jr, Burr DB, Brandt KD, O'Connor BL, Rubinow A, Albrecht M. Effects of oral doxycycline administration on histomorphometry and dynamics of subchondral bone in a canine model of osteoarthritis. *J Rheumatol*. 1996 Jan;23(1):137-42.
298. Sevala K, Todhunter RJ, Vernier-Singer M, Budsberg SC. Effect of polysulfated glycosaminoglycan on DNA content and proteoglycan metabolism in normal and osteoarthritic canine articular cartilage explants. *Vet Surg*. 2000 Sep-Oct;29(5):407-14.
299. de Haan JJ, Goring RL, Beale BS. Evaluation of polysulfated glycosaminoglycan for the treatment of hip dysplasia in dogs. *Vet Surg*. 1994 May-Jun;23(3):177-81.
300. Fujiki M, Shineha J, Yamanokuchi K, Misumi K, Sakamoto H. Effects of treatment with polysulfated glycosaminoglycan on serum cartilage oligomeric matrix protein and C-reactive protein concentrations, serum matrix metalloproteinase-2 and -9 activities, and lameness in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2007 Aug;68(8):827-33.

301. Yovich JV, Trotter GW, McIlwraith CW, Norrdin RW. Effects of polysulfated glycosaminoglycan on chemical and physical defects in equine articular cartilage. *Am J Vet Res.* 1987 Sep;48(9):1407-14.
302. McNamara PS, Johnston SA, Todhunter RJ. Slow-acting, disease-modifying osteoarthritis agents. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):863-81.
303. Read RA, Cullis-Hill D, Jones MP. Systemic use of pentosan polysulphate in the treatment of osteoarthritis. *J Small Anim Pract.* 1996 Mar;37(3):108-14.
304. Kalbhen DA, Fischer W. Pharmacologic studies on the anti-inflammatory effect of pentosan polysulfate (SP 54) in combination with other analgesic or antiphlogistic agents. *Arzneimittelforschung.* 1973 May;23(5):712-8.
305. Innes JF, Barr AR, Sharif M. Efficacy of oral calcium pentosan polysulphate for the treatment of osteoarthritis of the canine stifle joint secondary to cranial cruciate ligament deficiency. *Vet Rec.* 2000 Apr 8;146(15):433-7.
306. Budsberg SC, Bergh MS, Reynolds LR, Streppa HK. Evaluation of pentosan polysulfate sodium in the postoperative recovery from cranial cruciate injury in dogs: A randomized, placebo-controlled clinical trial. *Vet Surg.* 2007 Apr;36(3):234-44.
307. Brandt KD, Smith GN, Jr, Simon LS. Intraarticular injection of hyaluronan as treatment for knee osteoarthritis: What is the evidence? *Arthritis Rheum.* 2000 Jun;43(6):1192-203.
308. Smith G, Jr, Myers SL, Brandt KD, Mickler EA, Albrecht ME. Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *J Rheumatol.* 2005 Feb;32(2):325-34.

309. Marshall KW, Manolopoulos V, Mancer K, Staples J, Damyanovich A. Amelioration of disease severity by intraarticular hyalan therapy in bilateral canine osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2000 May;18(3):416-25.
310. Brandt KD, Smith GN, Myers SL. Hyaluronan injection affects neither osteoarthritis progression nor loading of the OA knee in dogs. *Biorheology.* 2004;41(3-4):493-502.
311. Moreau M, Rialland P, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Boileau C, Caron J, Frank D, Lussier B, del Castillo JR, Beauchamp G, Gauvin D, Bertaim T, Thibaud D, Troncy E. Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Res Ther.* 2011 Jun 21;13(3):R98.
312. Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, McLane J, Bone A, Destefano J, Rodan GA, Duong le T. 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 Rheum.* 2004 Apr;50(4):1193-206.
313. Strassle BW, Mark L, Leventhal L, Piesla MJ, Jian Li X, Kennedy JD, Glasson SS, Whiteside GT. Inhibition of osteoclasts prevents cartilage loss and pain in a rat model of degenerative joint disease. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010 Oct;18(10):1319-28.
314. DeParle LA, Gupta RC, Canerdy TD, Goad JT, D'Altilio M, Bagchi M, Bagchi D. Efficacy and safety of glycosylated undenatured type-II collagen (UC-II) in therapy of arthritic dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2005 Aug;28(4):385-90.
315. Anderson MA. Oral chondroprotective agents. part II. evaluation of products. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians.* 1999;21(9):861-5.
316. Vora A, Borg-Stein J, Nguyen RT. Regenerative injection therapy for osteoarthritis: Fundamental concepts and evidence-based review. *PM R.* 2012 May;4(5 Suppl):S104-9.

317. Spakova T, Rosocha J, Lacko M, Harvanova D, Gharaibeh A. Treatment of knee joint osteoarthritis with autologous platelet-rich plasma in comparison with hyaluronic acid. *Am J Phys Med Rehabil.* 2012 May;91(5):411-7.
318. Webster R, Blaber S, Herbert B, Wilkins M, Vesey G. The role of mesenchymal stem cells in veterinary therapeutics - a review. *N Z Vet J.* 2012 Apr 10
319. Black LL, Gaynor J, Gahring D, Adams C, Aron D, Harman S, Gingerich DA, Harman R. Effect of adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints: A randomized, double-blinded, multicenter, controlled trial. *Vet Ther.* 2007 Winter;8(4):272-84.
320. Bui LM, Bierer TL. Influence of green lipped mussels (*perna canaliculus*) in alleviating signs of arthritis in dogs. *Vet Ther.* 2003 Winter;4(4):397-407.
321. Miller TE, Dodd J, Ormrod DJ, Geddes R. Anti-inflammatory activity of glycogen extracted from *perna canaliculus* (NZ green-lipped mussel). *Agents Actions.* 1993;38 Spec No:C139-42.
322. Whitehouse MW, Macrides TA, Kalafatis N, Betts WH, Haynes DR, Broadbent J. Anti-inflammatory activity of a lipid fraction (lyprinol) from the NZ green-lipped mussel. *Inflammopharmacology.* 1997;5(3):237-46.
323. Cho SH, Jung YB, Seong SC, Park HB, Byun KY, Lee DC, Song EK, Son JH. Clinical efficacy and safety of lyprinol, a patented extract from new zealand green-lipped mussel (*perna canaliculus*) in patients with osteoarthritis of the hip and knee: A multicenter 2-month clinical trial. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2003 Jun;35(6):212-6.

324. Pollard B, Guilford WG, Ankenbauer-Perkins KL, Hedderley D. Clinical efficacy and tolerance of an extract of green-lipped mussel (*perna canaliculus*) in dogs presumptively diagnosed with degenerative joint disease. *N Z Vet J.* 2006 Jun;54(3):114-8.
325. Hielm-Bjorkman A, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary therapies for canine osteoarthritis part I: Green-lipped mussel (*perna canaliculus*). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 Sep;6(3):365-73.
326. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Lecuyer M. Clinical evaluation of a powder of quality elk velvet antler for the treatment of osteoarthrosis in dogs. *Can Vet J.* 2004 Feb;45(2):133-9.
327. Innes JF, Fuller CJ, Grover ER, Kelly AL, Burn JF. Randomised, double-blind, placebo-controlled parallel group study of P54FP for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec.* 2003 Apr 12;152(15):457-60.
328. Gingerich DA, Strobel JD. Use of client-specific outcome measures to assess treatment effects in geriatric, arthritic dogs: Controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther.* 2003 Winter;4(4):376-86.
329. Frestedt JL, Kuskowski MA, Zenk JL. A natural seaweed derived mineral supplement (aquamin F) for knee osteoarthritis: A randomised, placebo controlled pilot study. *Nutr J.* 2009 Feb 2;8:7.
330. Ryan S, O'Gorman DM, Nolan YM. Evidence that the marine-derived multi-mineral aquamin has anti-inflammatory effects on cortical glial-enriched cultures. *Phytother Res.* 2011 May;25(5):765-7.

331. O'Gorman DM, O'Carroll C, Carmody RJ. Evidence that marine-derived, multi-mineral, aquamin inhibits the NF-kappaB signaling pathway in vitro. *Phytother Res.* 2012 Apr;26(4):630-2.
332. Boileau C, Martel-Pelletier J, Caron J, Pare F, Troncy E, Moreau M, Pelletier JP. Oral treatment with a brachystemma calycinum D don plant extract reduces disease symptoms and the development of cartilage lesions in experimental dog osteoarthritis: Inhibition of protease-activated receptor 2. *Ann Rheum Dis.* 2010 Jun;69(6):1179-84.
333. Moreau M, Lussier B, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Bedard C, Gauvin D, Troncy E. Brachystemma calycinum D. don effectively reduces the locomotor disability in dogs with naturally occurring osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:646191.
334. Reichling J, Schmokel H, Fitzi J, Bucher S, Saller R. Dietary support with boswellia resin in canine inflammatory joint and spinal disease. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2004 Feb;146(2):71-9.
335. Dobenecker B, Beetz Y, Kienzle E. A placebo-controlled double-blind study on the effect of nutraceuticals (chondroitin sulfate and mussel extract) in dogs with joint diseases as perceived by their owners. *J Nutr.* 2002 Jun;132(6 Suppl 2):1690S-1S.
336. Peterson KD, Keefe TJ. Effects of meloxicam on severity of lameness and other clinical signs of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2004 Oct 1;225(7):1056-60.
337. Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, DePuy V, Thomson A, Pierce CC, Smith ES, Rowinski E. Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med.* 2007 May-Jun;21(3):410-6.

338. Lipscomb VJ, AliAbadi FS, Lees P, Pead MJ, Muir P. Clinical efficacy and pharmacokinetics of carprofen in the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec.* 2002 Jun 1;150(22):684-9.
339. Bierer TL, Bui LM. Improvement of arthritic signs in dogs fed green-lipped mussel (*perna canaliculus*). *J Nutr.* 2002 Jun;132(6 Suppl 2):1634S-6S.
340. Schneider TA, Budsberg SC. Plasma and synovial concentrations of carprofen in dogs with chronic osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2001;14:19-24.
341. Holtsinger RH, Parker RB, Beale BS, Friedman A. The therapeutic efficacy of carprofen in 209 clinical cases of canine degenerative joint disease. *Vet Compend Orthop Traumatol.* 1992;5:140-4.
342. Roush JK, Cross AR, Rengberg WC, Dodd CE, Fritsch DA, Allen TA, Jewell DE, Schoenherr WD, Richardson DC. Effects of feeding a high omega-3 fatty acid diet on serum fatty acid profiles and force plate analysis in dogs with osteoarthritis (abstract). *Vet Surg.* 2005;34(4):E21.
343. Marshall WG, Hazewinkel HA, Mullen D, De Meyer G, Baert K, Carmichael S. The effect of weight loss on lameness in obese dogs with osteoarthritis. *Vet Res Commun.* 2010 Mar;34(3):241-53.
344. Brown DC, Boston RC, Farrar JT. Use of an activity monitor to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Jul 1;237(1):66-70.
345. Neumann S, Stolt P, Braun G, Hellmann K, Reinhart E. Effectiveness of the homeopathic preparation zeel compared with carprofen in dogs with osteoarthritis. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2011 Jan-Feb;47(1):12-20.

346. Wernham BG, Trumpatori B, Hash J, Lipsett J, Davidson G, Wackerow P, Thomson A, Lascelles BD. Dose reduction of meloxicam in dogs with osteoarthritis-associated pain and impaired mobility. *J Vet Intern Med.* 2011 Nov-Dec;25(6):1298-305.
347. Edamura K, King JN, Seewald W, Sakakibara N, Okumura M. Comparison of oral robenacoxib and carprofen for the treatment of osteoarthritis in dogs: A randomized clinical trial. *J Vet Med Sci.* 2012 May 17.
348. Rialland P, Bichot S, Lussier B, Moreau M, Beaudry F, del Castillo JRE, Gauvin D, Troncy E. Effect of a diet enriched with Green-lipped mussel on pain behavior and functioning in dogs with clinical osteoarthritis. *CJVR.* 2013;77:66–74.
349. Budsberg SC, Verstraete MC, Soutas-Little RW. Force plate analysis of the walking gait in healthy dogs. *Am J Vet Res.* 1987 Jun;48(6):915-8.
350. Evans R, Horstman C, Conzemius M. Accuracy and optimization of force platform gait analysis in labradors with cranial cruciate disease evaluated at a walking gait. *Vet Surg.* 2005 Sep-Oct;34(5):445-9.
351. Hudson JT, Slater MR, Taylor L, Scott HM, Kerwin SC. Assessing repeatability and validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in dogs. *Am J Vet Res.* 2004 Dec;65(12):1634-43.
352. DeCamp CE. Kinetic and kinematic gait analysis and the assessment of lameness in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):825-40.
353. Beraud R, Moreau M, Lussier B. Effect of exercise on kinetic gait analysis of dogs afflicted by osteoarthritis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2010;23(2):87-92.

354. Molsa SH, Hielm-Bjorkman AK, Laitinen-Vapaavuori OM. Force platform analysis in clinically healthy rottweilers: Comparison with labrador retrievers. *Vet Surg*. 2010 Aug;39(6):701-7.
355. Voss K, Galeandro L, Wiestner T, Haessig M, Montavon PM. Relationships of body weight, body size, subject velocity, and vertical ground reaction forces in trotting dogs. *Vet Surg*. 2010 Oct;39(7):863-9.
356. Madore E, Huneault L, Moreau M, Dupuis J. Comparison of trot kinetics between dogs with stifle or hip arthrosis. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2007;20(2):102-7.
357. Trumble TN, Billingham RC, McIlwraith CW. Correlation of prostaglandin E2 concentrations in synovial fluid with ground reaction forces and clinical variables for pain or inflammation in dogs with osteoarthritis induced by transection of the cranial cruciate ligament. *Am J Vet Res*. 2004 Sep;65(9):1269-75.
358. Voss K, Imhof J, Kaestner S, Montavon PM. Force plate gait analysis at the walk and trot in dogs with low-grade hindlimb lameness. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2007;20(4):299-304.
359. Nordquist B, Fischer J, Kim SY, Stover SM, Garcia-Nolen T, Hayashi K, Liu J, Kapatkin AS. Effects of trial repetition, limb side, intraday and inter-week variation on vertical and craniocaudal ground reaction forces in clinically normal labrador retrievers. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2011;24(6):435-44.
360. Budsberg SC, Chambers JN, Lue SL, Foutz TL, Reece L. Prospective evaluation of ground reaction forces in dogs undergoing unilateral total hip replacement. *Am J Vet Res*. 1996 Dec;57(12):1781-5.

361. Kim J, Rietdyk S, Breur GJ. Comparison of two-dimensional and three-dimensional systems for kinematic analysis of the sagittal motion of canine hind limbs during walking. *Am J Vet Res.* 2008 Sep;69(9):1116-22.
362. Colborne GR, Good L, Cozens LE, Kirk LS. Symmetry of hind limb mechanics in orthopedically normal trotting labrador retrievers. *Am J Vet Res.* 2011 Mar;72(3):336-44.
363. Boddeker J, Druen S, Meyer-Lindenberg A, Fehr M, Nolte I, Wefstaedt P. Computer-assisted gait analysis of the dog: Comparison of two surgical techniques for the ruptured cranial cruciate ligament. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2012;25(1):11-21.
364. Kim SY, Kim JY, Hayashi K, Kapatkin AS. Skin movement during the kinematic analysis of the canine pelvic limb. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011;24(5):326-32.
365. Agostinho FS, Rahal SC, Miqueleto NS, Verdugo MR, Inamassu LR, El-Warrak AO. Kinematic analysis of labrador retrievers and rottweilers trotting on a treadmill. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011;24(3):185-91.
366. Miqueleto NS, Rahal SC, Agostinho FS, Siqueira EG, Araujo FA, El-Warrak AO. Kinematic analysis in healthy and hip-dysplastic german shepherd dogs. *Vet J.* 2012 Jul 16
367. Johnson K, Lanz O, Elder S, McLaughlin R, Werre S, Harper T. The effect of stifle angle on cranial tibial translation following tibial plateau leveling osteotomy: An in vitro experimental analysis. *Can Vet J.* 2011 Sep;52(9):961-6.
368. Chailleux N, Lussier B, De Guise J, Chevalier Y, Hagemester N. In vitro 3-dimensional kinematic evaluation of 2 corrective operations for cranial cruciate ligament-deficient stifle. *Can J Vet Res.* 2007 Jul;71(3):175-80.

369. Quinn MM, Keuler NS, Lu Y, Faria ML, Muir P, Markel MD. Evaluation of agreement between numerical rating scales, visual analogue scoring scales, and force plate gait analysis in dogs. *Vet Surg.* 2007 Jun;36(4):360-7.
370. Waxman AS, Robinson DA, Evans RB, Hulse DA, Innes JF, Conzemius MG. Relationship between objective and subjective assessment of limb function in normal dogs with an experimentally induced lameness. *Vet Surg.* 2008 Apr;37(3):241-6.
371. Hielm-Bjorkman AK, Kuusela E, Liman A, Markkola A, Saarto E, Huttunen P, Leppaluoto J, Tulamo RM, Raekallio M. Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2003 Jun 1;222(11):1552-8.
372. Anil SS, Anil L, Deen J. Challenges of pain assessment in domestic animals. *J Am Vet Med Assoc.* 2002 Feb 1;220(3):313-9.
373. Wiseman-Orr ML, Scott EM, Reid J, Nolan AM. Validation of a structured questionnaire as an instrument to measure chronic pain in dogs on the basis of effects on health-related quality of life. *Am J Vet Res.* 2006 Nov;67(11):1826-36.
374. Guidelines for the recognition and assessment of pain in animals. prepared by a working party of the association of veterinary teachers and research workers. *Vet Rec.* 1986 Mar 22;118(12):334-8.
375. Puyau MR, Adolph AL, Vohra FA, Butte NF. Validation and calibration of physical activity monitors in children. *Obes Res.* 2002 Mar;10(3):150-7.
376. Culp WT, Mayhew PD, Brown DC. The effect of laparoscopic versus open ovariectomy on postsurgical activity in small dogs. *Vet Surg.* 2009 Oct;38(7):811-7.

377. Dow C, Michel KE, Love M, Brown DC. Evaluation of optimal sampling interval for activity monitoring in companion dogs. *Am J Vet Res.* 2009 Apr;70(4):444-8.
378. Michel KE, Brown DC. Determination and application of cut points for accelerometer-based activity counts of activities with differing intensity in pet dogs. *Am J Vet Res.* 2011 Jul;72(7):866-70.
379. Lascelles BD, Hansen BD, Thomson A, Pierce CC, Boland E, Smith ES. Evaluation of a digitally integrated accelerometer-based activity monitor for the measurement of activity in cats. *Vet Anaesth Analg.* 2008 Mar;35(2):173-83.
380. Reid J, Nolan AM. The comparison of postoperative analgesic and sedative effects of flunixin and papaveretum in the dog. *Journal of Small Animals Practice.* 1991;32:603-8.
381. Taylor PM, Houlton JF. Postoperative analgesia in the dog: A comparison of morphine, buprenorphine and pentazocine. *Journal of Small Animals Practice.* 1984;27:325-33.
382. Welsh EM, Gettinby G, Nolan AM. Comparison of a visual analogue scale and a numerical rating scale for assessment of lameness, using sheep as a model. *Am J Vet Res.* 1993 Jun;54(6):976-83.
383. Firth AM, Haldane SL. Development of a scale to evaluate postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1999 Mar 1;214(5):651-9.
384. Hansen BD. Assessment of pain in dogs: Veterinary clinical studies. *ILAR J.* 2003;44(3):197-205.
385. Conzemius MG, Hill CM, Sammarco JL, Perkowski SZ. Correlation between subjective and objective measures used to determine severity of postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1997 Jun 1;210(11):1619-22.

386. Holton LL, Scott EM, Nolan AM, Reid J, Welsh E. Relationship between physiological factors and clinical pain in dogs scored using a numerical rating scale. *J Small Anim Pract.* 1998 Oct;39(10):469-74.
387. Benford MS, Dannemiller S. Use of electrodermal activity for assessment of pain/stress in laboratory animals. *Animal Lab News.* 2004;1,13-23.
388. Fenz WD, Epstein S. Gradients of physiological arousal in parachutists as a function of an approaching jump. *Psychosom Med.* 1967 Jan-Feb;29(1):33-51.
389. Dowling J. Autonomic indices and reactive pain reports on the McGill pain questionnaire. *Pain.* 1982;14(4):387-92.
390. Hampf G. Influence of cold pain in the hand on skin impedance, heart rate and skin temperature. *Physiol Behav.* 1990 Jan;47(1):217-8.
391. Bonnet A, Naveteur J. Electrodermal activity in low back pain patients with and without co-morbid depression. *Int J Psychophysiol.* 2004 Jun;53(1):37-44.
392. Girardot MN, Koss MC. A physiological and pharmacological analysis of the electrodermal response in the rat. *Eur J Pharmacol.* 1984 Feb 17;98(2):185-91.
393. Richardson CA, Niel L, Leach MC, Flecknell PA. Evaluation of the efficacy of a novel electronic pain assessment device, the pain gauge, for measuring postoperative pain in rats. *Lab Anim.* 2007 Jan;41(1):46-54.
394. Rialland P, Authier S, Guillot M, Del Castillo JR, Veilleux-Lemieux D, Frank D, Gauvin D, Troncy E. Validation of orthopedic postoperative pain assessment methods for dogs: A prospective, blinded, randomized, placebo-controlled study. *PLoS One.* 2012;7(11):e49480.
395. Blackburn-Munro G. Pain-like behaviours in animals - how human are they? *Trends Pharmacol Sci.* 2004 Jun;25(6):299-305.

396. Gingerich DA. Owner evaluation of outcomes in OA: why are we so reluctant to accept subjective data? In: ACVA/IVAPM/AVAT Meeting ; 2004 2004; Phoenix, AZ. 2004
397. Galer BS, Jensen MP. Development and preliminary validation of a pain measure specific to neuropathic pain: The neuropathic pain scale. *Neurology*. 1997 Feb;48(2):332-8.
398. Wiseman-Orr ML, Nolan AM, Reid J, Scott EM. Development of a questionnaire to measure the effects of chronic pain on health-related quality of life in dogs. *Am J Vet Res*. 2004 Aug;65(8):1077-84.
399. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT. Development and psychometric testing of an instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2007 Jun;68(6):631-7.
400. Zimmerman M. Assessing pain in farm animals. In: Duncan, J. H.; Molony, V., editors. *Proceeding of comision of european communities workshop* ; 1986 18841986
401. Wiseman ML, Nolan AM, Reid J, Scott EM. Preliminary study on owner-reported behaviour changes associated with chronic pain in dogs. *Vet Rec*. 2001 Oct 6;149(14):423-4.
402. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW. Validation study of WOMAC: A health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol*. 1988 Dec;15(12):1833-40.
403. Tugwell P, Bombardier C, Buchanan WW, Goldsmith CH, Grace E, Hanna B. The MACTAR patient preference disability questionnaire--an individualized functional priority approach for assessing improvement in physical disability in clinical trials in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1987 Jun;14(3):446-51.

404. Hercock CA, Pinchbeck G, Giejda A, Clegg PD, Innes JF. Validation of a client-based clinical metrology instrument for the evaluation of canine elbow osteoarthritis. *J Small Anim Pract.* 2009 Jun;50(6):266-71.
405. Dobromylskyj P, Flecknell PA, Lascelles BDX, et al. **Pain assessment** In: Flecknell PA, Waterman-Pearson A, editors. *Pain Management in animals*. London: WB Saunders C; 2000; p. 53-79.
406. Gordon WJ, Conzemius MG, Riedesel E, Besancon MF, Evans R, Wilke V, Ritter MJ. The relationship between limb function and radiographic osteoarthrosis in dogs with stifle osteoarthrosis. *Vet Surg.* 2003 Sep-Oct;32(5):451-4.
407. Hannan MT, Felson DT, Pincus T. Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol.* 2000 Jun;27(6):1513-7.
408. Nolte-Ernsting CC, Adam G, Buhne M, et al. MRI of degenerative bone marrow lesions in experimental osteoarthritis of canine knee joints. *Skeletal Radiol.* 1996;25:413-20.
409. Guillot M, Moreau M, d'Anjou MA, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Troncy E. Evaluation of osteoarthritis in cats: Novel information from a pilot study. *Vet Surg.* 2012 Mar 1
410. Garnerio P, Rousseau JC, Delmas PD. Molecular basis and clinical use of biochemical markers of bone, cartilage, and synovium in joint diseases. *Arthritis Rheum.* 2000 May;43(5):953-68.
411. Johnson KA, Hay CW, Chu Q, Roe SC, Caterson B. Cartilage-derived biomarkers of osteoarthritis in synovial fluid of dogs with naturally acquired rupture of the cranial cruciate ligament. *Am J Vet Res.* 2002 Jun;63(6):775-81.

412. Innes JF, Sharif M, Barr AR. Changes in concentrations of biochemical markers of osteoarthritis following surgical repair of ruptured cranial cruciate ligaments in dogs. *Am J Vet Res.* 1999 Sep;60(9):1164-8.
413. Otterness IG, Swindell AC, Zimmerer RO, Poole AR, Ionescu M, Weiner E. An analysis of 14 molecular markers for monitoring osteoarthritis: Segregation of the markers into clusters and distinguishing osteoarthritis at baseline. *Osteoarthritis Cartilage.* 2000 May;8(3):180-5.
414. Hegemann N, Kohn B, Brunnberg L, Schmidt MF. Biomarkers of joint tissue metabolism in canine osteoarthritic and arthritic joint disorders. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002 Sep;10(9):714-21.
415. Fox DB, Cook JL. Synovial fluid markers of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2001 Sep 15;219(6):756-61.
416. Connor JR, LePage C, Swift BA, Yamashita D, Bendele AM, Maul D, Kumar S. Protective effects of a cathepsin K inhibitor, SB-553484, in the canine partial medial meniscectomy model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009 Sep;17(9):1236-43.
417. McAlindon TE, LaValley MP, Felson DT. Efficacy of glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis. *JAMA.* 2000 Sep 13;284(10):1241.
418. Conzemius MG, Evans RB. Caregiver placebo effect for dogs with lameness from osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2012 Nov 15;241(10):1314-9.

INTRODUCTION AUX MANUSCRITS DES ARTICLES

Notre projet avait deux objectifs. Le premier était de tester chez des chiens de propriétaire une diète expérimentale contenant des acides gras polyinsaturés ω -3 sous forme de Moule verte susceptibles d'avoir des effets bénéfiques sur la condition arthrosique. Le deuxième était de valider de nouveaux outils permettant de compléter l'évaluation de traitements de la condition arthrosique chez le chien, et qui soient utilisables en conditions cliniques.

Nos hypothèses étaient :

1. La diète testée a des effets bénéfiques mesurables par le suivi du pic de force verticale (PVF, choisi comme variable de référence actuellement),
2. La diète testée entraîne des effets mesurables sur les concentrations sériques des acides gras polyinsaturés ω -3,
3. Les instruments testés, incluant PVF, ont une validité technique adéquate : la variabilité aléatoire associée aux mesures ne varie pas dans le temps ou en fonction des opérateurs. Nous définirons la validité technique des instruments par la cohérence du coefficient de variation (ratio standard déviation et moyenne) dans le temps ou par la cohérence interne de l'outil (pour l'échelle multifactorielle MFQ)
4. Les méthodes d'évaluation testées, à l'exception de PVF, ont une validité selon-critère adéquate : elles apportent des données convergeant avec les données produites par la méthode de référence actuelle, c'est-à-dire PVF (analyse cinétique).

1 **ARTICLE 1**2 **Effect of a diet enriched with green-lipped mussel on pain behavior and functioning in**
3 **dogs with clinical osteoarthritis**

4

5 Sylvain Bichot,¹ Pascale Rialland,¹ Bertrand Lussier, Maxim Moreau, Francis Beaudry,

6 Jérôme RE del Castillo, Dominique Gauvin, Eric Troncy

7

8 ¹ These authors contributed equally to this work and are both first co-authors.

9

10 Received September 26, 2011. Accepted February 14, 2012 for publication in Canadian

11 Journal of Veterinary Research.

12

12 ***Abstract***

13 This study aimed to establish the effect of a diet enriched with green-lipped mussel (GLM) on
14 pain and functional outcomes in osteoarthritic dogs. Twenty-three client-owned dogs with
15 osteoarthritis (OA) were fed a balanced control diet for 30 d and then a GLM-enriched
16 balanced diet for the next 60 d. We assessed peak vertical force (PVF), which is considered to
17 be the gold standard method, at Day (D)0 (start), D30 (end of control diet), and D90 (end of
18 GLM-enriched diet). The owners completed a client-specific outcome measure (CSOM),
19 which is a pain questionnaire, once a week. Motor activity (MA) was continuously recorded in
20 7 dogs for 12 wk. Concentrations of plasma omega-3 fatty acids were quantified as indicative
21 of diet change. Statistical analyses were linear-mixed models and multinomial logistic
22 regression for repeated measures. The GLM diet (from D30 to D90) resulted in an increase in
23 concentrations of plasma omega-3 fatty acids ($P < 0.016$) and improvement of PVF ($P =$
24 0.003). From D0 to D30, PVF did not significantly change ($P = 0.06$), which suggests that the
25 GLM diet had a beneficial effect on gait function. Moreover, PVF ($P = 0.0004$), CSOM ($P =$
26 0.006), and MA ($P = 0.02$) improved significantly from D0 to D90. In general, the balanced
27 control diet could have contributed to reduced osteoarthritis symptoms, an effect that was
28 subsequently amplified by the GLM diet.

29

30 ***Résumé***

31 *L'objectif de cette étude était d'établir l'effet d'une diète équilibrée enrichie en moule verte*
32 *(GLM) avec des évaluations fonctionnelles et de douleur sur des chiens arthrosiques. Vingt-*
33 *trois chiens arthrosiques de propriétaires (région de Montréal, QC) ont été nourris d'abord*

34 avec une diète équilibrée contrôle pendant 30 j., puis avec la diète enrichie en GLM pour les
35 60 j. suivants. Les évaluations incluaient le pic de force verticale (PFV), considéré comme la
36 méthode étalon, au Jour (J)0 (inclusion), J30 (fin de la diète contrôle) et J90 (fin de la diète
37 GLM). Les propriétaires ont complété de manière hebdomadaire une échelle de mesure
38 spécifique à chaque client (CSOM), qui est un questionnaire de quantification de la douleur.
39 L'activité motrice (AM) a été enregistrée en continu sur 7 chiens pour toute la durée de
40 l'étude (12 sem.). Les concentrations plasmatiques d'acides gras oméga-3 ont été quantifiées
41 en tant que marqueurs de changement de diètes. Les analyses statistiques furent des modèles
42 linéaires-mixtes et une régression logistique multinomiale pour mesures répétées. La diète
43 GLM (de J30 à J90) augmenta les concentrations plasmatiques d'acides gras oméga-3 ($P <$
44 $0,016$) ainsi que le PFV ($P = 0,003$). De J0 à J30, les changements de PFV furent non-
45 significatifs ($P = 0,06$), ce qui suggère que la diète GLM a eu un effet thérapeutique sur la
46 fonction biomécanique. De plus, PFV ($P = 0,0004$), CSOM ($P = 0,006$) et AM ($P = 0,02$)
47 s'améliorèrent significativement de J0 à J90. De manière globale, il est possible que la diète
48 équilibrée contrôle ait contribué à améliorer les signes d'arthrose, un effet qui fut amplifié
49 par la suite avec la diète GLM.

50 (Traduit par Docteur Eric Troncy)

51 Introduction

52 Osteoarthritis (OA) is a degenerative disease characterized by inflammatory bursts that lead
53 to a whole-joint disorder, not just cartilage defects as initially thought. The disease can be
54 treated by targeted therapeutics (1). Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)
55 as standard OA treatment shows the occurrence of adverse effects varying from 2.6% to 34%
56 (2,3). As an alternative approach, nutritional supplements are used for OA multimodal
57 therapy. Specifically, it has been shown that green-lipped mussel (GLM) products may have
58 chondro-modulator and anti-inflammatory properties (2). Using the strength of evidence
59 ranking promulgated by Aragon et al. (4), GLM, like other structure-modifying agents such as
60 glycosaminoglycan polysulfate and elk velvet antler, was classified as low to moderate for its
61 effectiveness in reducing the clinical signs of OA in dogs (5,6). One study showed a positive
62 therapeutic effect of a GLM-enriched diet only by using a subjective arthritis scoring system
63 (7). Converging information suggests that a GLM-enriched diet may be of therapeutic benefit
64 in the treatment of OA, but evidence-based medicine requires proof of evidence of such
65 possible positive effects using objective outcome measures (5).

66 Spontaneous alterations in biomechanics, pain, and stress are present in osteoarthritic dogs
67 and methods that reflect these changes are used to assess canine OA (8,9). Kinetic gait
68 analysis, which uses force plate variables, allows neuromuscular and skeletal disorders to be
69 evaluated objectively. This method, which is sensitive and repeatable under predefined
70 standardized conditions, has been considered the gold standard for assessing OA in dogs
71 (10,11). It represents an evaluation of biomechanical and neurophysiological (particularly
72 nociceptive hypersensitization) alterations, with no possibility of distinguishing between them.
73 Structural changes as assessed by radiographic OA lesions (12) or the more sensitive magnetic

74 resonance imaging (13) do not correlate well with expressed pain or functional impairment.
75 Some chronic pain composite scales (8,9,14–17) and client-specific outcome measures
76 (CSOMs) (18) have been partially validated for use in dogs. Recently, motor activity (MA)
77 was proposed as being a sensitive method for OA assessment (19). Conversely, the weak
78 relationship between pain and OA lesions (1) suggests that the objective methods previously
79 cited are not sufficient by themselves for evaluating subjective pain (9,20,21). Therefore, by
80 using a combination of objective and subjective methods, this study aimed to quantify the
81 effects of a GLM-enriched diet on pain and functioning in osteoarthritic dogs in a
82 longitudinally controlled design in which the dogs were first fed a control diet for 30 d and
83 then the GLM-enriched diet for the next 60 d.

84

85 ***Materials and methods***

86 **Animal selection**

87 The Institutional Animal Care and Use Committee approved this study (Rech-1297) as in
88 compliance with the Canadian Council on Animal Care guidelines. After obtaining informed
89 consent from the owners, 30 adult dogs were selected. For inclusion, the dogs had to have
90 exhibited sign(s) of stable lameness in 1 or more limbs for at least 6 mo, as described by our
91 group in a previous study (22). Briefly, a physical examination was performed and a minimal
92 database [complete blood count (CBC), chemistry panel, and urinalysis] was established and
93 repeated at Day (D)30 and D90. According to these criteria, only dogs with no health concerns
94 other than lameness were included. An orthopedic exam and peak vertical force (PVF) gait
95 analysis established the severity of lameness in each joint and limb. A radiographic diagnosis

96 confirmed OA with narrowing of joint space, sclerosis, and osteophyte formation. Six dogs
97 had 1 OA lesion associated with lameness in a limb. This lame limb was evaluated throughout
98 the study. Twenty-four dogs had multisite OA lesions, with the same joint (mostly hips) being
99 affected bilaterally in 7 dogs. The remaining dogs presented from 2 to 6 radiographic OA joint
100 alterations. The limb most affected by lameness, as shown by PVF gait analysis and
101 orthopedic exam, and with OA lesions was followed throughout the study.

102 The dogs were healthy, did not suffer from other orthopedic abnormalities, and had not
103 undergone an orthopedic intervention within the past year. Partial cranial cruciate ligament
104 rupture with slight instability at the time of presentation was accepted. The dogs could not
105 receive oral nutraceuticals or sporadic non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for a
106 4-wk withdrawal period before inclusion in the study. Dogs on OA prescription-type diets,
107 fatty acid supplements, or oral or injectable anti-inflammatory drugs prescribed by a
108 veterinarian (including both steroidal and NSAID drugs), or those receiving polysulphated
109 glycosaminoglycans therapy, were not selected.

110 **Experimental design**

111 This was a prospective, double-blinded, longitudinally controlled study. The dogs were fed
112 a commercial control diet from inclusion (D0) to D30 (Dog Chow; Nestlé Purina, St.-Louis,
113 Missouri, USA) (Table I). Following this, the dogs were fed a GLM-enriched diet from D31 to
114 D90 (Mobility Support JS; Medi-Cal/Royal Canin, Guelph, Ontario) (Table I). These foods are
115 formulated to meet the nutritional standards of the dog food nutrient profiles established by the Association of American Feed
116 Control Officials for adult (> 1 y old) maintenance (23). The first diet aimed to standardize the food
117 regimen. A prolonged period was chosen to establish any positive effects of the GLM product,
118 as previously indicated (24). A 14-d progressive transition was observed between the 2 diets

119 for each regimen. The owners and investigators (technicians, veterinarians) were blinded to
120 the treatment. Both foods looked similar and were packaged in identical bags. The daily food
121 needs were calculated according to the manufacturer's recommendations based on the body
122 weight (BW) of the dogs as measured at D0 and D30. The owners were instructed to feed their
123 dogs daily with the exact amount of food calculated. Adjustments to the food intake were not
124 planned. The dogs stayed at home throughout the study. Data acquisition was performed at
125 D0, D30, and D90 at the university teaching hospital of the Faculty of Veterinary Medicine.
126 The owners were not given any recommendations for activity or exercise. A dog was
127 examined at any time if the owner reported pain or abnormal behavior. If rescue analgesia was
128 considered compulsory, the dog would be excluded from the trial.

129 **Plasma omega-3 fatty acid measurements**

130 The fatty acids cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid (EPA) and cis-4,7,10,13,16,19-
131 docosahexaenoic acid (DHA) were quantified in dog plasma by high-performance liquid
132 chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS) using an
133 analytical approach previously described by our group (25). The method consists of a simple
134 protein precipitation extraction with ethanol followed by analysis using HPLC-ESI-MS/MS.
135 The chromatographic separation was performed using a Waters Symmetry C18 100 × 2.1 mm
136 combined with a 9-min linear gradient at a flow rate of 200 µL/min. The initial mobile phase
137 composition ratio was 50:50 of methanol and 20 mM ammonium acetate in water and the final
138 composition ratio was 90:10. The mass spectrometer was operated in the full scan mass
139 spectrometry mode using one segment analysis (m/z 280-400). The quantification mass used
140 was m/z 301 [M-H]⁻ for EPA and m/z 327 [M-H]⁻ for DHA. Calibration curves were

141 constructed based on the peak-area of each analyte. Blood samples were collected at D0, D30,
142 and D90 from fasted dogs.

143

144 **Pain and functional assessments**

145 **Kinetic gait analysis**

146 Ground reaction forces were recorded as the dogs trotted at a velocity of 1.9 to 2.2 m/s on a
147 biomechanical force platform (Model OR6-6; Advanced Medical Technology, Watertown,
148 Massachusetts, USA) coupled to software (Vetforce; Sharon Software, Dewitt, Michigan,
149 USA) (11). The PVF_{BW} was the average of 5 successful and reproducible loadings at a
150 consistent velocity of the affected limb, normalized to the dog's body weight (22).

151 **Client-specific outcome measure**

152 Each owner completed a client-specific outcome measure (CSOM) at D0 as described in
153 previous studies (18,26). The owners continued to complete these questionnaires every week
154 during the study. Briefly, the owners recorded up to 5 of their dog's activities that were most
155 impaired by the painful condition of OA. Since less than 5 activities were accepted, a median
156 value was calculated for all of the selected activities (CSOM_{-med}). The activities were
157 subjectively clustered into 6 categories [Ct_(i)] (Table II). All CSOM_{-med} values and categories
158 were ranked 0 (no problem) to 4 (greatest difficulty).

159 **Motor activity**

160 An accelerometer placed on the neck collar (Actical Mini Mitter; Bio-Lynx Scientific
161 Equipment, Laval, Quebec) recorded continuous MA on 7 randomly selected dogs, as
162 described in a previous study (27). The raw data output of this device is measured in activity

163 counts (in arbitrary units from 0 to ∞) with an epoch length of 2 min. A total of 60 480 counts
164 (720 per d) were sampled for each dog. The data were expressed as 14-d average total
165 intensities, delineating 6 consecutive periods ($P_{(i)}$): P1, from D0 to D14, was the first transition
166 between the home diet and the control diet; during P2, the dogs were fed only the control diet;
167 P3, from D30 to D44, was the second transition; P4 to P6 were the successive 14-d periods of
168 the GLM-enriched diet. In order to analyze variations in MA throughout each day, the activity
169 counts were monitored during 3 daily time periods: at night from 20:00 to 07:00 h; in the
170 morning (AM) from 07:02 to 13:00 h; and in the afternoon (PM) from 13:02 to 19:58 h.

171 **Statistical analyses**

172 We analyzed the changes in pain outcomes (PVF_{BW} and MA) and concentrations of omega-
173 3 fatty acids (EPA and DHA) using linear-mixed models with random intercepts for repeated
174 measures. Both PVF_{BW} and MA were log-transformed to reach normality and homogeneity of
175 the variance. For $CSOM_{-med}$ and $Ct_{(i)}$, we used a multinomial logistic regression for repeated
176 measures or Cochran-Mantel-Haenszel when the assumptions for use of the former were not
177 satisfied. We analyzed the effects of the following 4 subject-dependent covariates on PVF,
178 CSOM, and MA: age at inclusion (older or younger than 6 y); sex (male or female); the
179 anatomical location of the most affected limb (cranial or caudal leg); and the severity of the
180 OA lesion based on the number of joints diagnosed by radiography. The daily time periods
181 (night, AM, and PM) were used to analyze variations in MA. The number of activities, as a
182 fixed covariate, was analyzed by the effect on $CSOM_{-med}$. Backwards selection of the
183 covariates entered into the models was applied to examine associations between pain
184 outcomes and the different covariates. Significant covariates were maintained in the final
185 models. Missing outcomes were determined using the pairwise deletion method. The data are

186 presented as mean [standard deviation (SD)], except where stated otherwise. Statistical
187 analyses were performed using SAS software (SAS 9.1; SAS Institute, Cary, North Carolina,
188 USA). All analyses were conducted at $\alpha = 0.05$ with a Bonferroni adjustment for pairwise
189 multiple comparisons.

190

191 ***Results***

192 The study included 30 dogs. Seven dogs were removed from the study: 3 because of a
193 sudden deterioration in their condition ($n = 1$ before D30 and $n = 2$ during the GLM-enriched
194 diet period), 1 for use of NSAIDs (during the GLM-enriched diet), and 3 because the owner
195 did not comply with the guidelines. The demographic characteristics of the final sample ($N =$
196 23) are shown in Table III. Clinically relevant changes (general examination and blood
197 analyses) related to the control and GLM-enriched diets were not observed during the course
198 of the study.

199 **Plasma omega-3 fatty acid measurements**

200 Plasma concentrations in DHA and EPA were significantly higher at D90 than at D0 ($P <$
201 0.001 and $P = 0.016$, respectively) and D30 ($P < 0.001$ and $P = 0.026$, respectively). There
202 were no significant changes in DHA or EPA plasma concentrations in dogs fed the control diet
203 (Figure 1).

204 **Kinetic gait analysis**

205 The anatomical location of the most affected limb was found to be a significant factor of
206 PVF_{BW} , but no significant effect was found for the other covariates, *i.e.*, age ($P = 0.78$), sex (P
207 $= 0.33$), and severity of OA ($P = 0.43$). While PVF_{BW} differed over time ($P = 0.0004$) and

208 with the anatomical location of the most affected limb ($P < 0.0001$), there was no interaction
209 effect. At D90, PVF_{BW} was significantly higher than at D0 ($P = 0.0004$) and D30 ($P = 0.003$)
210 (Table IV). As descriptive analysis, the level of improvement in PVF, *i.e.*, the group mean of
211 the difference between D30 and D90, was of 2.5 (4.2) %BW for the GLM-enriched diet (Table
212 V). There was no evidence of a statistically significant difference between D0 and D30 ($P =$
213 0.06) (Table IV). The non-significant level of improvement was of 1.6 (5.3) %BW for this
214 30-d control period.

215

216 **Client-specific outcome measure**

217 There was no covariate effect on CSOM_{med}. The CSOM_{med} showed a higher score,
218 indicating more negative OA symptoms, at D0 than at D30 (odds ratio, $OR = 3.8$, $P = 0.03$)
219 and D90 ($OR = 6.7$, $P = 0.006$) (Table IV). The CSOM_{med} remained unchanged from D30 to
220 D90 ($P = 0.75$) (Figure 2). The score for “reduced mobility during activity” [Ct₍₁₎] was higher
221 at D0 only when compared to D30 ($OR = 2.7$, $P = 0.02$). The score for “reduced mobility after
222 exercise” [Ct₍₂₎] was higher at D0 than at both D30 ($OR = 10.5$, $P = 0.05$) and D90 ($OR = 32.7$,
223 $P = 0.03$) (Figure 2). The score for “reduced ability to change posture after rest or in the
224 morning” [Ct₍₄₎] was higher at D0 than at D90 [Row Mean Score Difference ($RMSD$) = 13.0, P
225 = 0.05]. The other time comparisons of Ct₍₄₎ and all time comparisons for Ct₍₃₎, Ct₍₅₎, and Ct₍₆₎
226 showed no differences ($P > 0.05$) (data not shown for Ct₍₄₎ to Ct₍₆₎).

227 **Motor activity**

228 In the 7 dogs studied for MA, both age and the daily monitoring periods had significant
229 effects on MA ($P < 0.001$), but no significant effect was found for sex ($P = 1.0$), the

230 anatomical location of the most affected limb ($P = 0.98$), or the severity of OA ($P = 0.51$).
231 Specifically, the MA intensity was lower for dogs older than 6 y ($P < 0.001$). For the daily
232 monitoring periods, MA was lower during the night ($P < 0.002$), but there was no evidence of
233 a significant difference between both AM and PM periods ($P = 0.14$). There was no
234 interaction between the daily monitoring periods and the 14-d periods. The 14-d average total
235 intensities of MA changed over time ($P = 0.04$). The *post-hoc* analysis showed a significant
236 difference between the first (P1) and last (P6) periods ($P = 0.02$), as well as between P1 and
237 the pooled P4, P5, and P6 periods ($P = 0.012$). There was no evidence of a difference among
238 the other 14-d periods (Figure 3).

239

240 ***Discussion***

241 The results of this study showed that values of PVF improved significantly in parallel with
242 increased concentrations of plasma DHA and EPA when dogs with OA were fed the GLM-
243 enriched diet. Our findings highlight the potent OA-modifying activity of a GLM-enriched
244 diet. Analysis has shown that GLM powder contains glycosaminoglycans (chondroitin
245 sulfate), amino acid (glutamine), omega-3 fatty acids including DHA and EPA (as
246 demonstrated in our study as proof of absorption) and eicosatetraenoic acid (28), minerals
247 (zinc, copper, manganese), and vitamins E and C (Table I). It was suspected that these
248 components and others included in the diet, such as glucosamine, provided chondroprotective,
249 antioxidant, and anti-inflammatory beneficial effects. This study provides strong clinical
250 evidence to support feeding osteoarthritic dogs a GLM-enriched diet. However, our study
251 failed to establish a positive effect of a GLM diet on CSOM and MA values. Surprisingly,

252 PVF, CSOM, and MA improved throughout the study, from D0 to D90, which suggests a
253 cumulative positive effect of both the standardized control and the therapeutic diets on the
254 assessments of pain and function.

255 Measuring ground reaction forces using a force plate has been considered to be the most
256 objective measure of outcome in canine OA. A previous study concluded that GLM alleviated
257 pain in dogs with OA because pain scored subjectively decreased but PVF did not improve
258 clearly (24). The apparent discrepancy between our studies could be explained by technical
259 differences in PVF data acquisition and management, differences in the nature of GLM
260 supplementation (tablets *versus* therapeutic diet) and dosing, as well as variability in the
261 different cohorts. The asymmetry of loading between the front and hind limbs in our sample
262 population was taken into account in order to demonstrate a significant change over the course
263 of the study.

264 Interestingly, the level of improvement in PVF, *i.e.*, the group mean of the difference
265 between the start and the end of the experimental study, should be taken into consideration. A
266 descriptive analysis of all clinical trials using PVF to establish treatment efficacy compared to
267 the placebo in dogs with OA produced interesting information (see Table V). First, most
268 studies expressed the change in PVF as % BW (Table V). Therefore, a significant difference
269 varying from 1.6% to 4.7% BW does not look so high, but the level of improvement in
270 maximal loading represents an increment of 0.5 to 2.5 kg being applied to the afflicted and
271 painful limb; this is a major change. Second, a plateau or ceiling effect appeared in the level of
272 improvement of PVF. It can be assumed that the level of improvement in PVF cannot reach a
273 supra-maximal value because tissue injuries limit joint biomechanics during gait or non-
274 irreversible pain remodelling. In the present study, this GLM diet resulted in a level of

275 improvement close to those observed in similar studies that tested nutraceuticals (29),
276 homeopathic combinations (30), other therapeutic diets (31,32), herbal therapy (33), and
277 NSAIDs, which are the gold standard for relieving pain in canine OA (10,11,24,34,35). Third,
278 the degree of precision of the level of PVF improvement was hugely variable (see the range of
279 precision in Table V). This highlights the presence of both responders and non-responders in
280 the placebo and treatment groups. In half of the studies reviewed (7/15), comparisons of the
281 tested product to the placebo were not significant. In most cases (6/7) of these studies, we
282 suspect that the deficiency in the power of analysis related to the insufficient sample size
283 would counteract the inter-individual variability in responses in both the placebo and treatment
284 groups. We could also hypothesize that in 2 of the 8 successful demonstrations of a treatment
285 effect compared to placebo, despite the limited power of analysis, the between-group
286 comparison was significant because of the observed decrease in PVF in the placebo group
287 (30,35).

288 Finally, introducing a standardized control diet led to a significant placebo effect on PVF in
289 1 study (32) and the difference in PVF between D0 and D30 was close to significant in the
290 present study. As used in previous studies (36), the standardized control diet aimed to
291 homogenize food intake and food habits. Changes in the PVF were not significant throughout
292 the placebo period, but a level of improvement of 1.6% BW might have been confusing to
293 interpret in terms of biomechanical change in dogs with OA. Therefore, we hypothesized that
294 the change in diet was a confounding factor for PVF improvement. A single standardized
295 control diet may have a positive impact on OA symptoms (37), for example, by decreasing
296 BW (38). Significant weight reduction did not occur here, but the result suggests a potent
297 placebo-control diet effect as previously observed using high-quality food (32,39). In

298 summary, our findings indicate that PVF improved greatly from D0 to D90, which suggests a
299 cumulative beneficial effect of the 2 diets on gait parameters.

300 The main goals of owners are to keep their dogs as comfortable, mobile, and pain-free as
301 possible throughout their lifetime. Both CSOM (18) and MA (19,40) have therefore been used
302 to supply a dynamic assessment of how pain interferes with life activities. In the present study,
303 CSOM and MA changed significantly from D0 to D90, but we did not establish a significant
304 effect of the GLM-enriched diet from D30 to D90. First, as observed for the PVF, a change in
305 environmental habits (related to the classic placebo effect) after enrolment in a clinical trial,
306 but mostly a change in nutrition and the high-quality standard of the (control) diet, appears to
307 show a real therapeutic effect (improvement in CSOM from D0 to D30). It is acknowledged
308 that the inclusion of an osteoarthritic dog in a clinical study could lead to a closer follow-up of
309 the dog by the owner and a change in the level of attention and daily life activities dedicated to
310 the dog that could sustain such a placebo effect. Moreover, the statistical regression to the
311 mean and evolutionary compliance of the owners might have contributed to the improvement
312 in CSOM from D0 to D30. Secondly, a low CSOM-median value of 1.5 at D30 suggested that
313 the level of improvement in CSOM was within a small range of 1.5 to 0 from D30 to D90.
314 Since the highest CSOM score was 4.0, the low CSOM (such as at D30), meaning a low level
315 of discomfort, suggested a ceiling effect of the data. Third, the CSOM is distinct from
316 standardized pain scales (9,14,15) because each CSOM is unique for each dog. In this cohort,
317 the dogs that felt enhanced pain with activity, pain/symptoms in relation to inactivity, and
318 stiffness at night, after activity, or in the morning were more sensitive to a dietary effect.
319 Interestingly, some categories on the CSOM were found to be more sensitive to a dietary
320 effect, such as “reduced mobility after exercise” [Ct₍₂₎] and “reduced ability to change posture

321 after rest or in the morning” [Ct₄]. To the best of our knowledge, this is the first time that
322 precise limitations in activity affecting dogs with OA have been classified using CSOM.

323 Different symptoms may imply different mechanisms of processing and managing the disease.

324 Finally, the GLM-enriched diet affected MA during the last 14-d period (P6) only when
325 compared to the first 14-d period, P1. Considering our low statistical power in this exploratory
326 analysis of $n = 7$ dogs, we can only propose to extend our assessment of the therapeutic
327 efficacy of this promising tool in future studies. Continuous recording of motor activity with
328 an accelerometer provided interesting information in the present study. When compared to P1,
329 the difference observed for the pooled periods of P4, P5, and P6 is suggestive P4 to be the
330 time point at which the GLM-enriched diet started to induce a significant increase in MA.

331 Moreover, the descriptive data of MA in the daily monitoring periods (night, AM, and PM)
332 showed that MA improved continuously during the PM period throughout the GLM-enriched
333 diet phase. Taken together, this suggests a delayed and positive cumulative effect of the GLM
334 diet on this active PM period in this cohort.

335 The present study had some limitations. Natural fluctuations in the symptoms, rather than
336 measurement errors, may have caused intra-individual variation in outcomes and potential
337 bias. Evaluation during a significant baseline period would improve the outcome
338 interpretation. Indeed, confidence levels could be calculated from these data and would have
339 implications in monitoring the effects of OA intervention. Dropouts were the main concern in
340 this study because 13.3% of the dogs did not complete the study and another 10% were
341 excluded because their owners did not comply with instructions. Treatment-related dropouts
342 should be included as clinical outcomes in themselves. Finally, GLM is a complex natural
343 product comprised of several potent bioactive compounds. Our goal in monitoring plasma

344 concentrations of EPA and DHA was to document the intestinal absorption of some potential
345 therapeutic agents included in the diet. Nevertheless, biochemical details of GLM activity are
346 still far from being understood and further investigation is required of the bioavailability and
347 synergetic effects of all these diet components on the structure and function of joints.

348 In conclusion, the GLM-enriched diet modified gait in dogs with OA in that the PVF
349 significantly increased over the 60-d period when GLM was introduced into a standardized
350 control diet. This shows the efficacy of a GLM-enriched diet, which should definitely be
351 proposed as an adjunctive treatment to conventional medication. In clinical trials, however,
352 when treatment is incorporated into food, a change in the diet might be a confounding factor
353 on OA symptoms.

354

355

355 **Acknowledgments**

356 The authors thank Anne-Andrée Mignault and Katherine Bernier for technical assistance, Dr.
357 Mary Klinck for text editing, and Dr. Guy Beauchamp for statistical analyses. An unrestricted
358 operating grant from Medi-Cal/Royal Canin Canada was used for study design, interpretation
359 of data, and critical revision of the manuscript. An ongoing New Opportunities Fund grant
360 from the Canada Foundation for Innovation (#9483) provided the equipment necessary for the
361 study and a Discovery grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of
362 Canada (#327158-2008) supported bioanalyses and salaries.

363 **References**

- 364 1. Schaible H-G, Richter F, Ebersberger A, et al. Joint pain. *Exp Brain Res* 2009;196:153–162.
- 365 2. Pollard B, Guilford WG, Ankenbauer-Perkins KL, Hedderley D. Clinical efficacy and
366 tolerance of an extract of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) in dogs presumptively
367 diagnosed with degenerative joint disease. *N Z Vet J* 2006;54:114–118.
- 368 3. Lascelles BD, McFarland JM, Swann H. Guidelines for safe and effective use of NSAIDs in
369 dogs. *Vet Ther* 2005;6:237–251.
- 370 4. Aragon CL, Hofmeister EH, Budsberg SC. Systematic review of clinical trials of treatments
371 for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2007;230:514–521.
- 372 5. Sanderson RO, Beata C, Flipo RM, et al. Systematic review of the management of canine
373 osteoarthritis. *Vet Rec* 2009;164:418–424.
- 374 6. Johnston SA, McLaughlin RM, Budsberg SC. Nonsurgical management of osteoarthritis in
375 dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2008;38:1449–1470.
- 376 7. Bui LM, Bierer TL. Influence of green lipped mussels (*Perna canaliculus*) in alleviating
377 signs of arthritis in dogs. *Vet Ther* 2003;4:397–407.
- 378 8. Hielm-Björkman AK, Rita H, Tulamo R-M. Psychometric testing of the Helsinki chronic
379 pain index by completion of a questionnaire in Finnish by owners of dogs with chronic
380 signs of pain caused by osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2009;70:727–734.
- 381 9. Hielm-Björkman AK, Kuusela E, Liman A, et al. Evaluation of methods for assessment of
382 pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2003;222:1552–
383 1558.

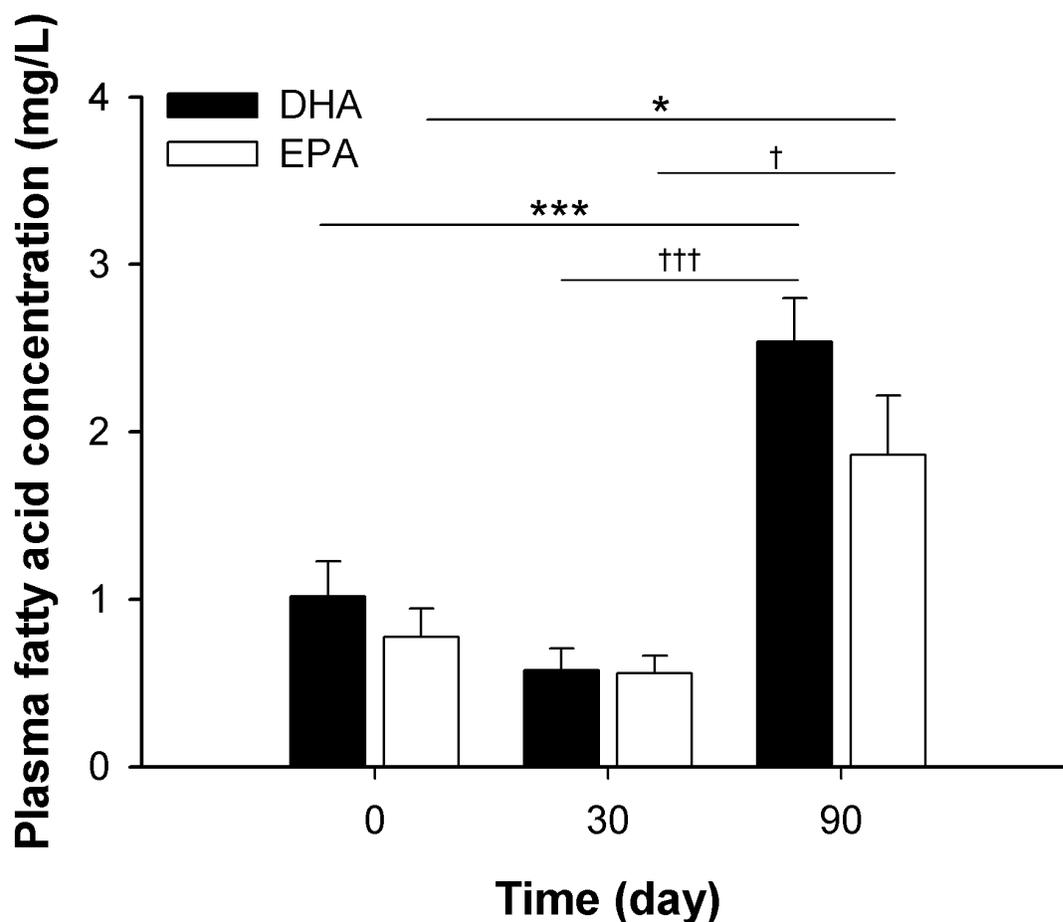
- 384 10. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, et al. Randomized, controlled trial of the efficacy
385 of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in
386 dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206:807–811.
- 387 11. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Desnoyers M. Clinical evaluation of a nutraceutical,
388 carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec*
389 2003;152:323–329.
- 390 12. Gordon WJ, Conzemius MG, Riedesel E, et al. The relationship between limb function and
391 radiographic osteoarthrosis in dogs with stifle osteoarthrosis. *Vet Surg* 2003;32:451–454.
- 392 13. Libicher M, Ivancic M, Hoffmann M, Wenz W. Early changes in experimental
393 osteoarthritis using the Pond-Nuki dog model: Technical procedure and initial results of *in*
394 *vivo* MR imaging. *Eur Radiol* 2005;15:390–394.
- 395 14. Wiseman-Orr ML, Nolan AM, Reid J, Scott EM. Development of a questionnaire to
396 measure the effects of chronic pain on health-related quality of life in dogs. *Am J Vet Res*
397 2004;65:1077–1084.
- 398 15. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT. Development and psychometric testing of an
399 instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res*
400 2007;68:631–637.
- 401 16. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT. Ability of the canine brief pain inventory to
402 detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc*
403 2008;233:1278–1283.
- 404 17. Wiseman-Orr ML, Scott EM, Reid J, Nolan AM. Validation of a structured questionnaire
405 as an instrument to measure chronic pain in dogs on the basis of effects on health-related
406 quality of life. *Am J Vet Res* 2006;67:1826–1836.

- 407 18. Gingerich DA, Strobel JD. Use of client-specific outcome measures to assess treatment
408 effects in geriatric, arthritic dogs: Controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther*
409 2003;4:376–386.
- 410 19. Dow C, Michel KE, Love M, Brown DC. Evaluation of optimal sampling interval for
411 activity monitoring in companion dogs. *Am J Vet Res* 2009;70:444–448.
- 412 20. Quinn MM, Keuler NS, Maria YL, Faria LE, Muir P, Markel MD. Evaluation of agreement
413 between numerical rating scales, visual analogue scoring scales, and force plate gait analysis
414 in dogs. *Vet Surg* 2007;36:360–367.
- 415 21. Waxman AS, Robinson DA, Evans RB, Hulse DA, Innes JF, Conzemius MG. Relationship
416 between objective and subjective assessment of limb function in normal dogs with an
417 experimentally induced lameness. *Vet Surg* 2008;37:241–246.
- 418 22. Moreau M, Troncy E, Bichot S, Lussier B. Influence of changes in body weight on peak
419 vertical force in osteoarthritic dogs: A possible bias in study outcome. *Vet Surg*
420 2010;39:43–47.
- 421 23. Association of American Feed Control Officials (AAFCO). Official Publication. Oxford:
422 Association of American Feed Control Officials, 2003.
- 423 24. Hielm-Björkman AK, Tulamo R-M, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary
424 therapies for canine osteoarthritis Part I: Green-lipped mussel (*Perna canaliculus*). *Evid*
425 *Based Complement Alternat Med* 2009;6:365–373.
- 426 25. Douat J, Vachon P, Beaudry F. Characterization of *in vitro* metabolism of capsazepine, a
427 vanilloid transient receptor potential channel antagonist, by liquid chromatography
428 quadrupole ion trap mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2011;25:479–492.

- 429 26. Lascelles BDX, Gaynor JS, Smith ES, *et al.* Amantadine in a multimodal analgesic regimen
430 for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med* 2008;22:53–59.
- 431 27. Moreau M, Rialland P, Pelletier J-P, *et al.* Tiludronate treatment improves structural
432 changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model.
433 *Arthritis Res Ther* 2011;13:R98.
- 434 28. Murphy KJ, Mann NJ, Sinclair AJ. Fatty acid and sterol composition of frozen and freeze-
435 dried New Zealand Green Lipped Mussel (*Perna canaliculus*) from three sites in New
436 Zealand. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003;12:50–60.
- 437 29. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Lecuyer M. Clinical evaluation of a powder of quality
438 elk velvet antler for the treatment of osteoarthrosis in dogs. *Can Vet J* 2004;45:133–139.
- 439 30. Hielm-Björkman AK, Tulamo R-M, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary
440 therapies for canine osteoarthritis Part II: A homeopathic combination preparation
441 (Zeel(R)). *Evid Based Complement Alternat Med* 2009;6:465–471.
- 442 31. Roush JK, Cross AR, Renberg WC, *et al.* Evaluation of the effects of dietary
443 supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on weight bearing in dogs with
444 osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2010;236:67–73.
- 445 32. Moreau M, Troncy E, del Castillo JRE, Bédard C, Gauvin D, Lussier B. Effects of feeding
446 a high omega-3 fatty acids diet in dogs with naturally occurring osteoarthritis. *J Anim
447 Physiol Anim Nutr (Berl)* 2012; <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01325.x>.
- 448 33. Moreau M, Lussier B, Pelletier J-P, Martel-Pelletier J, Bédard C, Gauvin D, Troncy E.
449 *BrachySTEMMA calycinum* D. don effectively reduces the locomotor disability in dogs with
450 naturally occurring osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *Evid Based
451 Complement Alternat Med* 2012; <http://dx.doi.org/10.1155/2012/646191>.

- 452 34. Budsberg SC, Johnston SA, Schwarz PD, DeCamp CE, Claxton R. Efficacy of etodolac for
453 the treatment of osteoarthritis of the hip joints in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999;214:206–
454 210.
- 455 35. Moreau M, Lussier B, Doucet M, Vincent G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Efficacy of
456 licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec* 2007;160:584–588.
- 457 36. Bierer TL, Bui LM. Improvement of arthritic signs in dogs fed green-lipped mussel (*Perna*
458 *canaliculus*). *J Nutr* 2002;132:1634S–1636S.
- 459 37. Budsberg SC, Bartges JW. Nutrition and osteoarthritis in dogs: Does it help? *Vet Clin*
460 *North Am Small Anim Pract* 2006;36:1307–1323.
- 461 38. Impellizeri JA, Tetrick MA, Muir P. Effect of weight reduction on clinical signs of
462 lameness in dogs with hip osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216:1089–1091.
- 463 39. Fritsch DA, Allen TA, Dodd CE, et al. A multicenter study of the effect of dietary
464 supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on carprofen dosage in dogs with
465 osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2010;236:535–539.
- 466 40. Brown DC, Boston RC, Farrar JT. Use of an activity monitor to detect response to
467 treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2010;237:66–70.
- 468
- 469

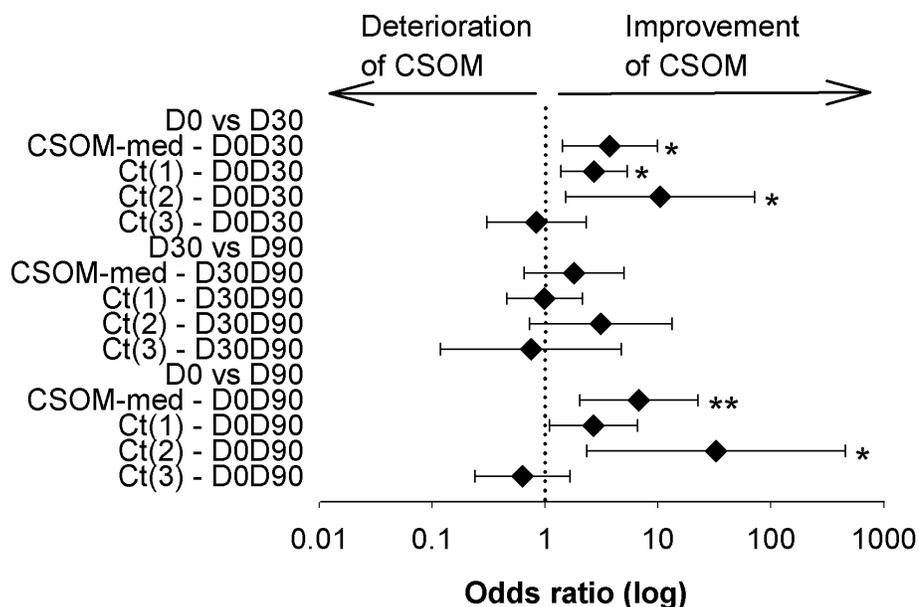
469 FIGURES



470

471 **Figure 1.** Histogram of the concentrations of plasma eicosapentaenic acid (EPA) and
 472 docosahexaenoic acid (DHA) by time period. Values are the mean \pm standard error of the
 473 mean (SEM) of 23 dogs. Data were analyzed by linear-mixed model. Differences of least
 474 squares means were corrected by Bonferroni's adjustment. Significance of difference from
 475 D0: *, $P < 0.05$; ***, $P < 0.001$. Significance of difference from D30: †, $P < 0.05$; †††, $P <$
 476 0.001.

477

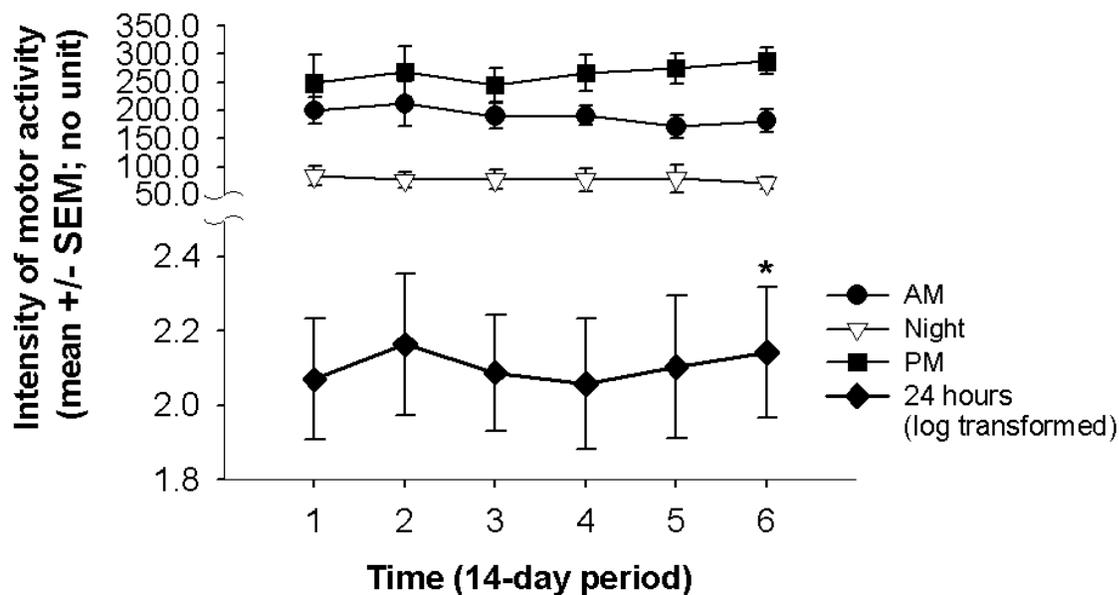


477

478

479 **Figure 2.** Variations of client-specific outcome measures (CSOMs) within time. Interval plot
 480 of the 95% confidence interval of the odds ratio for improvement of the activities summarized
 481 by time comparison of the CSOM_{med} and categories 1 [Ct₍₁₎] to 3 [Ct₍₃₎]. Odds ratio could not
 482 be calculated for categories 4 [Ct₍₄₎] to 6 [Ct₍₆₎]. Time comparisons were performed between
 483 D0 and D30, D30 and D90, and D0 and D90. For each time comparison, the diamonds
 484 represent the estimated mean odds ratio (log); the left and right vertical lines are the upper and
 485 lower bounds of the 95% confidence interval; the dotted vertical line is the odds ratio = 1.
 486 Significant odds ratio was reached when 95% of the confidence interval did not cross the odds
 487 ratio of 1: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

488



488

489

490 **Figure 3.** Motor activity (MA) by time period. Data are presented as mean \pm standard error of
 491 the mean (SEM) of log-transformed total activity counts (24 h; dark diamonds); activity
 492 counts in the morning from 07:02 to 13:00 h (AM, dark circles); afternoon from 13:02 to
 493 19:58 h (PM; dark squares); and night from 20:00 to 07:00 h (open triangles). Time scale was
 494 expressed as every 14-d averaged total intensity from period 1 (P1 = week 1 to 2) to 6 (P6 =
 495 week 11 to 12). Significant difference of least squares means compared with P1: *, $P < 0.05$.

496

496 **Table I. Composition of the main nutrients of diets for dogs**

Guaranteed analysis (except where indicated differently) ^a	Purina Dog Chow for Adult Dogs	Mobility Support JS24 Large Breed ^b
Protein (%Min)	21.00	24.50
Fat (%Min)	10.00	10.50
Fiber (%Max)	4.50	6.30
Moisture (%Max)	12.00	10.00
Eicosapentaenic acid (EPA) (%Min) ^c	Not present	0.45
Docosahexaenoic acid (DHA) (%Min) ^c	Not present	0.20
Glucosamine (mg/kg Min) ^c	Not present	1900
Chondroitin (mg/kg Min) ^c	Not present	100
Linoleic acid (%Min)	1.50	2.22 ^a
Calcium (%Min)	1.00	0.77 ^a
Phosphorus (%Min)	0.80	0.52 ^a
Zinc (mg/kg) ^c	120	219.90 ^a
Copper (mg/kg) ^c	^d	31.10 ^a
Manganese (mg/kg) ^c	^d	72.1 ^a
Vitamin A (IU/kg)	10 000	28 000 ^a
Vitamin E (IU/kg)	100	600 ^a

497 ^a Calculated from typical analysis of the diet.498 ^b A detailed list of ingredients is available at:499 <http://products.royalcanin.us/products/veterinary/canine/mobility-support-js-large-breed.aspx>500 ^c Natural source of nutrients provided by New Zealand green-lipped mussel (GLM).501 ^d No additional data were available from the nutritional details of this diet.

502

502 **Table II. Categories of the client-specific outcome measure (CSOM)**

Categories (Ct _(i))	Activities cited by owners
Reduced mobility during activity [Ct ₍₁₎]	Walking (from 5 min to long walk > 25 min) Playing Running Jumping Accompanying bike Climbing stairs Walking on slick floors
Reduced mobility after exercise [Ct ₍₂₎]	Walking and climbing stairs after exercise, after a walk, after activities, or after playing
Reduced ability to change posture [Ct ₍₃₎]	Getting up Lying down Sitting
Reduced ability to change posture after rest or in the morning [Ct ₍₄₎]	Lying down after night, in the morning, or after rest Getting up at the end of the day
Resistance to manipulations [Ct ₍₅₎]	At the touch, stretching
Mood change [Ct ₍₆₎]	Going outside

503 **Table III. Demographic characteristics of the dogs' sample**

Age groups	<i>n</i> [%]
2.5 to 6 y	12 [52.1]
6 to 12 y	11 [47.9]
Gender	<i>n</i> [%]
Male	14 [60.9]
Female	9 [39.1]
Breeds	<i>n</i> [%]
Labrador	7 [30.4]
Golden retriever	4 [17.4]
Mixed breeds	3 [13.0]
Other pure breeds	9 [39.1]
Origin of lameness in the most affected limb	<i>n</i> [%]
Hip (dysplasia)	8 [34.8]
Stifle (chronic cranial cruciate ligament rupture)	7 [30.4]
Shoulder (<i>osteocondritis dissecans</i>)	3 [13.0]
Elbow (dysplasia)	3 [13.0]
Tarsus/Carpus	2 [8.9]
Number of affected joints	<i>n</i> [%]
1 damaged joint	4 [17.4]
Bilateral (same damaged joint on the right and left limb)	6 [26.1]
Multisite (from 2 to 5 damaged joints)	13 [56.5]

504 **Table IV. Body weight, peak vertical force (PVF), and client-specific outcome measure**
 505 **(CSOM) by time period (D0, D30, and D90) in N = 23 dogs**

506

Method	D0	D30	D90
BW (kg) Mean (SD)^a	40.4 (8.9)	40.3 (8.5)	41.4 (8.38)
PVF _{BW} (%BW) Mean (SD)^a	65.4 (17.2)	67.3 (19.8)	69.9 (21.3) ^{c,d}
CSOM _{-med} (score) Median (P5, P95)^b	2.0 (0.8, 3.0)	1.5 (0.0, 2.0) ^c	1.0 (0.0, 2.0) ^c

507

508 Data are presented as (^a) mean [standard deviation (SD)] of body weight (BW), peak vertical
 509 ground reaction force adjusted to body weight change (PVF_{BW}) and (^b) median of CSOM_{-med}
 510 [5th (P5) and 95th (P95) percentiles]. Data were analyzed by linear-mixed model or
 511 multinomial logistic regression. Contrast analysis of the difference of least squares means was
 512 corrected by Bonferroni's adjustment.

513 ^c Significant difference from D0, $P < 0.05$.

514 ^d Significant difference from D30, $P < 0.05$.

Table V. Systematic review of clinical trials using peak vertical force (PVF) for establishing treatment efficacy compared to placebo in canine osteoarthritis

Class of agent	Tested agent	Study design	Reference	Changes in PVF	Time elapsed
NSAID	Etodolac	Randomized, blinded,	(34)	2.3 (0.4) %BW ^a Low dosage (<i>n</i> = 34) ^{b,c}	8 d
		placebo-controlled trial		0.4 (0.4) %BW ^a Placebo (<i>n</i> = 33) ^{NS}	8 d
NSAID	Carprofen	Randomized, placebo-	(10)	N = 29 (=80.6%) of Pos. Resp. (<i>n</i> = 36) ^c	14 d
		controlled trial		N = 19 (=55.9%) of Pos. Resp. Placebo (<i>n</i> = 34)	14 d
NSAID	Carprofen	Randomized, blinded,	(11)	2.43 %BW [-3.39 to 17.02] ^d (<i>n</i> = 16) ^b	60 d
		placebo-controlled trial		-1.4 %BW [-10.5 to 3.6] Placebo (<i>n</i> = 17) ^{NS}	30 d
NSAID	Meloxicam	Randomized, blinded,	(11)	4.7 %BW [-4.89 to 92.20] ^d (<i>n</i> = 16) ^b	60 d
		placebo-controlled trial		-1.4 %BW [-10.5 to 3.6] Placebo (<i>n</i> = 17) ^{NS}	30 d
Nutraceutical supplement	Quality elk velvet antler	Randomized, blinded,	(29)	4.1 ± 1.0 %BW ^e (<i>n</i> = 13) ^{b,c}	60 d
		placebo-controlled trial		2.4 ± 0.7 %BW ^e (<i>n</i> = 25) ^b	60 d
				0.05 ± 1.5 %BW ^e Placebo (<i>n</i> = 13) ^{NS}	30 d
NSAID	Licofelone	Randomized, double-	(35)	1.7 ± 0.8 %BW ^e (<i>n</i> = 14) ^{b,c}	14 d
		blinded, placebo-		-0.3 ± 0.6 %BW ^e Placebo (<i>n</i> = 16) ^{NS}	14 d

		controlled trial		2.9 ± 1.7 %BW ^c ($n = 13$) ^c	28 d
				-1.9 ± 0.7 %BW ^c Placebo ($n = 17$) ^b	28 d
Nutraceutical supplement	Green-lipped mussel capsules	Randomized, double-blinded, doubled control trial	(24)	0.2 [-5.6 to 12.0] % ^f GLM ($n = 14$) ^{NS}	56 d
				3.2 [-8.2 to 11.8] % ^f Carprofen ($n = 15$) ^b	56 d
				-0.9 [-33.6 to 10.0] % ^f Placebo ($n = 13$) ^{NS}	56 d
Homeopathic combination	Zeel	Randomized, double-blinded, doubled control trial	(30)	2.3 [-3.4 to 10.2] % ^f Zeel ($n = 14$) ^{b,c}	56 d
				3.2 [-8.2 to 11.8] % ^f Carprofen ($n = 15$) ^b	56 d
				-0.9 [-33.6 to 10.0] % ^f Placebo ($n = 13$) ^{NS}	56 d
Therapeutic diet	Prescription Diet Canine j/d, Hill's Science Diet	Randomized, blinded, placebo-controlled trial	(31)	3.9 ± 1.3 %BW ^c ($n = 22$) ^b	90 d
				N = 18 (=82%) of increase in PVF	90 d
				0.4 ± 1.6 %BW ^c Placebo ($n = 16$) ^{NS}	90 d
				N = 6 (38%) of increase in PVF Placebo	90 d
Therapeutic diet	Mobility Support, Medi-Cal/Royal Canin	Double-blinded, placebo-controlled trial	Present study	2.5 (4.2) %BW ^a GLM diet ($n = 23$) ^{b,c}	60 d
				1.6 (5.3) %BW ^a Placebo ($n = 23$) ^{NS}	30 d
				4.2 (7.8) %BW ^a Placebo + GLM diet ($n = 23$) ^b	90 d
Therapeutic diet	JM Joint Mobility, Nestlé Purina PetCare	Randomized, double-blinded, placebo-double-	(32)	3.5 (6.8) %BW ^a ($n = 14$) ^b	90 d
				0.5 (6.1) %BW ^a Placebo 1 ($n = 14$) ^{NS}	90 d

		controlled trial		1.6 (4.1) %BW ^a Placebo 2 (<i>n</i> = 14) ^b	90 d
Herbal therapy	<i>BrachySTEMMA</i>	Randomized, double-	(33)	3.5 (5.5) %BW ^a (<i>n</i> = 16) ^{b,c}	42 d
	<i>calycinum D don</i>	blinded, placebo-		0.5 (5.3) %BW ^a Placebo (<i>n</i> = 17) ^{NS}	42 d
		controlled trial			

^a Mean [standard deviation (SD)] value.

^b Significantly different from baseline.

^c Significantly different from placebo.

^d Median [minimum to maximum] value.

^e Mean ± standard error of the mean (SEM) value.

^f Median [minimum to maximum] of percentage of change.

NSAID – Non-steroidal anti-inflammatory drug; %BW – Percentage of body weight; ^{NS} – nonsignificant change from baseline; Pos. Resp. –

Positive response defined as a 5% or greater increase in peak vertical force (PVF) compared to baseline value.

1 **Article 2**

2 **Clinical validity of outcome pain measures in naturally occurring canine**

3 **osteoarthritis** (publié dans *BMC Veterinary Research* 2012;8:162

4 [http:// www.biomedcentral.com/1746-6148/8/162](http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/162))

5

6 Pascale Rialland¹, Sylvain Bichot¹, Maxim Moreau, Martin Guillot, Bertrand Lussier,

7 Dominique Gauvin, Johanne Martel-Pelletier, Jean-Pierre Pelletier, Eric Troncy

8

9 ¹ These authors contributed equally to this work, and wish that both be considered first co-

10 author of the publication.

11

11 *Abstract*

12 The conceptual validity of kinetic gait analysis and disability outcome assessment methods
13 has guided their use in the assessment of pain caused by osteoarthritis (OA). No consensus
14 on the best clinical methods for pain evaluation in canine OA exists, particularly, when
15 evaluating treatments where a smaller treatment effect is anticipated than with
16 pharmacological pain killers. This study thus aimed at determining the technical validity of
17 some clinical endpoints on OA pain in dogs using the green-lipped mussel (GLM)-
18 enriched diet.

19 Twenty-three adult dogs with clinical OA completed the prospective controlled study. All
20 the dogs were fed a balanced diet over a 30-day control period followed by a GLM-
21 enriched diet over a 60-day period. The kinetic gait analysis parameter (PVF_{BW} , peak
22 vertical force adjusted for body weight change), electrodermal activity (EDA), and a
23 standardized multifactorial pain questionnaire (MFQ) were performed on day (D) 0
24 (inclusion), D30 (start) and D90 (end). The owners completed a client-specific outcome
25 measures (CSOM) instrument twice a week. Motor activity (MA) was continuously
26 recorded in seven dogs using telemetered accelerometric counts. We hypothesized that
27 these methods would produce convergent results related to diet changes. A Type I error of
28 0.05 was adjusted to correct for the multiplicity of the primary clinical endpoints.

29 Neither the EDA nor the MFQ were found reliable or could be validated. Changes in the
30 PVF_{BW} ($P_{adj} = 0.0004$), the CSOM ($P_{adj} = 0.006$) and the MA intensity ($P_{adj} = 0.02$)
31 from D0 to D90 suggested an effect of diet(s). Only the PVF_{BW} clearly increased after the
32 GLM-diet ($P_{adj} = 0.003$). The CSOM exhibited a negative relationship with the PVF_{BW}
33 ($P = 0.02$) and MA duration ($P = 0.02$).

34 The PVFBW exhibited the best technical validity for the characterization of the beneficial
35 effect of a GLM-enriched diet. The CSOM and MA appeared less responsive following a
36 GLM-diet, but these measures appeared complementary to gait analysis. Apparently, the
37 CSOM provides the capacity to rely on pain OA assessment influenced by both lameness
38 quantification (PVFBW) and physical functioning (MA).

39 Introduction

40 The prevalence of osteoarthritis (OA) in the canine population (20% of adult and 80% of
41 the geriatric (> 8 years old) dogs in North America [1]) makes the disease a major cause of
42 concern. The distortion between clinical and radiographic finding in dog OA is well
43 recognized [2]. The symptomatic signs of OA are highly variable, related to pain and
44 physical functioning, and translated into limb impairment, activities limitations and
45 restricted participation [3-5]. This situation led to the use of multiple methods to assess the
46 efficacy of OA treatment [6]. However, interpretations are not always clear, the results are
47 often inconsistent and clinical validation of these methods is often missing.

48 The conceptual validity^a of the canine pain scales designed for OA and chronic pain has
49 evolved over time [7-11]. These scales have demonstrated their sensitivity to detect
50 response to OA treatment where pain was reduced following nonsteroidal anti-
51 inflammatory drug (NSAID) [11-13], nutraceutical [14] or other nontraditional [13,15]
52 treatment for OA. However, divergent interpretations were addressed when comparing
53 subjective pain scores to an objective evaluation of lameness [13,14], emphasizing the
54 limited information on the relationship between pain scales and OA severity. The majority
55 of standardized multifactorial pain questionnaires (MFQ) are guided by the traditional
56 notion of an inevitably progressive and degenerative disease process; greater behavioral
57 changes indicate higher OA severity and pain in dogs. However, OA is a heterogeneous
58 group of painful conditions [16,17]. The variety of OA signs suggests the need for the
59 implementation of a clinical assessment that includes a broader variable profile than the
60 current standardized OA profile. For this purpose, the client-specific outcome measures
61 (CSOM) require the owner to report pain behavioral changes and/or impaired activities in
62 their OA-afflicted dogs [18,19]. However, the promising CSOM have not met the technical

63 validity^b criteria [19]. These data suggest that psychometric^c support for the CSOM
64 instrument is required.

65 The enhancement of a measurement's interpretability requires the referencing of its
66 value to another measurement with established conceptual validity and interpretability. A
67 surrogate to pain evaluation, vertical ground reaction forces, such as PVF and vertical
68 impulse, measured through objective kinetic analysis have prevailed over pain
69 measurements to quantify limb impairment [20,21]. Interestingly, the PVF variable showed
70 sensitivity^d and responsiveness^e for the efficacy of the anti-inflammatory, analgesic and
71 structural effects of NSAID [22-25] and nontraditional [13] treatments, which supports a
72 regulatory claim for these treatments for osteoarthritic dogs.

73 Physical activity represents a distinct dimension of physical functioning [26], and as
74 such, telemetered motor activity (MA) is an objective behavioral method for the clinical
75 assessment of physical function and overall well-being for canine OA [27,28]. However,
76 more data are required to confirm its validity for pain evaluation in OA clinical trials.

77 Clinicians must be able to interpret the literature to implement the best evidence-based
78 practices. Therefore, here we performed a preliminary analysis to determine the reliability^f,
79 responsiveness and criterion validities^g for canine pain assessment in a one-way crossover
80 clinical trial in naturally occurring OA in dogs that were fed with two successive diets
81 (control and therapeutic) during a 90-day period. We further hypothesized, first, that
82 changes in measurements of the clinical endpoints (dependent variables) would arise from
83 the diets (independent variable) with every other possible factor controlled and, second,
84 that validated outcomes would correlate strongly to PVF as the primary outcome and MA
85 as an exploratory outcome. This study determined the clinical utility of selected methods
86 regardless of some technical validities.

87

88 **Results**

89 **Animals**

90 A total of 30 dogs were initially recruited. Seven dogs were excluded for the following
91 reasons: three due to a sudden deterioration of their condition (one dog at D21 and two
92 dogs at D45 and D52), three for a lack of owner follow-up, and one for NSAID use (at
93 D40). The sample included 14 males and 9 females, and the most frequent breeds were
94 Labrador ($n=7$) and Golden Retrievers ($n=4$). The remainder of the dogs were
95 mixed-breeds ($n=3$) and various pure-breeds ($n=9$). The dogs were 2.5 to 11.5
96 years old (6 years, median) at the time of inclusion and weighed 25.2 to 68.4 kg
97 [40.4 ± 1.8 kg]. The joint that caused the most lameness in each animal during the
98 orthopedic examination was the hip (34.8%) followed by the stifle (30.4%), shoulder and
99 elbow (13.0%, each), and carpus and tarsus (4.4% each). Joint pathologies included hip
100 dysplasia (39.1%), cranial cruciate ligament rupture (26.1%), elbow dysplasia (13.1%),
101 shoulder osteochondritis dissecans (OCD) (13.0%), tarsus OCD, and carpus OA with no
102 obvious origin (4.4% each).

103 **Primary endpoints**

104 ***Kinetic force platform gait analysis (PVF_{BW})***

105 The mean CV for PVF_{BW} was not different over time ($P=0.82$) (Table 1). A significant
106 effect of the anatomical location of the most affected limb on the PVF_{BW} was observed
107 ($P<0.001$). Moreover, the PVF_{BW} was significantly higher on D90 than on D0
108 ($P_{adj}=0.0004$) and D30 ($P_{adj}=0.003$) (Figure 1A). No differences between D0 and
109 D30 were observed ($P_{adj}=0.06$).

110

111 **Table 1 Mean dog coefficient of variation^a on the primary clinical endpoints^b**

Variable	D0 Mean (SD)	D30 Mean (SD)	D90 Mean (SD)	Time effect ^c F Value (P)
PVF _{BW}	3.9 (2.2)	3.6 (1.8)	4.0 (3.2)	0.19 (0.82)
CSOM	11.3 (16.3)	5.7 (12.1)	3.9 (10.5)	0.94 (0.34)
EDA	15.6 (14.4)	11.4 (12.7)	10.7 (8.6)	16.76 (< 0.001)

112 ^aCoefficient of variation (CV) is calculated as the ratio of the standard deviation to the113 mean. ^bPVF_{BW}: peak vertical ground reaction force adjusted for body weight change;

114 CSOM: client-specific outcome measures; EDA: electrodermal activity

115 Descriptive data are represented as mean (SD).^cThe mean CV were considered not variable

116 at each time point, when time did not exert a significant effect with P-value higher than

117 0.05

118 **Figure 1 Evolution of primary clinical endpoints in osteoarthritic dogs fed**119 **subsequentially with control and green-lipped mussel-enriched diets.** A) PVF_{BW}: Peak120 vertical ground reaction force adjusted to change in body weight (%BW). B) CSOM_{Med}:

121 Box plot of the median-value of client-specific outcome measures (score). C) EDA:

122 electrodermal activity. Data are represented as mean ± SEM for PVF_{BW} and EDA, and as123 median □ + □ 75th percentile for CSOM_{Med} at day(D)0, D30, and D90. General linear mixed

124 model for repeated measures: (a) and (b) were significant difference of Least Squares

125 Means when compared with D0 and D30, respectively. Multinomial logistic regression for

126 repeated measures: *significant odds ratio (when compared to D0). Significance was

127 reached at P-value lower than 0.017 with Bonferroni's adjustment

128 *Client-specific outcome measures (CSOM)*

129 The mean CV for CSOM was not different over time ($P = 0.34$) (Table 1). The
130 $CSOM_{Med}$ was higher on D0 than on D30 [odds ratio (OR): 3.8, 95% confidence interval
131 (CI): 1.4 to 9.8, $P_{adj} = 0.03$] and on D90 [OR: 6.7, CI: 2.0 – 22.6, $P_{adj} = 0.006$] in the
132 dogs with OA (Figure 1B). No difference between D30 and D90 was noted [OR: 1.8, CI:
133 0.7 – 5.0, $P_{adj} = 1.00$]. The ranked activities (Table 2) revealed that the second ranked
134 activity ($Act_{(2)}$) was significantly different between D0 and D30 [OR: 3.5, CI: 1.3 – 9.2,
135 $P_{adj} = 0.04$] and D90 [OR: 8.7, CI: 2.2 – 34.1, $P_{adj} = 0.006$]. No differences over time
136 were observed for the other ranked activities, which suggested that the ranking of the
137 activities had no/poor influence.

Table 2 Client-specific outcome measures (CSOM)

	Time	Median (range)	Statistical comparison	OR (95% LCL – UCL)	Chi square	P
Act ₍₁₎	D0	2 (0 – 4)	D0 vs. D30	2.6 (1.0 – 6.9)	4.9	0.04
	D30	1 (1 – 3)	D0 vs. D90	5.3(1.3 – 21.3)	5.5	0.019
	D90	1 (0 – 3)	D30 vs. D90	1.9(0.5 – 7.1)	1.1	0.29
Act ₍₂₎	D0	2 (1 – 4)	D0 vs. D30	3.5*(1.3 – 9.2)	6.4	0.011
	D30	2 (0 – 4)	D0 vs. D90	8.7*(2.2 – 34.1)	9.7	0.0018
	D90	1 (0 – 2)	D30 vs. D90	2.5(0.8 – 6.9)	3	0.08
Act ₍₃₎	D0	2 (1 – 3)	D0 vs. D30	1.8(0.8 – 4.2)	2.0	0.15
	D30	2 (0 – 3)	D0 vs. D90	2.8(0.9 – 8.4)	3.3	0.06
	D90	1 (0 – 4)	D30 vs. D90	1.5(0.4 – 5.0)	0.5	0.47
Act ₍₄₎	D0	2 (1 – 4)	D0 vs. D30	2.0(0.8 – 4.7)	2.5	0.10
	D30	2 (0 – 4)	D0 vs. D90	4.2(1.1 – 16.2)	4.4	0.03
	D90	2 (0 – 4)	D30 vs. D90	2.1(0.7 – 5.9)	2.0	0.15

Act ₍₅₎	D0	2 (1 – 3)	D0 vs. D30	–	9.1	0.02
CMH	D30	2 (0 – 3)	D0 vs. D90	–	7.5	0.05
	D90	1 (0 – 3)	D30 vs. D90	–	3.5	0.17
Ctg ₍₁₎	D0	2 (1 – 4)	D0 vs. D30	2.7*(1.4 – 5.3)	8.3	0.004
	D30	2 (0 – 2)	D0 vs. D90	2.6(1.7 – 6.6)	4.6	0.03
	D90	1 (0 – 3)	D30 vs. D90	0.9(0.4 – 2.1)	0.4	0.97
Ctg ₍₂₎	D0	2.5 (0 – 3)	D0 vs. D30	10.5*(1.5 – 72.0)	5.7	0.016
	D30	2 (0 – 2)	D0 vs. D90	32.7*(2.3 – 457.0)	6.7	0.009
	D90	1 (0 – 2)	D30 vs. D90	3.1(0.7 – 13.3)	2.3	0.12
Ctg ₍₃₎	D0	2 (1 – 4)	D0 vs. D30	0.8(0.3 – 2.3)	0.1	0.73
	D30	2 (1 – 4)	D0 vs. D90	0.6(0.2 – 1.6)	0.8	0.35
	D90	2 (0 – 3)	D30 vs. D90	0.2(0.2 – 4.7)	0.09	0.76
Ctg ₍₄₎	D0	2 (2 – 2)	D0 vs. D30	–	4.1	0.25
CMH	D30	2 (1 – 2)	D0 vs. D90	–	13.0 [♦]	0.011

	D90	1 (0 – 2)	D30 vs. D90	–	6.6	0.08
Ctg ₍₅₎	D0	2 (2 – 3)	D0 vs. D30	–	0.11	0.73
CMH	D30	1.5 (1 – 2)	D0 vs. D90	–	0.55	0.45
	D90	1 (1 – 2)	D30 vs. D90	–	0.11	0.73

Selected activities, Act₍₁₎ to Act₍₅₎ ranked by decrescendo order of importance by owner. Selected behavioural categories, Ctg₍₁₎: Reduced mobility; Ctg₍₂₎: Reduced mobility after exercise; Ctg₍₃₎: Reduced ability to change posture; Ctg₍₄₎: Reduced ability to change posture after rest or in the morning; Ctg₍₅₎: Resistance to manipulations. *LCL*: lower control limit; *UCL*: upper control limit

Multinomial logistic regression for repeated measures: *significant odds ratio (*OR*). Cochran-Mantel-Haenszel (*CMH*) test: ♦significant row mean scores difference (*RMSD*). Estimates were significant P-value (P) lower than 0.017 with Bonferroni's adjustment

146 The selected activities were categorized as follows: 41 activities were Ctg₍₁₎ (reduced
 147 mobility), 16 activities were Ctg₍₂₎ (reduced mobility after exercise), 12 activities were
 148 Ctg₍₃₎ (reduced ability to change posture), 10 activities were Ctg₍₄₎ (reduced ability to
 149 change posture after rest or in the morning), 4 activities were Ctg₍₅₎ (resistance to
 150 manipulations), and one activity was Ctg₍₆₎ (mood change). The Ctg₍₁₎ was higher on D0
 151 than on D30 [OR: 2.7, CI: 1.4 – 5.3, P_{adj} = 0.02], but no difference was found between
 152 the other time points (Table 2). The Ctg₍₂₎ was higher on D0 than on D30 [OR: 10.5, CI:
 153 1.5 – 72.0, P_{adj} = 0.05] and on D90 [OR: 32.7, CI: 2.3 – 457.0, P_{adj} = 0.03] (Table 2).
 154 The Ctg₍₄₎ revealed a significantly higher score on D0 than on D90 (Row Mean Score
 155 Difference, RMSD = 13.0, df = 1, P_{adj} = 0.04) (Table 2). No differences over time
 156 were observed for Ctg₍₃₎ and Ctg₍₅₎ (Table 2).

157 *Electrodermal activity (EDA)*

158 The mean CV for EDA was different over time ($P < 0.001$) (Table 1), which suggested
 159 EDA was variable on repeated measurement throughout the study. This poor technical
 160 reliability precludes any interest in the use of the measurement for the assessment of
 161 treatment responsiveness. The EDA was not different on D0 compared with D30
 162 ($P_{adj} = 0.99$) and D90 ($P_{adj} = 0.90$). No difference was observed between D30 and
 163 D90 ($P_{adj} = 0.07$) (Figure 1C).

164 *Criterion validities*

165 The pairwise correlation coefficients between the PVF_{BW} and the CSOM_{Med} were low
 166 (Spearman's rank correlation coefficient (ρ_s) = -0.03, 0.10 and -0.37 on D0, D30 and
 167 D90, respectively) (Table 3). Some relationship between the PVF_{BW} and the CSOM_{Med}
 168 appeared between D30 and D90 using the descriptive pairwise correlation coefficient

169 ($\rho_{S\Delta} = -0.71$) (Table 3). The regression estimate between the PVF_{BW} and the $CSOM_{Med}$
170 was significant (estimate (SE) $\Delta = -0.01$ (0.003), $P = 0.02$). These results indicate that
171 both variables are convergent and that the $CSOM_{Med}$ change is predictive, in some part, of
172 the PVF_{BW} change. The CSOM categories were presented as exploratory endpoints
173 because they were *a posteriori* measures with interesting information (Table 3).
174 Descriptive correlations revealed that the CSOM categories reflected the $CSOM_{Med}$.

Table 3 Spearman's rank correlation coefficient of PVF_{BW} in comparison with measures^a

Comparison of PVF_{BW}	n	D0 (95% CI)	D30 (95% CI)	D90 (95% CI)	Difference D0D30 (95% CI)	Difference D30D90 (95% CI)
with:						
Primary endpoints						
CSOM	23	-.03 (-.64, .32)	.10 (-.38, .57)	-.37 (-.74, .12)	.13 (-.44, .66)	-.71 (-.91, -.34)
EDA	23	-.23 (-.61, .24)	.10 (-.44, .60)	.16 (-.36, .62)	-.12 (-.60, .43)	.31 (-.23, .69)
Exploratory endpoints						
MA	7	-.46 (-1.0, .77)	.10 (-1.0, 1.0)	.45 (-.68, 1.0)	-.04 (-.94, 1.0)	.14 (-1.0, 0.80)
Ctg ₍₁₎	20	-.20 (-.65, .42)	-.29 (-.66, .21)	-.13 (-.58, .40)	-.03 (-.67, .74)	-.64 (-.87, -.15)
Ctg ₍₂₎	10	.01 (-.77, .78)	.00 (-.77, .79)	-.75 (-1.0, 0.00)	-.03 (-.81, .74)	-.52 (-.90, .45)
Ctg ₍₃₎	9	.56 (-.72, 1.0)	.54 (-.31, 1.0)	.52 (-.81, 1.0)	.00 (-.91, .92)	-.99 (-1.0, -.87)
Ctg ₍₄₎	8	.20 (-.44, .94)	.09 (-.91, 1.0)	.07 (-.91, 1.0)	.20 (-.94, 1.0)	-.66 (-1.0, .71)

PVF_{BW}: peak vertical ground reaction force adjusted for body weight change.

^a*CSOM*: client-specific outcome measures; *EDA*: electrodermal activity; *MA*: motor activity; *Ctg₍₁₎*: Reduced mobility; *Ctg₍₂₎*: Reduced mobility after exercise; *Ctg₍₃₎*: Reduced ability to change posture; *Ctg₍₄₎*: Reduced ability to change posture after rest or in the morning

Descriptive data are represented as Spearman's rank correlation coefficient at day(D)0, D30, D90, difference between D0 and D30 (D0D30), and difference between D30 and D90 (D30D90). 95% CI: 95% confidence interval from bootstrap method of sample of n dogs (1000 samples randomly selected with replacement). NA: not available

173 The pairwise correlation coefficient between the PVF_{BW} and the EDA indicated no linear
174 relationship on D0, D30, and D90 or differences between D0 and D30 and D30 and D90
175 (Table 3). Regression analyses demonstrated no relationship between the PVF_{BW} and the EDA
176 (estimate (SE) $\beta = 0.001$ (0.001), $P = 0.91$), which implies that EDA had no empirical
177 association with PVF_{BW} .

178 **Exploratory endpoints**

179 ***Motor activity (MA)***

180 The mixed model of MA recordings in the seven randomized dogs revealed a significant main
181 effect for time ($P = 0.04$), age ($P < 0.001$) and daily period ($P < 0.001$). A significant
182 effect of age was observed between dogs older than 6 years and younger dogs (minus 6 years)
183 ($P < 0.001$) (Figure 2). A significant effect of the daily period on MA intensity was noted
184 because the dogs were less active at night than during the morning ($P = 0.002$) or the
185 afternoon ($P < 0.001$). The planned comparisons showed that MA intensity was lower at P1
186 compared to P6 ($P_{adj} = 0.02$) (Figure 2).

187 **Figure 2 Evolution of motor activity in osteoarthritic dogs fed subsequently with**
188 **control and green-lipped mussel-enriched diets.** Motor activity (MA) is represented as box
189 plot (median and 25th to 75th percentile) per two consecutive weeks (periods $P_{(i)}$) for $n = 7$
190 dogs. General linear mixed model for repeated measures: ^asignificant difference of Least
191 Squares Means when compared with P1. Significance was reached at P-value lower than 0.003
192 with Bonferroni's adjustment. As descriptive statistics, MA was presented by age category,

193 and represented as median (25th to 75th percentile) for dogs under 6-y (black circle and short
 194 dashed lines) and dogs older than 6-y (black triangle and long dashed line)

195 There was no pairwise correlation (Table 3) and no relationship between the MA intensity and
 196 the PVF_{BW} ($P = 0.36$). No relationship between the MA intensity and the CSOM_{Med}
 197 ($P = 0.79$) was noted on the regression analysis. However, there was a significant negative
 198 relationship between the MA duration and the CSOM_{Med} ($P = 0.02$).

199 *Multifactorial pain questionnaire (MFQ)*

200 The internal consistency of the MFQ-S ($n_{ij} = 69$, Cronbach's alpha = 0.59) and the MFQ-
 201 D ($n_{ij} = 69$, Cronbach's alpha = 0.69) were lower than expected, which suggested that the
 202 selected items were not related to the same construct[†].

203 Figure 3 illustrates that the MFQ-NRS score was 3.0 times (OR) higher on D30 than on D0
 204 ($P_{adj} = 0.04$), which indicates deterioration in the dogs' condition. However, this score was
 205 unchanged from D0 to D90 ($P_{adj} = 0.60$) and from D30 to D90 ($P_{adj} = 0.27$). Moreover,
 206 the MFQ-S was lower on D30 ($P_{adj} = 0.003$) compared to on D0. No differences on D90
 207 compared with D0 ($P_{adj} = 0.21$) or D30 ($P_{adj} = 0.75$) were noted for MFQ-S. Finally, the
 208 MFQ-D and the MFQ-RTx did not change over time ($P > 0.05$) (Figure 3). The divergent
 209 scoring of the MFQ subscales did not validate this standardized scale in the study.

210 **Figure 3 Evolution of a multifactorial questionnaire (MFQ) in osteoarthritic dogs fed**
 211 **subsequentially with control and green-lipped mussel-enriched diets.** MFQ-NRS: MFQ-
 212 Numerical Rating Scale, MFQ-S: MFQ-Static, MFQ-D: MFQ-Dynamic, MFQ-RTx: MFQ-

213 Response to Treatment. Data are represented as median, 25th to 75th percentile at day(D)0,
214 D30, and D90. General linear mixed model for repeated measures: (a) was significant
215 difference of Least Squares Means when compared with D0. Multinomial logistic regression
216 for repeated measures: *significant odds ratio (D0 vs D30). Significance was reached at P-
217 value lower than 0.017 with Bonferroni's adjustment

218

219 *Discussion*

220 The present study represents the continued interest in the conceptual and technical validities of
221 multiple methods for pain assessment in canine OA. The PVF, CSOM, and MA demonstrated
222 convergent results for the detection of diet-induced changes. The PVF exhibited the best
223 technical validity, and the CSOM and MA demonstrated moderate technical validity.
224 However, the CSOM evaluating the dogs' day-to-day health status was found as related to the
225 PVF and was primarily influenced by MA duration. The differences in the conceptual and
226 technical validities suggested PVF, CSOM, and MA did not provide the same information on
227 OA pain and physical function, but importantly they should be used and interpreted as a
228 whole.

229 This study demonstrated that the PVF showed responsiveness to a GLM-enriched diet effect
230 on canine OA. The study confirmed that the kinetic force platform gait analysis is a useful
231 outcome because of the relative ease of data acquisition and technical validity
232 [21,22,24,25,29-31]. Interestingly, age, sex and radiographically estimated OA severity were
233 not affecting PVF, and the value of PVF representing the most affected limb was an accurate

234 outcome measure for OA. But it might only partially represent the consequences of the entire
235 disease on the physical function in these selected dogs, with regards to the absence of
236 relationship between PVF and MA.

237 Clinical owner-oriented outcomes would be conceptually preferred, in general, because they
238 are expected to reflect a dog's quality of life. The questioning of the patient/owner about the
239 quality of life has opened a wider panel of OA physical function and pain assessments. The
240 CSOM is a subjective instrument that satisfied some psychometric qualities in this clinical
241 trial. The owner-described behaviors in the CSOM were similar to previously described
242 behaviors in canine studies of OA symptoms and pain [7,19]. These similarities suggest the
243 face validity^k of the CSOM, which indicates that this measurement assesses the appropriate
244 outcome [32]. Reliability testing revealed that the owner's assessment was not variable over a
245 one-week period. This is suggestive that CSOM scores were stable at the condition the dog's
246 status did not change between these two successive CSOM assessments (when facing a
247 change, it was expected the owner to alert the investigators). With the conditions of the study,
248 it was not possible to judge on a memory effect (the owner is influenced by the souvenir of the
249 previous scoring) and the potential effect of a random error in CSOM owner assessment.
250 Moreover, regression analyses demonstrated that both CSOM and PVF methods were related,
251 supporting our second hypothesis. But, CSOM measurements were not strictly parallel to PVF
252 (confirming our first hypothesis) as only the PVF detected a strict beneficial effect of the
253 GLM diet. Divergent results between CSOM and PVF for the responsiveness analysis and the
254 criterion validity analysis might be explained by the technical features of the CSOM. Indeed,
255 the quantification scale of the CSOM is limited, likely decreasing its responsiveness. In
256 addition, it was difficult to demonstrate a further decrease in the CSOM beyond D30

257 suggesting a possible floor effect. The sample size of 23 dogs was based on the power of the
258 trial to detect a specified clinical benefit on the PVF. According to previous work done in
259 similar conditions [25], a sample size of 20 dogs ensured a difference of 4.2 %BW in the PVF
260 consistent with an effect size of 0.9 could be detected assuming 80% power, a SD of 4.5 and a
261 5% significance threshold. This sample size might be too weak to fully support GLM diet
262 efficacy using CSOM. This result suggests that the CSOM would decrease the likelihood of
263 false clinical benefits. In contrast, PVF was responsive to GLM effect. Whereas PVF
264 demonstrated significant change between D30 and D90, the primary endpoint CSOM has not
265 demonstrated a statistically significant change for the same interval time. This could look as
266 controversial for the validity of the methods, Therefore, we applied a correction for
267 multiplicity of endpoints that adjusted the Type I error when a significant result was required
268 for more than one but not all multiple primary outcomes after correction of multiplicity [33].
269 With the correction for multiplicity, PVF was significantly different between D30 and D90.
270 This method provided stronger evidence to fully characterize the metrological feature of the
271 methods when a small treatment effect is anticipated. In addition, the study suggests the two
272 methods complementary relationship in pain assessment in which the CSOM assessed pain-
273 induced changes in behavior and locomotion, and the PVF analyzed kinetic gait changes.

274 Previous studies have not indicated the details of the construction of the CSOM [19]. As
275 previously noted, owners easily report on their dog's activities, but the number (from 5 to 3
276 activities) and the nature of the selected activities in the CSOM differed between users
277 [19,34]. This result suggests that OA has a variable impact on the daily life of dogs or that
278 some owners missed behavioral changes that are caused by chronic pain [35]. In this study, an
279 analysis of the influence of each activity revealed that the ranking of activity was neither valid

280 nor informative. However, the categorization of the activities demonstrated significant
281 behavioral changes. The owners detected higher limitations in activity in their dogs after
282 exercise (Ctg₍₂₎) or after a certain period of inactivity, including stiffness at night/after
283 activity/in the morning (Ctg₍₄₎). These behaviors are events that concur with suggestions of
284 pain signs in previous studies. Hence, the selection of the same number of activities (we
285 suggest 2 to 3 activities) that are worded by the owner but selected from the present categories
286 would allow more precise and sensitive comparisons between dogs in future studies.

287 Our findings reported a significant difference in MA from P1 to P6 (Figure 2). However, the
288 graph clearly suggests the possibility to detect more frequent differences while taking account
289 individual variability of these data (*cf.* the actual difference with age on this limited sample)
290 and required sample size to avoid Type II error. In addition, according to the small sample
291 inference of the linear mixed model [36], our result needs to be verified on larger sample size.
292 Despite limitation about the statistical inference, the present result about MA opens new
293 insight in the field of pain evaluation for osteoarthritic dogs. Interestingly, MA did not
294 significantly rely on PVF but to CSOM. These results emphasized that MA provided an aspect
295 of spontaneous physical activity that was not detected by the conditioned gait evaluation, *i.e.*
296 PVF. In addition, MA may be influenced by the proper ability of the dog to move freely and
297 reflect its quality of life as defined by CSOM. Therefore, MA and CSOM are attractive
298 outcome measures of pain and physical function in OA dogs because they are interrelated but
299 different; one measurement is objective and the other is subjective.

300 The observed divergence in the results of the constitutive MFQ subscales (*e.g.*, MFQ-NRS and
301 MFQ-S from D0 to D30), the lack of responsiveness (for MFQ-RTx and MFQ-D) and the

302 weak internal consistency (particularly for MFQ-S) lead to poor technical validity and
303 question the construct validity¹ of this method. Although the CSOM and the MFQ were
304 designed for clinical use to evaluate similar aspects of OA, the current results suggest that both
305 pain scales partially reflect the same construct or that the MFQ did not satisfy adequate
306 psychometric features. The standardized MFQ scale looked less potent to reflect the variability
307 in limb impairment, activity limitations and other pain syndromes in canine OA.

308 The EDA measurement did not provide conclusive results in this clinical study. Invalidated
309 outcome measures were observed in experimental conditions in rodents with a higher
310 sympathetic tonus [37], but our own group has reported positive results with its use in the
311 experimental (Pond-Nuki) canine OA model [31].

312 The GLM-enriched diet and the GLM extracts although not a reference treatment for OA were
313 shown to exert a positive therapeutic effect on the clinical signs of dog OA [14,38]. Although
314 a placebo-controlled trial would have been favored, ethical issues precluded a parallel
315 comparison over 60 days between GLM- and placebo-treated dogs. Therefore, only a
316 longitudinal one-way crossover design was included in the experimental design using the dogs
317 as their own control. The anticipated effect of the GLM-diet was weak [14,38]. We did not
318 know how much difference should be seen after two months of giving GLM. In addition, we
319 observed slight improvement from D0 to D30 for CSOM, and MA seemed to be better during
320 P2 (D16 to D29) two weeks after changing the home food for the control diet. Previous studies
321 reported better owner-assessed pain in OA dogs with diet change [39,40]. Altogether, it is
322 possible that the changes were not resulting from the GLM-diet but might be representing a
323 trend over time caused by the diet changes [39]. Some might argue that PVF was not a good

324 indicator of pain (or, at least claim that PVF is less sensitive than vertical impulse for hip
325 dysplasia condition). As other critic in the present study, we could mention the fact that the
326 other methods, *i.e.* MFQ and EDA, did not detect any treatment effect over the GLM-diet
327 period. However, the sensitivity of MFQ and EDA was not previously investigated in other
328 OA related-pain study in clinical condition, whereas the vertical ground reaction forces, such
329 as PVF, have already proven their ability to detect change with NSAIDs treatment [22-25].

330 ***Conclusions***

331 This study investigated outcome measures that assessed signs in naturally occurring OA in
332 dogs. The data from this study demonstrated that the limitation in activities (CSOM) and
333 physical function, including limb impairment (PVF) and physical activity (MA), acted as
334 complementary measures. Further developments on CSOM and MA would optimize their use
335 in clinical trials.

336 ***Methods***

337 **Animals**

338 The Institutional Animal Care and Use Committee approved the experimental protocol (Rech-
339 1297) following the Canadian Council on Animal Care guidelines.

340 Thirty dogs were selected at the University teaching hospital of the Faculty of Veterinary
341 Medicine (Université de Montréal, St-Hyacinthe, QC, Canada). The selection criteria were the
342 following: 1) chronic and stable lameness, as reported by the owner; 2) no pregnancy and
343 obesity; 3) weight greater than 20 kg (44 lb) and age greater than 12 months; 4) freedom from

344 non-OA orthopedic, neurological and other abnormalities; 5) lack of orthopedic surgical
345 treatments in the past year; and 6) no treatment with OA prescription-type diets, fatty acid
346 supplements, continuous oral or injectable anti-inflammatory drugs that were prescribed by a
347 veterinarian (including both steroid and NSAID), or polysulfated glycosaminoglycans therapy.
348 Dogs that were receiving an oral nutraceutical or sporadic NSAID administration underwent a
349 4-week withdrawal period to establish eligibility.

350 When expressed as a percentage of their body weight (%BW), a PVF lower than 99.1% BW
351 for forelimb lameness or lower than 62.2% BW for the lameness of one or more hindlimbs
352 was required for inclusion, as previously performed [41]. An experienced veterinary surgeon
353 performed an orthopedic exam and reviewed the digital radiographs of hips, stifles, and
354 elbows for signs of OA. Physical examination, biochemical and hematological analyses (CBC,
355 chemistry panel, and urine analysis) were performed on each dog. These were done to exclude
356 non-healthy animals that presented non-OA orthopedic, neurological or other abnormalities.
357 Dogs were removed from the study if either of the following conditions occurred: 1) the
358 administration of a recognized treatment for OA, 2) medical problems or a sudden
359 deterioration in orthopedic condition, 3) decision by the owner or 4) a change in housing style.

360 **Study design**

361 All the dogs were fed a standard balanced diet of adult dry food (Dog Chow®, Nestlé Purina,
362 St.-Louis, MO, USA) from D0 to D30 to standardize the food regimen for use as a placebo-
363 control. This dog chow did not include any proclaimed active ingredients for the treatment or
364 alleviation of OA. Subsequently, all the dogs were fed an experimental therapeutic food that

365 was enriched in green-lipped mussel (GLM) from D31 to D90 (Mobility Support JS®, Medi-
366 Cal/Royal Canin, Guelph, ON, Canada). The latter diet was chosen for its potent pain relief
367 activity [14,42] without the side effects that are induced by the long-term administration of
368 NSAIDs [43,44]. The packaging of both diets was identical. The pet owners and the
369 investigators in the field had no knowledge of the food identity and in what order the diets
370 were fed. The food composition and the daily food needs all met the recommendations of the
371 Association of American Feed Control Officials for the maintenance of adult dogs [45]. The
372 pet owners were instructed to transition their dogs to the assigned foods as following: a 14
373 transition day period at D0-D14 and at D30-D44.

374 The dogs remained at home throughout the study. The pain CSOM questionnaire and MA
375 were recorded within the dog's environment. The others methods were performed on D0, D30
376 and D90 at the University teaching hospital.

377 **Primary endpoints**

378 *Kinetic force platform gait analysis (PVF_{BW})*

379 Data acquisition for the PVF was obtained for a trot at a constant velocity between 1.9 and 2.2
380 m/sec on a biomechanical force platform (Model OR6-6®; Advanced Medical Technology
381 Inc., Watertown, MS, USA) coupled to software (Vetforce®; Sharon Software, Dewitt, MI,
382 USA) as described previously [41]. The lowest PVF determined the most severely affected
383 limb, which was selected for evaluation and used throughout the entire study. Five valid trials
384 were recorded for the selected limb and averaged for further analyses. As recently reported by
385 our group, PVF adjusted for individual BW changes (PVF_{BW}) was used for the analyses [41].

386 *Client-specific outcome measures (CSOM)*

387 The CSOM scale is an owner-specific instrument to assess the influence of OA on the dog's
388 behavior [18]. A veterinarian assisted the owners at baseline, and the owners determined the
389 five most difficult/OA-affected activities [$Act_{(i)}$] for their dog. The evaluation of fewer than
390 five activities was permitted. The owners ranked the activities by the level of importance from
391 $Act_{(1)}$ to $Act_{(5)}$. Each activity was scored from 0 (no problem) to 4 (greatest difficulty) on a
392 five-point Likert-rating scale. The median value of all the activity scores ($CSOM_{Med} = \text{Median}$
393 [$Act_{(i)}$]) ranged from 0 (no problem/pain) to 4 (greatest difficulty/pain). Each owner completed
394 the CSOM twice per week. The activities were also subjectively clustered into six categories
395 [$Ctg_{(i)}$] to provide a description of the activity limitations induced by OA: $Ctg_{(1)}$ = Reduced
396 mobility; $Ctg_{(2)}$ = Reduced mobility after exercise; $Ctg_{(3)}$ = Reduced ability to change posture;
397 $Ctg_{(4)}$ = Reduced ability to change posture after rest or in the morning; $Ctg_{(5)}$ = Resistance to
398 manipulations; and $Ctg_{(6)}$ = Mood change. If more than one selected activity was included in
399 the same category, a median value of these scored activities was used to score the category.

400 *Electrodermal activity (EDA)*

401 An EDA measurement was performed using the Pain Gauge system® (PHIS Inc., Dublin, OH,
402 USA) to reflect sympathetic responses related to stress and pain. Both electrodes of the device
403 were applied on a dry right hind paw for two seconds. The instrument displays a numeric level
404 of skin conductance that ranged from 0.1 (no pain, no stress) to 9.9 (worst pain and stress).
405 The measurements were performed in triplicate on D0, D30 and D90. The data were averaged
406 at each time point for the statistical analyses.

407 **Exploratory endpoints**

408 ***Motor activity (MA)***

409 Accelerometer microchips (Actical[®] Mini Mitter, Bio-Lynx Scientific Equipment, Inc., Laval,
410 QC, Canada) continuously recorded MA for 12 weeks on seven randomly selected dogs.
411 These microchips are recent introductions in clinical studies, and we were interested in an *a*
412 *priori* assessment of the technical validity of this tool in a limited sample. The sensor was
413 placed on a neck collar. The epoch length of the count acquisition was set at 2 min. The
414 intensity of the MA for each count was recorded and translated to numerical values (no unit).
415 The data recorded at D0, D30 and D90 were externally excluded from analyses because they
416 did not represent the true MA as the dogs were handled at the clinic. To reach the same
417 interval of time for analysis, we excluded too D15, D45, D60 and D75. Therefore, data are
418 represented in six consecutive periods ($P_{(i)}$) of 14-day average total intensities. Three daily
419 time periods (night from 20:00 to 07:00 h; morning from 07:02 to 13:00 h; and afternoon from
420 13:02 to 19:58 h) were established to stabilize data variability in further analyses. Moreover,
421 the duration of MA was assessed over each 14-day period as the number of nonzero intensity
422 counts.

423 ***Multifactorial pain questionnaire (MFQ)***

424 An MFQ scale supporting OA disease-specific measures was designed, based on the content
425 validity of previous reports [7-10]. Item selection and scale construction produced four
426 subscales. The MFQ-Numerical Rating Scale (MFQ-NRS) is a five-point Likert scale (0–4)
427 with 0 representing no pain and 4 the most excruciating pain perceived in dogs. The MFQ-

428 Static (MFQ-S) scale was expected to measure the retrospective emotional functioning of the
429 owner toward his/her OA-afflicted dog (Annex 1). The MFQ-Dynamic (MFQ-D) scale
430 measured prospective physical functioning (Annex 2). Finally, the MFQ-Response to
431 Treatment (MFQ-RTx) scale reported the satisfaction of treatment through a simple
432 descriptive scale ranging from really better (-2); lightly better (-1); no change (0); lightly
433 worse (1); to really worse (2).

434 **Statistical analyses**

435 ***Reliability***

436 Variability in data outcome for the repeated measures was determined at each time-point, for
437 each dog by calculating the mean coefficient of variation (CV), as previously performed [21].
438 The CV was calculated as the ratio of the standard deviation to the mean of the repeated
439 measurements for the PVF ($n = 5$ at each time-point), the CSOM ($n = 2$ per week) and
440 the EDA ($n = 3$ at each time point). For the CSOM, two values of the $Act_{(i)}$ sum in the same
441 week were considered as duplicates, and these values were used for the dispersion analysis.
442 This analysis was compulsory for the $CSOM_{Med}$ value distribution to approximate zero, which
443 might mislead the CV. A mixed model analysis was used to compare changes in mean CV
444 over time to estimate if the dispersion of the repeated measures was not different at each time
445 point. The later was considered as good when time did not exert a significant effect in the
446 model, finally, the internal consistency of the MFQ-S and the MFQ-D was assessed by the
447 calculation of Cronbach's alpha. The threshold for good interrelatedness among items was set
448 at $\alpha > 0.7$ [32].

449 ***Responsiveness***

450 Our analyses examined the responsiveness of the PVF and MA methods using a mixed-model
451 method for repeated measures with time as fixed effect and subject as random effect, and
452 provided fixed effect estimates by restricted likelihood modeling. The homogeneity of the
453 variance assumption using the probabilities of Levene's test was provided for each time.
454 Normality distribution was confirmed using the Shapiro-Wilk test. Log-transformation was
455 performed to fit normality when required. For covariance structure selection, we used
456 goodness-of-fit statistics to compare models with the same fixed effects but different
457 covariance structure. Also, normality and homogeneity of the variance of the models'
458 residuals were checked to assess the model validity [46,47]. A multinomial logistic regression
459 for repeated measures analyzed the CSOM_{Med}, Act_(i), Ctg_(i), and MFQ subscales as discrete
460 dependent variables. The Cochran-Mantel-Haenszel test was applied when the statistical
461 model did not fit the assumptions of the multinomial logistic regression approach. A Poisson
462 regression assessed EDA and the duration of activity (*i.e.*, the number of active MA counts).
463 We addressed missing data using pairwise deletion. When required, factors such as age at
464 inclusion (plus or minus 6 years), sex (male or female), the anatomical location of the most
465 affected limb (cranial or caudal leg), and the severity of the OA lesion based on the number of
466 joints diagnosed by radiography, were tested in the statistical models. Another factor as the
467 daily time periods (night, morning, afternoon) was also tested for MA. Only the significant
468 factors were included in the final statistical models.

469 ***Criterion validities***

470 The descriptive statistics of the Spearman Rank correlation coefficient and their 95% interval
471 confidence at the CSOM, EDA, MA endpoints were summarized by referencing their values
472 to the PVF_{BW} at D0, D30 and D90 to assess concurrent validity^h. The estimated 95%
473 confidence limits represented the 25th and 975th rank-ordered values from the 1000 bootstrap
474 resampling of 23 dogs [48]. For predictive validityⁱ, we first described the magnitude of the
475 systematic differences of the same outcomes between D0 and D30 and D30 and D90. Hence,
476 the inferential statistics using regression analyses were performed to assess the relationship of
477 the PVF_{BW} to the CSOM, the EDA and MA at the three time points. A regression analysis of
478 the CSOM and MA was also performed on the continuous recordings of the seven dogs.

479 Statistical analyses were performed using the GLIMMIX and MIXED procedures in the SAS
480 software (version 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC). The α -level of significance was set at
481 5%. For the correction of the multiplicity of the clinical endpoints (PVF, CSOM, and EDA),
482 the significant level of the statistical models was set at the $\alpha/(k)$ level, where an α of 5% is the
483 original Type I error, and k is the number of primary endpoints to be performed [33]. As a
484 result, the corrected Type I error probability was set at $0.05/3 = 0.017$ for the Type 3 tests,
485 which tested for the significance of each of the fixed effects specified in each model. When
486 the statistical model result yielded significant main effect for time, Bonferroni's adjustment
487 was applied at the 5% α -threshold for *post-hoc* repeated measures of the same method
488 (adjusted P-value cited as P_{adj}). Descriptive statistics of the measured outcomes at each time
489 are presented as the mean \pm SEM and the median (25th to 75th rank-ordered values) for the
490 ordinal data.

491 **Endnotes**

492 ^aConceptual validity is the *a priori* acceptance that the attribute (or scientific construct, *i.e.*
493 canine osteoarthritic pain in our case) to be measured produces variations in the measurement
494 outcomes (*i.e.* pain scales in the actual context). It refers to an ideal outcome that directly
495 measures an important change in the patients' health status that is the result of the study
496 intervention.

497 ^bTechnical validity is the evidence base for technical properties of the methods including intra-
498 and inter-reliability, and (a number of different forms of) validity.

499 ^cPsychometrics is the field of study consisting in a single psychological attribute (*i.e.* animal
500 pain) measurement (metrology) with one or multiple items (*i.e.* behavioral characteristics as
501 part of pain expression) and establishing the validation of the developed measurement method
502 by referencing to its technical validity (also cited as psychometric features).

503 ^dSensitivity is the ability to detect differences between subjects (or subjects between groups).

504 ^eResponsiveness is the ability to detect a change when a subject improves or deteriorates.

505 ^fReliability concerns the random variability associated with the measurements. Reliability
506 testing consists in determining that results are consistent across repeated measures over time
507 and by different observers. Internal consistency is part of the assessment of the reliability in
508 multi-item scales as it tests the homogeneity of the content of a composite scale.

509 ^gCriterion validities assess an instrument against a criterion measure known to be valid (also
510 called “true value” or “gold standard”).

511 Criterion validity could be ^hconcurrent validity, which involves a parallel comparison of the
512 new instrument against a well-established method, or ⁱpredictive validity, which usually makes
513 a prediction of future test results.

514 A ^jconstruct is an explanatory variable, which is not directly observable and is constructed
515 from a theoretical concept (see ^a).

516 ^kFace validity refers to the degree of symptomatic resemblance between the developed
517 instrument or outcome measurement and the intended topic or clinical condition.

518 ^lConstruct validity refers to the degree to which a developed instrument measures the scientific
519 construct that is designed to measure.

520 **Abbreviations**

521 Act_(i), Activity “i”; BW, Body weight; Ctg_(i), Category “i”; CSOM, Client-specific outcome
522 measures; GLM, Green-lipped mussel; NSAID, Non-steroidal anti-inflammatory drug;
523 PVF_{BW}, Body weight change-adjusted peak vertical force; MA, Motor activity

524 **Competing interests**

525 All authors declare no competing interest in this publication.

526 **Author contributions**

527 Conception and design: MM, BL, JPP, JMP, ET. Acquisition and interpretation of the data:
528 SB, PR, MM, BL, JPP, ET. Collection and assembly of data: PR, SB, MM, BL, JPP, ET.
529 Provision of study materials or patients: SB, MM, BL. Statistical expertise: PR, MG, ET.
530 Drafting the article: PR, SB, ET. Critical revision of the article for important intellectual
531 content: All authors. All authors read and approved the final manuscript. Acquisition of
532 funding: ET, BL. Administrative, technical, or logistic support: PR, SB, MM, MG, ET. ET
533 takes the responsibility for the integrity of the work as a whole.

534 **Authors' information**

535 ET is actual Chair of the Non-Human Species – Special Interest Group of the International
536 Association for the Study of Pain (<http://www.iasp-pain.org/SIGs/NonHuman/>), member of
537 the Research and Education Committee of the International Veterinary Academy of Pain
538 Management (<http://www.ivapm.org/>) as well as founding member and secretary of the
539 4AVET association (<http://www.4avet.org>).

540 **Acknowledgments**

541 The authors are grateful to Mrs. Anne-Andrée Mignault and Katherine Bernier, for clinical
542 assistance and technical expertise, Guy Beauchamp for the statistical analyses. This study was
543 supported by an unrestricted operating grant (BL, ET) from Medi-Cal/Royal Canin Canada,
544 Inc.; an ongoing New Opportunities Fund grant (ET) from the Canada Foundation for

545 Innovation (#9483); and a Discovery grant (ET) from the Natural Sciences and Engineering
546 Research Council of Canada (#327158-2008).

547 **Appendix A. Annex 1. Presenting the static component of**
548 **the multifactoral questionnaire (MFQ-S) used in the study**

**From the following list, check any depressed or diminished parameter observed Present
on your dog during the last month**

Mood

Amount of daily activity

Willingness to play voluntarily

Frequency of postures of a happy dog

Appetite

Sleep (disturbance)

From the following list, check any change of attitude

Social relationships (withdrawal) with humans

Social relationships (withdrawal) with other dogs

Vocalization (audible complaining)

Number of total observed parameter: Total score (/10)

549 **Appendix B. Annex 2. Presenting the dynamic component**
550 **of the multifactorial questionnaire (MFQ-D) used in the**
551 **study**

From the following list, check any parameter presently observed on your dog

Stiffness/difficulty to rise after rest

Stiffness/difficulty moving at the end of the day (after activities)

Lameness/difficulty to perform regular activity (walking, running...)

Lameness/difficulty to perform brutal activity (jumping, stairs...)

Pain when turning suddenly while walking

Difficulty to sit or lay down

Difficulty to rise from a lying position

Difficulties to squat, urinate, or defecate

Number of total observed parameter: Total score (/8)

552 ***References***

553 1. Johnston SA: Osteoarthritis: joint anatomy, physiology, and pathobiology. *Vet Clin North*

554 *Am Small Anim Pract* 1997, 27:699–723.

555 2. Gordon WJ, Conzemius MG, Riedesel E, Besancon MF, Evans R, Wilke V, Ritter MJ: The

556 relationship between limb function and radiographic osteoarthrosis in dogs with stifle

557 osteoarthrosis. *Vet Surg* 2003, 32(5):451–454.

- 558 3. Dray A, Read S: Arthritis and pain. Future targets to control osteoarthritis pain. *Arthritis*
559 *Res Ther* 2007, 9(3):212.
- 560 4. Brandt KD, Dieppe P, Radin EL: Etiopathogenesis of Osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North*
561 *Am* 2008, 34(3):531–559.
- 562 5. Goldring SR: The Role of Bone in Osteoarthritis Pathogenesis. *Rheum Dis Clin North Am*
563 2008, 34(3):561–571.
- 564 6. Pollard B, Dixon D, Dieppe P, Johnston M: Measuring the ICF components of impairment,
565 activity limitation and participation restriction: an item analysis using classical test theory and
566 item response theory. *Health Qual Life Outcomes* 2009, 7(1):41.
- 567 7. Hielm-Björkman AK, Kuusela E, Liman A, Markkola A, Saarto E, Huttunen P,
568 Leppaluoto J, Tulamo RM, Raekallio M: Evaluation of methods for assessment of pain
569 associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2003, 222(11):1552–1558.
- 570 8. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT: Development and psychometric testing of an
571 instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2007,
572 68(6):631–637.
- 573 9. Hudson JT, Slater MR, Taylor L, Scott HM, Kerwin SC: Assessing repeatability and
574 validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in
575 dogs. *Am J Vet Res* 2004, 65(12):1634–1643.

- 576 10. Wiseman-Orr ML, Scott EM, Reid J, Nolan AM: Validation of a structured questionnaire
577 as an instrument to measure chronic pain in dogs on the basis of effects on health-related
578 quality of life. *Am J Vet Res* 2006, 67(11):1826–1836.
- 579 11. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, Farrar JT: Ability of the Canine Brief Pain Inventory to
580 detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2008,
581 233(8):1278–1283.
- 582 12. Hielm-Björkman AK, Rita H, Tulamo R-M: Psychometric testing of the Helsinki chronic
583 pain index by completion of a questionnaire in Finnish by owners of dogs with chronic signs
584 of pain caused by osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2009, 70(6):727–734.
- 585 13. Hielm-Björkman AK, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M: Evaluating Complementary
586 Therapies for Canine Osteoarthritis Part II: A Homeopathic Combination Preparation
587 (Zeel(R)). *Evid Based Complement Alternat Med* 2009, 6(4):465–471.
- 588 14. Hielm-Björkman AK, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M: Evaluating Complementary
589 Therapies for Canine Osteoarthritis Part I: Green-lipped Mussel (*Perna canaliculus*). *Evid*
590 *Based Complement Alternat Med* 2009, 6(3):365–373.
- 591 15. Moreau M, Lussier B, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Bédard C, Gauvin D, Troncy E:
592 *Brachystemma calycinum* D. Don effectively reduces the locomotor disability in dogs with
593 naturally occurring osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *Evid Based*
594 *Complement Alternat Med* 2012. doi:10.1155/2012/646191.

- 595 16. Smith GK, Mayhew PD, Kapatkin AS, McKelvie PJ, Shofer FS, Gregor TP: Evaluation of
596 risk factors for degenerative joint disease associated with hip dysplasia in German Shepherd
597 Dogs, Golden Retrievers, Labrador Retrievers, and Rottweilers. *J Am Vet Med Assoc* 2001,
598 219(12):1719–1724.
- 599 17. Clements DN, Carter SD, Innes JF, Ollier WER: Genetic basis of secondary osteoarthritis
600 in dogs with joint dysplasia. *Am J Vet Res* 2006, 67(5):909–918.
- 601 18. Gingerich DA, Strobel JD: Use of client-specific outcome measures to assess treatment
602 effects in geriatric, arthritic dogs: controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther*
603 2003, 4(4):376–386.
- 604 19. Lascelles BDX, Gaynor JS, Smith ES, Roe SC, Marcellin-Little DJ, Davidson G, Boland
605 E, Carr J: Amantadine in a Multimodal Analgesic Regimen for Alleviation of Refractory
606 Osteoarthritis Pain in Dogs. *J Vet Intern Med* 2008, 22(1):53–59.
- 607 20. Rumph PF, Kincaid SA, Visco DM, Baird DK, Kammermann JR, West MS:
608 Redistribution of vertical ground reaction force in dogs with experimentally induced chronic
609 hindlimb lameness. *Vet Surg* 1995, 24(5):384–389.
- 610 21. Budsberg SC: Long-term temporal evaluation of ground reaction forces during
611 development of experimentally induced osteoarthritis in dogs. *Am J Vet Res* 2001,
612 62(8):1207–1211.

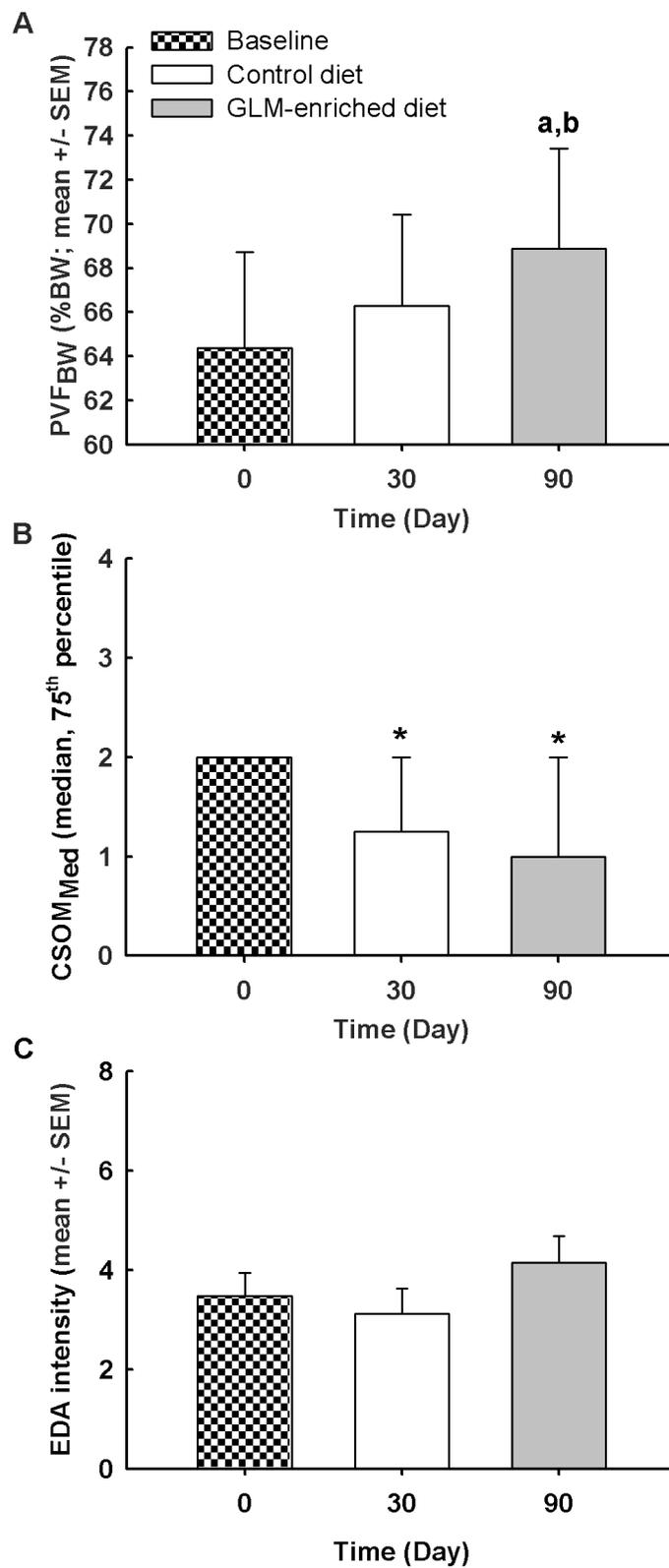
- 613 22. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, Lincoln JD, Toombs JP, Whitehair JG, Lentz EL:
614 Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory
615 drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1995, 206(6):807–811.
- 616 23. Budsberg SC, Johnston SA, Schwarz PD, DeCamp CE, Claxton R: Efficacy of etodolac
617 for the treatment of osteoarthritis of the hip joints in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999,
618 214(2):206–210.
- 619 24. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Desnoyers M: Clinical evaluation of a nutraceutical,
620 carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec* 2003,
621 152(11):323–329.
- 622 25. Moreau M, Lussier B, Doucet M, Vincent G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP: Efficacy of
623 licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec* 2007, 160(17):584–588.
- 624 26. Wilson AC, Palermo TM: Physical Activity and Function in Adolescents With Chronic
625 Pain: A Controlled Study Using Actigraphy. *J Pain* 2012, 13(2):121–130.
- 626 27. Hansen BD, Lascelles BDX, Keene BW, Adams AK, Thomson AE: Evaluation of an
627 accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *Am J Vet Res* 2007,
628 68(5):468–475.
- 629 28. Brown DC, Boston RC, Farrar JT: Use of an activity monitor to detect response to
630 treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2010, 237(1):66–70.

- 631 29. Conzemius MG, Evans RB, Besancon MF, Gordon WJ, Horstman CL, Hoefle WD, Nieves
632 MA, Wagner SD: Effect of surgical technique on limb function after surgery for rupture of the
633 cranial cruciate ligament in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2005, 226(2):232–236.
- 634 30. Trumble TN, Billingham RC, Bendele AM, McIlwraith CW: Evaluation of changes in
635 vertical ground reaction forces as indicators of meniscal damage after transection of the
636 cranial cruciate ligament in dogs. *Am J Vet Res* 2005, 66(1):156–163.
- 637 31. Moreau M, Riolland P, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Boileau C, Caron J,
638 Frank D, Lussier B, Del Castillo JRE, *et al*: Tiludronate treatment improves structural changes
639 and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Res*
640 *Ther* 2011, 13(3):R98.
- 641 32. Streiner DL, Norman GR: *Health measurement scales: a practical guide to their*
642 *development and use*. 3rd edition. New York: Oxford University Press; 2003.
- 643 33. Turk DC, Dworkin RH, McDermott MP, Bellamy N, Burke LB, Chandler JM, Cleeland
644 CS, Cowan P, Dimitrova R, Farrar JT, *et al*: Analyzing multiple endpoints in clinical trials of
645 pain treatments: IMMPACT recommendations. *Pain* 2008, 139(3):485–493.
- 646 34. Lascelles BDX, Hansen BD, Simon R, Venita D, Andrea T, Courtney CP, Eric SS,
647 Elizabeth R: Evaluation of Client-Specific Outcome Measures and Activity Monitoring to
648 Measure Pain Relief in Cats with Osteoarthritis. *J Vet Intern Med* 2007, 21(3):410–416.

- 649 35. Hielm-Björkman AK, Kapatkin AS, Rita HJ: Reliability and validity of a visual analogue
650 scale used by owners to measure chronic pain attributable to osteoarthritis in their dogs. *Am J*
651 *Vet Res* 2011, 72(5):601–607.
- 652 36. Skene SS, Kenward MG: The analysis of very small samples of repeated measurements II:
653 A modified Box correction. *Stat Med* 2010, 29(27):2838–2856.
- 654 37. Richardson CA, Niel L, Leach MC, Flecknell PA: Evaluation of the efficacy of a novel
655 electronic pain assessment device, the Pain Gauge, for measuring postoperative pain in rats.
656 *Lab Anim* 2007, 41(1):46–54.
- 657 38. Pollard B, Guilford WG, Ankenbauer-Perkins KL, Hedderley D: Clinical efficacy and
658 tolerance of an extract of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) in dogs presumptively
659 diagnosed with degenerative joint disease. *N Z Vet J* 2006, 54(3):114–118.
- 660 39. Roush JK, Cross AR, Renberg WC, Dodd CE, Sixby KA, Fritsch DA, Allen TA, Jewell
661 DE, Richardson DC, Leventhal PS, *et al*: Evaluation of the effects of dietary supplementation
662 with fish oil omega-3 fatty acids on weight bearing in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med*
663 *Assoc* 2010, 236(1):67–73.
- 664 40. Fritsch DA, Allen TA, Dodd CE, Jewell DE, Sixby KA, Leventhal PS, Brejda J, Hahn KA:
665 A multicenter study of the effect of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids
666 on carprofen dosage in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc* 2010, 236(5):535–539.

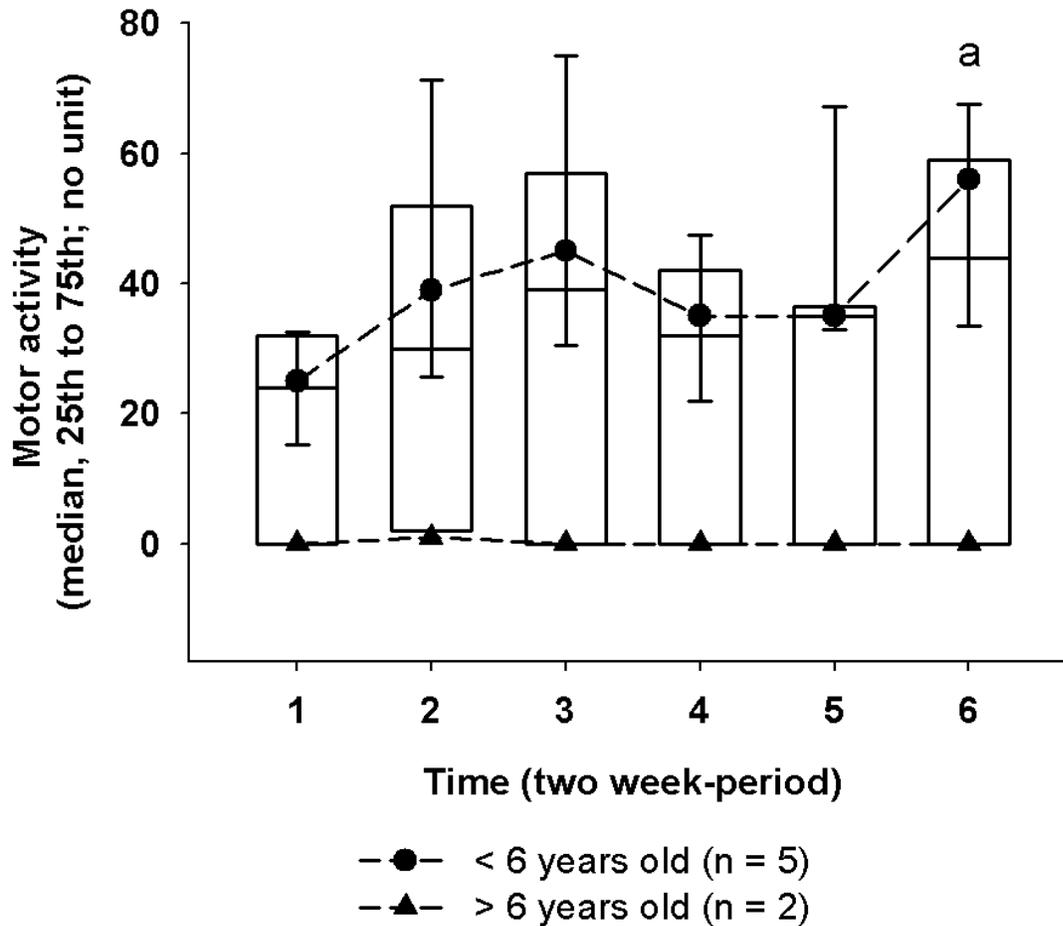
- 667 41. Moreau M, Troncy E, Bichot S, Lussier B: Influence of Changes in Body Weight on Peak
668 Vertical Force in Osteoarthritic Dogs: A Possible Bias in Study Outcome. *Vet Surg* 2010,
669 39(1):43–47.
- 670 42. Bui LM, Bierer TL: Influence of green lipped mussels (*Perna canaliculus*) in alleviating
671 signs of arthritis in dogs. *Vet Ther* 2003, 4(4):397–407.
- 672 43. Lascelles BD, McFarland JM, Swann H: Guidelines for safe and effective use of NSAIDs
673 in dogs. *Vet Ther* 2005, 6(3):237–251.
- 674 44. Vangsness CT Jr, Spiker W, Erickson J: A Review of Evidence-Based Medicine for
675 Glucosamine and Chondroitin Sulfate Use in Knee Osteoarthritis. *Arthroscopy* 2009,
676 25(1):86–94.
- 677 45. : In *Official Publication (Association of American Feed Control Officials)*. Edited by
678 AAFCO. Oxford.; 2003.
- 679 46. Littell RC, Pendergast J, Natarajan R: Modelling covariance structure in the analysis of
680 repeated measures data. *Stat Med* 2000, 19(13):1793–1819.
- 681 47. Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD, Schabenberber O: *SAS for Mixed*
682 *Models*. 2nd edition. Cary: SAS Publishing; 2006.
- 683 48. Haukoos JS, Lewis RJ: Advanced Statistics: Bootstrapping Confidence Intervals for
684 Statistics with “Difficult” Distributions. *Acad Emerg Med* 2005, 12(4):360–365.

685 FIGURES



687 **Figure 1 Evolution of primary clinical endpoints in osteoarthritic dogs fed**
688 **subsequentially with control and green-lipped mussel-enriched diets.** A) PVF_{BW} : Peak
689 vertical ground reaction force adjusted to change in body weight (%BW). B) $CSOM_{Med}$: Box
690 plot of the median-value of client-specific outcome measures (score). C) EDA: electrodermal
691 activity. Data are represented as mean \pm SEM for PVF_{BW} and EDA, and as median \square + \square 75th
692 percentile for $CSOM_{Med}$ at day(D)0, D30, and D90. General linear mixed model for repeated
693 measures: (a) and (b) were significant difference of Least Squares Means when compared with
694 D0 and D30, respectively. Multinomial logistic regression for repeated measures: *significant
695 odds ratio (when compared to D0). Significance was reached at P-value lower than 0.017 with
696 Bonferroni's adjustment

697



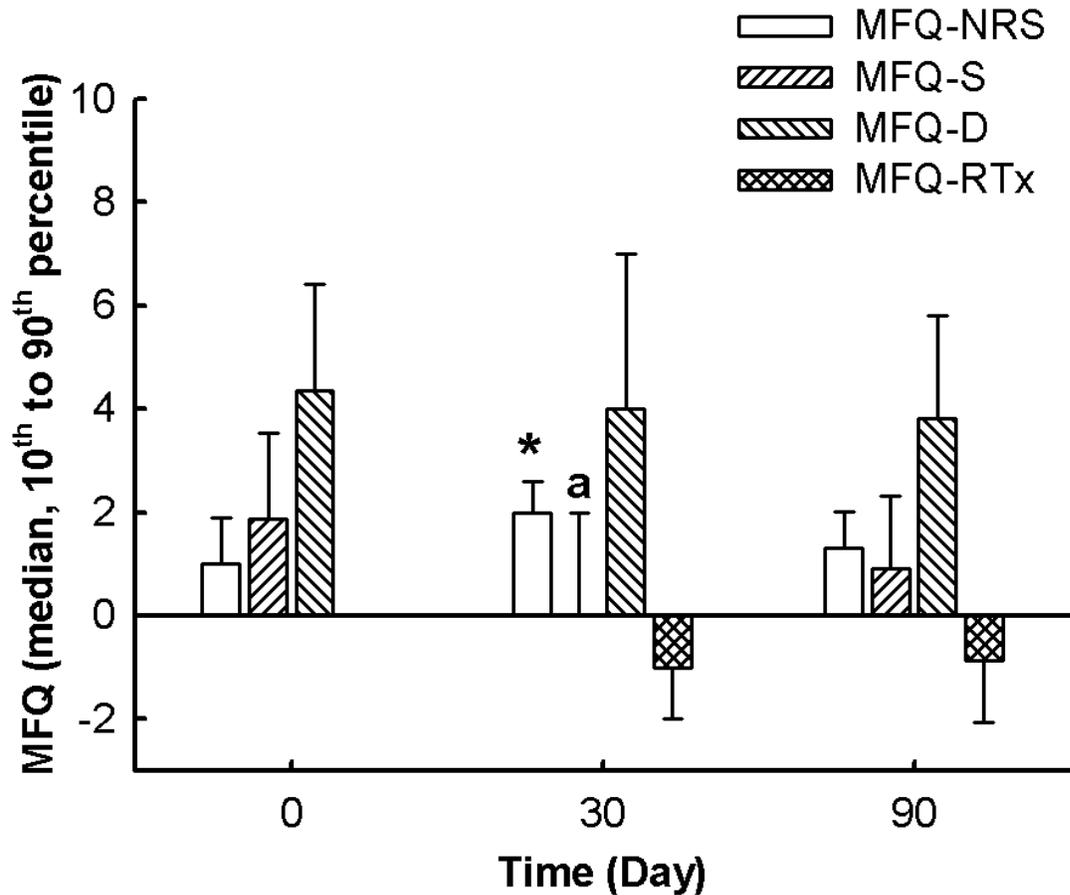
698

699 **Figure 2 Evolution of motor activity in osteoarthritic dogs fed sequentially with**
700 **control and green-lipped mussel-enriched diets.** Motor activity (MA) is represented as box
701 plot (median and 25th to 75th percentile) per two consecutive weeks (periods P_(i)) for n = 7
702 dogs. General linear mixed model for repeated measures: ^asignificant difference of Least
703 Squares Means when compared with P1. Significance was reached at P-value lower than 0.003
704 with Bonferroni's adjustment. As descriptive statistics, MA was presented by age category,

705 and represented as median (25th to 75th percentile) for dogs under 6-y (black circle and short
706 dashed lines) and dogs older than 6-y (black triangle and long dashed line)

707

708



708

709 **Figure 3 Evolution of a multifactorial questionnaire (MFQ) in osteoarthritic dogs fed**
 710 **subsequentially with control and green-lipped mussel-enriched diets.** MFQ-NRS: MFQ-
 711 Numerical Rating Scale, MFQ-S: MFQ-Static, MFQ-D: MFQ-Dynamic, MFQ-RTx: MFQ-
 712 Response to Treatment. Data are represented as median, 25th to 75th percentile at day(D)0,
 713 D30, and D90. General linear mixed model for repeated measures: (a) was significant
 714 difference of Least Squares Means when compared with D0. Multinomial logistic regression
 715 for repeated measures: *significant odds ratio (D0 vs D30). Significance was reached at P-
 716 value lower than 0.017 with Bonferroni's adjustment

DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

V. EFFETS DU TRAITEMENT (HYPOTHESE 1)

Le suivi de PVF représente la méthode de référence dans l'évaluation des effets des traitements de l'arthrose canine.^{1,2} Le suivi de la fonction du membre par PVF sert comme indicateur de la douleur chronique éprouvée chez les chiens. Comme le choix d'un seul paramètre est nécessaire afin de réduire les risques d'obtenir un résultat par chance,³ PVF a été choisi comme paramètre principal dans cette étude puisqu'il est le paramètre le plus utilisé dans le suivi de la fonction locomotrice chez le chien, comme nous l'avons démontré dans notre revue de littérature. Dans cette étude, aucune différence significative n'a été montrée entre J0 et J30 (période contrôle) ; cela valide la méthodologie et confirme la spécificité du suivi de PVF puisque le facteur temps seul ne produit pas de différence significative. Il faut cependant noter que le seuil de 0,05 a été presque atteint (p=0.06). L'absence de différence significative entre J30 et J90 (période traitement) obtenue lors de l'analyse individuelle des données ne permet pas de confirmer l'hypothèse d'efficacité de la diète. Lorsque l'analyse statistique prend en compte la prise de poids et la localisation (thoracique, *versus* pelvien) du membre le plus atteint, un effet traitement significatif est obtenu. Cet effet bénéfique du traitement est confirmé par les conclusions précédemment énoncées^{4,5} ou par des études réalisées depuis.⁶⁻⁸

Plusieurs aspects de notre étude nous ont limités pour montrer l'efficacité de la diète :

- Deux facteurs confondants : le poids et la localisation du membre le plus atteint (effets démontrés lors de l'analyse de covariance),
- De potentiels effets de la diète commerciale utilisée comme contrôle,

- Une sensibilité insuffisante des outils pour tester une thérapie aux effets possiblement moins marqués que les traitements conventionnels,
- Un nombre de chiens limité,
- Un potentiel effet plateau des traitements de l'arthrose.

A. LA PRISE DE POIDS

Un gain de poids significatif a été noté entre J30 et J90. Or, il est montré que la réduction du poids permet d'améliorer l'appui sur la plaque de force.⁹ A l'inverse, l'analyse de covariance réalisée ici permet de montrer que la prise de poids a eu un effet négatif sur les données obtenues.¹⁰ L'analyse de variance selon un modèle de régression logistique a permis de corriger les données de PVF par rapport à cette prise de poids. Un effet significativement bénéfique de la diète a alors été montré, tel que nous l'avons décrit dans nos deux articles. Le poids a été un facteur confondant dans cette étude et ce paramètre devra être étroitement surveillé dans les futurs projets. Même après que la prise de poids a été prise en compte dans les méthodes statistiques, une différence significative n'a pas été montrée durant la période contrôle ($p=0,06$).

B. LA LOCALISATION ANATOMIQUE DU MEMBRE ATTEINT

Le modèle statistique utilisé dans cette étude a montré que la localisation du membre atteint (thoracique ou pelvien) avait eu un effet confondant sur les variations de PVF durant l'étude. Une variation des réponses au traitement sur PVF selon l'articulation atteinte a déjà été montrée.¹¹ Bien que le nombre de chiens inclus dans ces deux études soit insuffisant pour conclure précisément sur ce point, il semble primordial de tenir compte de la localisation de la pathologie articulaire lorsque des études sont comparées. D'autre part, la standardisation de la

localisation de la pathologie arthritique réduirait la variabilité des résultats au sein d'une même étude.

C. LES EFFETS DE LA DIETE CONTROLE

Le PVF s'est amélioré de 1.6% entre J0 et J30. Même si ces résultats ne sont pas significatifs ($p=0,06$), une amélioration a été corroborée par les résultats obtenus par les questionnaires et aussi à travers les discussions avec les propriétaires. En effet, les commentaires obtenus à J30 décrivaient des chiens plus excités, « rajeunis » dans leur comportement. Une telle évolution n'était pas attendue : dans les études précédentes réalisées dans le même environnement, soit PVF restait stable^{6,12-14}, soit PVF diminuait légèrement durant la période contrôle.^{8,11,14,15} L'utilisation d'une diète commerciale de très haute qualité peut être incriminée du fait qu'elle peut contenir des composés hautement énergétiques ou ayant des propriétés bénéfiques sur la condition des chiens. De tels effets ont déjà été suspectés.¹³ Cette évolution a masqué l'effet de la diète thérapeutique. Mathématiquement, puisque une différence significative a été obtenue entre J0 et J90, une différence significative aurait dû être documentée entre J30 et J90, et ce malgré la prise de poids, si les chiens ne s'étaient pas améliorés de J0 à J30.

L'utilisation d'une diète placebo dans un groupe contrôle évalué en parallèle du groupe recevant la diète testée (de J30 à J90) aurait grandement amélioré le design de notre étude. Cependant, cela aurait exigé l'inclusion de plus de chiens dans notre étude.

D. UNE CAPACITE DE REPONSE POSSIBLEMENT INSUFFISANTE

Les techniques d'évaluation utilisées répondent à différentes exigences notamment spécificité et sensibilité.³ La sensibilité de la mesure de PVF par la plaque de force a été discutée, notamment à cause des variabilités intra- et inter-individuelles, mais cet outil a toujours été

considéré comme sensible, d'une part grâce aux résultats qu'il produit, et d'autre part parce qu'aucun autre outil ne l'a surpassé.² Cette étude ne teste pas directement la sensibilité de la plaque de force, mais plutôt sa sensibilité de détection d'un effet (ou « responsivité »). Le suivi de PVF est un paramètre très important dans cette étude car l'effet attendu sur l'utilisation du membre risque de ne pas être aussi marqué qu'avec l'effet d'un AINS conventionnel. La sélection de chiens souffrant d'arthrose spontanée peut aussi diminuer cette responsivité car, comme discuté précédemment, la composante mécanique peut masquer un effet de la diète sur la composante douloureuse de la boiterie ou créer un effet plateau. Un troisième point est le fait que les chiens sélectionnés souffraient pour la plupart d'arthrose à plusieurs membres : même si le membre le plus atteint était sélectionné à chaque fois, il est très difficile de prévoir comment l'appui va se redistribuer une fois la condition générale améliorée. Si le membre suivi reste le plus douloureux des quatre, il peut continuer d'être protégé lors de l'appui, même s'il est moins douloureux. Cette limitation est omniprésente car il est très difficile de sélectionner des chiens de propriétaire développant de l'arthrose à un seul membre.

Comme précédemment présenté dans la revue de littérature, il est important de considérer que PVF ne serait peut-être pas le paramètre le plus sensible pour évaluer l'amélioration de la fonction de toutes les articulations sans discrimination. En effet, certains auteurs ont montré que pour les hanches, l'impulsion verticale pourrait être plus sensible que PVF.^{12,16} Cette supériorité de l'impulsion verticale sur PVF n'a pas été vérifiée dans d'autres études.^{17,18}

E. LE NOMBRE DE CHIENS

Les données de 23 chiens ont été étudiées. La puissance obtenue est de 51 %. Après correction pour l'effet du poids avec le modèle de régression multivariée, la puissance obtenue est de 78 %. Même si ces chiffres sont élevés, il reste possible que l'augmentation du nombre de chiens inclus dans l'étude aurait permis de déceler un effet significatif de la diète thérapeutique malgré la prise de poids.

F. UN EFFET PLATEAU

Bien qu'on estime que les effets des nutraceutiques en général, et de la Moule verte en particulier, soient moins marqués que ceux des anti-inflammatoires classiques,⁸ il est intéressant de noter que les améliorations rapportées pour PVF dans les études cliniques précédemment citées sont similaires (autour de 2 à 4%).^{7,11-14,19} Une limite dans l'amélioration du PVF peut être suspectée à cause de la fibrose tissulaire, des ostéophytes, de l'instabilité et de la plasticité sensorielle qui accompagnent le processus arthrosique.³

En réponse à notre première hypothèse, cette étude montre que la diète testée a eu un effet bénéfique sur la condition arthrosique des chiens de propriétaires. Il est aussi à noter qu'aucun effet secondaire n'a été rapporté par les propriétaires ou décelé par les techniques d'investigations de routine pratiquées (examen clinique, bilan sanguin de routine et analyse urinaire). Ceci rejoint les études précédemment réalisées.^{8,20}

VI. TAUX SÉRIQUES D'EPA ET DHA (HYPOTHESE 2)

La diète thérapeutique a fait augmenter les concentrations sériques des acides gras polyinsaturés ω -3 EPA et DHA. Deux points importants sont à discuter :

1. La différence entre les concentrations obtenues et la littérature,
2. La différence entre les chiens sélectionnés et le groupe de contrôle.

Dans l'étude de Hansen et associés,²¹ les taux obtenus sont 100 fois supérieurs à ceux obtenus ici. Comme cette différence se retrouve pour le niveau basal des chiens (avant traitement), une différence due aux différentes techniques de mesure utilisées pour chaque étude est suspectée.

Les concentrations en EPA et DHA ont tendance à diminuer entre J0 et J30. Cela signifierait que de nombreux chiens adultes souffrant d'arthrose reçoivent au quotidien une ration commerciale riche en acides gras essentiels ω -3. L'effet clinique de cet apport quotidien n'est pas connu, mais cela pourrait constituer un biais pour les projets de recherche surtout que les effets de la complémentation peuvent durer plusieurs semaines après l'arrêt de la diète.²¹

En réponse à la deuxième hypothèse, la diète expérimentale a eu des effets nettement mesurables sur les concentrations sériques en EPA et DHA. La signification clinique de ces concentrations n'est cependant pas connue.

Malheureusement, la mesure d'ETA n'a pas été réalisée alors qu'un intérêt particulier s'est développé pour les propriétés anti-inflammatoires de cet acide gras ω -3 contenu dans la Moule verte.²²

VII. VALIDATION DES AUTRES OUTILS TESTES (HYPOTHESES 3 ET 4)

A. QUESTIONNAIRE SPECIFIQUE (CSOM/CODI - TABLE II ET FIGURE 1 ARTICLE 2)

Le CSOM/CODI a montré que les propriétaires percevaient une amélioration significative entre le début et la fin de l'étude, sans toutefois montrer un effet traitement significatif ($p=1,00$). Un effet significatif a été noté durant la période contrôle ($p=0,03$). Comme nous

l'avons évoqué au sujet du PVF, la diète contrôle semble avoir eu des effets sur la condition des chiens dans cette étude. D'autre part, le CSOM/CODI est une méthode subjective. On suspecte donc qu'il est sensible à l'effet placebo ou *intent to treat*.³ Ce biais introduit dans l'évaluation des propriétaires et l'attention plus particulière portée à leur animal une fois enrôlé dans l'étude peuvent être des facteurs expliquant l'amélioration perçue pendant la période contrôle. Il pourrait être également signifier un effet réel de la diète contrôle, cette dernière étant plus équilibrée d'un point de vue nutritionnel que l'alimentation habituelle du chien. Le fait que l'analyse statistique de PVF produise un $p=0,06$ durant la période contrôle montre une tendance à l'amélioration. Ainsi, l'*intent to treat* n'aurait peut-être pas besoin d'être important pour que les résultats de CSOM/CODI deviennent significatifs. Dans l'étude de Gingerich et Strobel,²³ le CODI n'a pas montré de biais significatif. A l'opposé, Lascelles et collaborateurs ont montré un effet d'*intent to treat* significatif lors de l'emploi de ce questionnaire chez le chat.²⁴

Le CSOM/CODI, tout comme le PVF, peut avoir un effet plateau ou plancher. Nous suspectons cet effet plateau/plancher d'être dépendant des activités choisies par le propriétaire. En effet, l'activité « faire le tour du bloc pour sa promenade » pourrait atteindre plus facilement un score maximal que « se relever après une longue promenade ». Cela pourrait expliquer les différences perçues entre les sensibilités ou les tailles d'effet (annexe I) des différents types d'activités.

La prise en compte de la spécificité de l'individu dans son environnement prend de plus en plus d'importance dans la mise au point de nouvelles méthodes d'évaluation subjective.²⁵ Le CSOM/CODI permet aux propriétaires d'évaluer leur animal de manière spécifique. Les propriétaires rapportaient 2 fois par semaine le niveau de difficulté que leur chien éprouvait

pour réaliser certaines activités. Ces activités avaient été entièrement choisies par chaque propriétaire parmi les activités quotidiennes que leur animal réalisait avec difficulté.²³ La mise en rang d'importance aux yeux de chaque propriétaire des différentes activités ne s'est pas révélée comme un facteur significatif dans l'évolution du score. Par contre, et ceci constitue à notre connaissance la première démonstration d'une telle influence dans l'arthrose canine, nos travaux rapportent que les activités liées aux catégories « diminution de mobilité après exercice (Ctg 2) », et « diminution de la capacité de changer de position au réveil ou après une période de repos (Ctg 4) » sont les plus sensibles à détecter un effet traitement. Les comportements spontanément utilisés par les propriétaires pour décrire les difficultés de leur animal sont similaires aux comportements décrits dans la littérature pour décrire les effets de l'arthrose sur les chiens.^{26,27} Ce point montre la validité apparente (ou *face validity*) de cet outil entrant dans la validité de contenu.

Le CSOM/CODI pourrait être moins sensible au biais qu'un questionnaire standardisé car il évalue des activités. En effet, l'*intent to treat* semble aussi avoir eu peu d'effet sur les paramètres dynamiques mesurés dans le MFQ si on se fonde sur la non-amélioration des chiens durant la période contrôle. La convergence obtenue avec PVF pendant le traitement et sur toute la durée de l'étude renforce la spécificité du CSOM/CODI. La validité de cet outil a aussi été montrée par la relation entre ses résultats et ceux de l'analyse cinétique lors de la régression logistique, et par la très bonne taille de l'effet mesuré (annexe I). Le CSOM/CODI n'a cependant pas montré la même responsivité que PVF puisque le CSOM/CODI n'a pas montré d'effet traitement entre J30 et J90. Les raisons de ce défaut de sensibilité ont été précédemment discutées. Une autre explication pour cette différence serait d'avoir commis une erreur de type I avec les résultats de PVF. Pour cette raison, une correction a été appliquée

pour compenser pour la multiplicité des méthodes utilisées.²⁸ En effet, avec l'augmentation du nombre de méthodes utilisées dans cette étude, les chances d'obtenir un effet traitement selon l'une de ces méthodes sont plus importantes. Avec la correction du seuil α , les données de la plaque de force montraient toujours un effet traitement significatif. Cela justifie l'utilisation de l'analyse cinétique comme méthode de référence dans notre étude.

Les chiens dont le CSOM/CODI montrait clairement un manque de suivi, caractérisé par de nombreuses omissions, ou une incompréhension manifeste de la part des propriétaires ont été exclus. Cela a réduit le nombre de mesures, donc la puissance, et a ainsi augmenté le risque de commettre des erreurs de type II. Malgré cet effet regrettable, cela a augmenté à nos yeux la validité des résultats. La cohérence des résultats obtenus sur les 21 chiens restants montre que les erreurs relevées dans l'utilisation du CSOM/CODI sont plus dues à des problèmes propres à une personne qu'à une limitation propre à cet outil. Des explications plus précises et une sélection approfondie des propriétaires inclus dans l'étude pourraient diminuer le nombre d'exclusion et augmenter la fiabilité des résultats dans les prochaines études. Il faudrait par exemple, exclure les chiens dont les propriétaires sont occupés avec un déménagement ou une naissance. De plus, nous nous sommes rendus compte que, malgré nos recommandations, de nombreux propriétaires remplissaient leur CSOM/CODI par rapport aux évaluations précédentes, en introduisant des critères relatifs tels que mieux, stable ou moins bien. Les conséquences exactes de cette dérive ne sont pas connues. L'utilisation de questionnaires en ligne pourrait pallier à ce problème.

Ce questionnaire pourrait aussi être amélioré en guidant le choix des activités que le propriétaire sélectionne. En effet, le regroupement des activités en catégories a montré que le suivi de certains types d'activités (par exemple « diminution de mobilité » ; « diminution de

mobilité après exercice » ; ou « diminution de la capacité de changer de position au réveil ou après une période de repos ») (Table 2 Article 2) pouvait apporter une meilleure sensibilité pour détecter des changements de la condition arthrosique. D'autre part, il semble que dans notre étude, certaines activités soient plus étroitement liées à certains aspects de la condition arthrosique, par exemple confort *versus* niveau d'activité. Une attention particulière doit être portée pour ne pas non plus imposer des activités aux propriétaires qui ne seraient pas adaptées à leur chien. Enfin, augmenter le nombre d'activités à évaluer par le propriétaire ne semble d'aucun intérêt. Nos analyses démontrent en fait qu'un maximum de 3 activités apporte la meilleure sensibilité de suivi de réponse au traitement (en comparaison à 5 activités tel qu'utilisé dans le cadre de cette étude).

Un autre point de discussion est l'excellente association entre la durée de l'activité journalière mesurée par actimétrie et les résultats obtenus avec le CSOM/CODI. Il nous semble que cette association peut être facilement expliquée par le fait que les propriétaires semblent très sensibles aux variations de niveau d'activité de leur animal et peuvent facilement ne pas noter des changements subtils dans la démarche qui peuvent ressortir lors de l'évaluation cinétique. La faible corrélation entre les scores subjectifs et les mesures objectives de boiterie a déjà été documentée.^{8,15}

B. QUESTIONNAIRE STANDARDISE (MFQ - ANNEXE II ; FIGURE 3 ARTICLE 2)

Les questionnaires ont été fréquemment utilisés dans les études cliniques pour quantifier la qualité de vie des animaux souffrant d'arthrose.^{11,20,29} Cependant, très peu ont été validés.³

Le plus important problème relevé dans la validation du MFQ est la divergence des résultats obtenus pour chaque partie composant l'échelle multifactorielle. Cela montre que ces différentes parties ne sont pas associées au même construit. Cela peut être expliqué par la différence annoncée entre les échelles composant le questionnaire : il est prévu, par exemple, une partie évaluant la fonction statique et une partie évaluant la fonction dynamique. Malgré cela, le construit évalué demeure la qualité de vie des chiens arthrosiques et la divergence des scores obtenus pour chaque partie montre l'absence d'homogénéité et invalide l'utilisation de cette échelle composite dans ce domaine. Cette première conclusion mise à part, le questionnaire MFQ utilisé dans cette étude a fourni des conclusions similaires au suivi de PVF de J0 à J90, sans montrer un effet traitement. Ainsi, une convergence adéquate a été obtenue avec PVF. Le MFQ utilisé considère seulement l'évaluation par les propriétaires, comme il l'a été préalablement recommandé par différents auteurs.^{23,30,31}

L'examen des scores obtenus pour les différents composants du questionnaire amène cependant à s'interroger sur la réelle validité de cet outil. Le score statique a été peu spécifique puisqu'il a été le seul à décrire une amélioration significative entre J0 et J30. Cette amélioration pourrait être due à un biais (*intent to treat*) ou à des effets non spécifiques de la diète contrôle comme l'augmentation de l'excitation ou de l'appétit. Ces deux points ont été rapportés par les propriétaires lors des réévaluations. De même le score dynamique s'est montré très peu sensible puisqu'aucune amélioration significative n'est apparue pour ce paramètre. Même s'il est possible de se demander si la force de ce questionnaire pourrait résider dans la complémentarité des différents composants, ceci semble très peu probable, puisqu'une convergence des résultats de chaque partie reste nécessaire.

L'utilité de ce type de questionnaire est avérée pour obtenir la perception générale du propriétaire et l'évaluation globale du traitement.^{23,30} Ce point n'est pas négligeable : l'emploi du MFQ a apporté beaucoup d'informations que les méthodes objectives, ainsi que le CSOM/CODI, n'auraient pas permis d'acquérir. Ces informations peuvent concerner par exemple l'appétit, l'excitation et l'humeur. Ceux-ci sont des points fréquemment décrits comme non négligeables dans le suivi de l'arthrose.²⁵

L'amélioration de ce questionnaire est toujours possible. Il a été montré que le fait d'affirmer le but du questionnaire pouvait introduire un biais dans les réponses.²⁵ Il paraît cependant très difficile de cacher aux propriétaires que ce questionnaire vise à évaluer la qualité de vie de leur chien. Par contre, un autre point recommandé par ces mêmes auteurs²⁵ serait facile à améliorer : l'introduction de descripteurs positifs parmi les descripteurs négatifs utilisés dans ce MFQ pourrait permettre de réduire les biais dûs à l'*intent to treat*.

C. CONDUCTANCE ELECTRODERMIQUE (EDA - FIGURE 1

ARTICLE 2)

La variation du coefficient de variation des données mesurées par l'EDA au cours du temps ($p < 0,001$) montre que cet outil n'a pas une des caractéristiques techniques requises. Cette observation est surprenante puisque des résultats intéressants dans un projet expérimental sur des chiens souffrant d'arthrose du genou induite par transection du ligament croisé crânial ont été documentés dans notre laboratoire.³² Même si ce critère suffit à justifier l'élimination des données obtenues par l'EDA, on peut dire que les résultats obtenus n'ont conduit à aucune conclusion, que ce soit individuellement pour évaluer les effets de la diète testée, ou lors de comparaisons avec les autres mesures. On peut penser que le stress induit par le transport pour

se rendre à la clinique et par le changement d'environnement pourrait avoir bien plus d'incidence sur l'EDA et masquer l'effet de la douleur due à la condition arthrosique. Cela expliquerait pourquoi cette variabilité ne se retrouve pas en conditions de laboratoire. Une autre possibilité est l'exposition des patients à l'environnement extérieur. Marcher dans une flaque d'eau ou dans l'herbe humide pourrait influencer la mesure réalisée. Nous avons tenté de minimiser cette dernière possibilité d'interférence en standardisant (procédure normalisée fonctionnelle) la mesure d'EDA dans le cadre du projet clinique.

D. ACTIMETRIE (ETUDE PILOTE - FIGURE 2 ARTICLE 2)

L'actimétrie, dans le nombre limité de cas où nous l'avons utilisé, a été un outil sensible puisqu'il décrit une amélioration entre la période contrôle et la période traitement, et donc un effet bénéfique du traitement. Cet effet bénéfique semble s'améliorer progressivement durant la période traitement, suggérant un effet soit progressif soit cumulatif. Comme il ne décrit aucun effet temps lors de la comparaison entre les 2 premières et les 2 dernières semaines de la période contrôle, cet outil semble spécifique à la condition arthrosique dans cette étude. En plus de cela, le suivi de l'activité a fourni des conclusions similaires à celles obtenues par l'analyse cinétique et par le CSOM/CODI entre le début et la fin de l'étude (validité selon-critère). De plus, les améliorations perçues sont conséquentes (de 4,7 à 16,1 % d'augmentation suivant le découpage des périodes d'activité entre les deux premières et les deux dernières semaines), ce qui est supérieur à l'effet mesuré par PVF. Une possible explication de cette différence serait un effet plateau moins important pour l'activité locomotrice que pour PVF. Ces améliorations ont aussi une signification clinique directe : par exemple, nous avons observé en moyenne 37 minutes de plus d'activité par jour chez les chiens lorsqu'ils étaient

sous traitement. Cette amélioration semble aisément identifiable par les propriétaires et peut expliquer l'amélioration parallèle des scores du CSOM/CODI. Ces améliorations peuvent aussi avoir été induites par les propriétaires qui, percevant une amélioration générale de leur animal, augmentaient leur activité. Aucune recommandation spécifique n'a été donnée lors des visites au sujet de l'activité pour ne pas biaiser les résultats obtenus. Ce scénario est donc possible.

Le faible nombre de chiens suivis ne permet pas de valider complètement cet outil. Des études à plus large échelle sont nécessaires avant de pouvoir démontrer les caractéristiques de cet outil. Cependant, cette étude pilote reste très prometteuse. Nos résultats montrent que l'évaluation de la condition arthrosique peut se faire par une méthode non directement reliée à PVF. Le fait que l'activité spontanée d'un animal dans son environnement quotidien peut être influencée par d'autres facteurs que ceux qui modifient l'appui de son membre au sol dans un cadre hospitalier justifie l'intérêt pour l'actimétrie.

En plus d'être un outil avec un potentiel important dans l'évaluation des traitements de l'arthrose, l'actimétrie serait un excellent complément dans le suivi des chiens arthrosiques de propriétaires. Les résultats obtenus dans d'autres études^{7,27,33,34} confirment nos conclusions.

E. RÉSUMÉ SUR LA VALIDATION DES OUTILS

En réponse aux hypothèses 3 et 4, le PVF, le CSOM/CODI et l'actimétrie sont validés par cette étude. D'une part, le PVF, le CSOM/CODI et l'actimétrie sont des méthodes convergentes pour l'évaluation de la diète. Des études à plus grande échelle seront nécessaires pour confirmer la validité de l'actimétrie mais les résultats obtenus ici montrent que cet outil produit des résultats convergeant avec la méthode de référence (PVF). D'autre part, le suivi de

la variabilité des mesures obtenues dans le temps a montré que la validité technique de PVF a été excellente dans cette étude. De la même manière, un bon niveau de validité technique a été obtenu pour le CSOM/CODI et l'actimétrie. La validité technique du MFQ et de l'EDA ont été fortement remises en question par nos résultats. D'après cette étude, le MFQ utilisé et l'EDA ne sont pas des outils utilisables pour évaluer les effets des traitements de la condition arthrosique chez les chiens de propriétaires.

L'analyse cinétique a montré une responsivité adéquate pour documenter l'effet de la diète testée. Les critères et paramètres utilisés pour l'évaluation cinétique (suivi du membre le plus atteint, vitesse de passage sur la plaque de force, nombre de passages, par exemple) ont été utilisés fréquemment dans la littérature^{11-13,19,35} et ne constituent pas une spécificité de cette étude. Malgré la supériorité de cet outil, l'absence d'étroite relation entre PVF d'une part, et l'intensité ou la durée de l'activité d'autre part, montre que ces outils, bien que mesurant le même construit, évaluent des aspects différents de ce construit. La complémentarité de ces trois outils est fortement suggérée par les résultats de cette étude.

VIII.LE CALCUL DE LA TAILLE DE L'EFFET (FIGURES 1 ET 2 DE L'ANNEXE I)

Le calcul de la taille de l'effet²³ permet de comparer le changement moyen observé grâce au traitement avec la variabilité de la population échantillonnée. Cette technique semble intéressante pour la comparaison des sensibilités obtenues avec les différents outils.

Dans cette étude, la mesure de la taille de l'effet nous a permis de montrer que les mesures continues (actimétrie et CSOM/CODI) avaient une sensibilité nettement supérieure aux mesures ponctuelles, probablement grâce à la plus faible variabilité obtenue avec les mesures

continues. La taille de l'effet nous a permis aussi de comparer les différentes activités et d'affiner le questionnaire CSOM/CODI avant de rédiger les procédures d'opérations standardisées pour les futures études. Ce calcul s'est avéré utile pour l'évaluation des méthodes ainsi que dans la quantification des effets obtenus avec un traitement.

Dans cette étude, la taille de l'effet a été calculée entre J0 et J90. Le but était de ne pas prendre en compte les possibles effets de la diète contrôle sur l'évaluation de chaque outil. Cette manière de calculer surestime la taille de l'effet de la diète testée. Cependant, si le calcul de la taille de l'effet avait été réalisé entre J30 et J90, les possibles effets de la diète contrôle auraient masqué les effets de la diète testée.

IX. AUTRES LIMITATIONS DE L'ETUDE

Des limitations ont déjà été évoquées tels les potentiels effets de la diète contrôle et le nombre limité de chiens se répercutant sur la puissance d'analyse. A cela s'ajoute le nombre important de chiens sortis de l'étude après avoir été inclus. Certains de ces chiens ont été retirés pour des raisons directement liées à leur condition, par exemple pour rupture complète d'un ligament croisé. D'autres chiens ont été retirés pour manque de compliance de la part de leurs propriétaires, par exemple après administration d'un AINS pour traiter un épisode bénin de diarrhée. Même si ces événements sont intimement liés aux conditions cliniques de l'étude, notre taux de retrait en cours d'étude reste anormalement élevé (23.3%).

CONCLUSIONS

Cette étude clinique a démontré que l'administration d'une diète contenant de la Moule verte (*Perna canaliculus*) à des chiens de propriétaires souffrant d'arthrose augmentait les concentrations plasmatiques d'EPA et de DHA. En parallèle, cette diète améliorait leur condition selon la méthode de référence actuelle (cinétique : PVF) lorsque le gain de poids corporel et la localisation du membre le plus atteint étaient pris en compte dans l'analyse. L'impact du poids corporel sur la condition arthrosique des chiens est à nouveau mis en évidence.

Cette étude confirme la validité technique et la responsivité de l'analyse cinétique (particulièrement PVF) pour l'évaluation clinique des traitements de l'arthrose chez le chien. Elle démontre aussi la validité technique et selon-critère du questionnaire spécifique pour l'évaluation clinique des traitements de l'arthrose chez le chien. Malgré une validation partielle du questionnaire standardisé, MFQ, de cette étude, son utilisation est remise en question à cause de la non-homogénéité des différentes échelles qui le composent. La mesure de la conductance électrodermique, EDA, n'est pas une méthode fiable pour le suivi des chiens arthrosiques en conditions cliniques.

L'actimétrie s'est révélée être un outil extrêmement prometteur. Sur le petit nombre de patients testés, la validité technique et la validité selon-critère de cet outil ont été démontrées. L'actimétrie a l'avantage sur la plaque de force de permettre le suivi continu des chiens dans leur environnement quotidien. Cet outil a ainsi permis de compléter l'analyse ponctuelle de la démarche par la plaque de force en fournissant des données nécessaires à l'interprétation des résultats obtenus par le suivi de PVF. Si ce point est confirmé dans des études à plus grande

échelle, la mesure de l'activité locomotrice deviendra un point incontournable dans l'évaluation des traitements de l'arthrose chez les chiens de propriétaires.

RÉFÉRENCES

1. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, Lincoln JD, Toombs JP, Whitehair JG, Lentz EL. Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1995 Mar 15;206(6):807-11.
2. DeCamp CE. Kinetic and kinematic gait analysis and the assessment of lameness in the dog. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):825-40.
3. Budsberg SC. Outcome assessment in clinical trials involving medical management of osteoarthritis in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1997 Jul;27(4):815-23.
4. Miller WH. Fatty acid supplements as anti-inflammatory agents In: Kirk RW, Bonagura JD, editors. *Current Veterinary Therapy.* 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, Harcourt Brace Jovanovich, Inc; 1989; p. 563-6.
5. Roush JK, Cross AR, Rengberg WC, Dodd CE, Fritsch DA, Allen TA, Jewell DE, Schoenherr WD, Richardson DC. Effects of feeding a high omega-3 fatty acid diet on serum fatty acid profiles and force plate analysis in dogs with osteoarthritis (abstract). *Vet Surg.* 2005;34(4):E21.
6. Roush JK, Cross AR, Renberg WC, Dodd CE, Sixby KA, Fritsch DA, Allen TA, Jewell DE, Richardson DC, Leventhal PS, Hahn KA. Evaluation of the effects of dietary supplementation with fish oil omega-3 fatty acids on weight bearing in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2010 Jan 1;236(1):67-73.

7. Moreau M, Troncy E, Del Castillo JR, Bedard C, Gauvin D, Lussier B. Effects of feeding a high omega-3 fatty acids diet in dogs with naturally occurring osteoarthritis. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2012 Jul 14
8. Hielm-Bjorkman A, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary therapies for canine osteoarthritis part I: Green-lipped mussel (*perna canaliculus*). *Evid Based Complement Alternat Med*. 2009 Sep;6(3):365-73.
9. Impellizeri JA, Tetrick MA, Muir P. Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc*. 2000 Apr 1;216(7):1089-91.
10. Moreau M, Troncy E, Bichot S, Lussier B. Influence of changes in body weight on peak vertical force in osteoarthritic dogs: A possible bias in study outcome. *Vet Surg*. 2010 Jan;39(1):43-7.
11. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Desnoyers M. Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis. *Vet Rec*. 2003 Mar 15;152(11):323-9.
12. Budsberg SC, Johnston SA, Schwarz PD, DeCamp CE, Claxton R. Efficacy of etodolac for the treatment of osteoarthritis of the hip joints in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1999 Jan 15;214(2):206-10.
13. Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Lecuyer M. Clinical evaluation of a powder of quality elk velvet antler for the treatment of osteoarthrosis in dogs. *Can Vet J*. 2004 Feb;45(2):133-9.
14. Moreau M, Lussier B, Doucet M, Vincent G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Efficacy of licofelone in dogs with clinical osteoarthritis. *Vet Rec*. 2007 Apr 28;160(17):584-8.

15. Hielm-Bjorkman A, Tulamo RM, Salonen H, Raekallio M. Evaluating complementary therapies for canine osteoarthritis--part II: A homeopathic combination preparation (zeel). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009 Dec;6(4):465-71.
16. Budsberg SC, Chambers JN, Lue SL, Foutz TL, Reece L. Prospective evaluation of ground reaction forces in dogs undergoing unilateral total hip replacement. *Am J Vet Res.* 1996 Dec;57(12):1781-5.
17. Fanchon L, Grandjean D. Accuracy of asymmetry indices of ground reaction forces for diagnosis of hind limb lameness in dogs. *Am J Vet Res.* 2007 Oct;68(10):1089-94.
18. Madore E, Huneault L, Moreau M, Dupuis J. Comparison of trot kinetics between dogs with stifle or hip arthrosis. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2007;20(2):102-7.
19. Moreau M, Lussier B, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Bedard C, Gauvin D, Troncy E. *BrachySTEMMA calycinum* D. don effectively reduces the locomotor disability in dogs with naturally occurring osteoarthritis: A randomized placebo-controlled trial. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012;2012:646191.
20. Pollard B, Guilford WG, Ankenbauer-Perkins KL, Hedderley D. Clinical efficacy and tolerance of an extract of green-lipped mussel (*perna canaliculus*) in dogs presumptively diagnosed with degenerative joint disease. *N Z Vet J.* 2006 Jun;54(3):114-8.
21. Hansen RA, Ogilvie GK, Davenport DJ, Gross KL, Walton JA, Richardson KL, Mallinckrodt CH, Hand MS, Fettman MJ. Duration of effects of dietary fish oil supplementation on serum eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid concentrations in dogs. *Am J Vet Res.* 1998 Jul;59(7):864-8.
22. Macrides TA, Treschow AP, Kalafatis N, Wright PFA. The anti-inflammatory effects of Omega-3 tetraenoic fatty acids isolated from a lipid extract from the New Zealand green-

lipped mussel. Seattle: Proceedings of the 88th American Oil Chemists Society Annual Meeting; May 1997.

23. Gingerich DA, Strobel JD. Use of client-specific outcome measures to assess treatment effects in geriatric, arthritic dogs: Controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther.* 2003 Winter;4(4):376-86.

24. Lascelles BD, Hansen BD, Thomson A, Pierce CC, Boland E, Smith ES. Evaluation of a digitally integrated accelerometer-based activity monitor for the measurement of activity in cats. *Vet Anaesth Analg.* 2008 Mar;35(2):173-83.

25. Wiseman-Orr ML, Scott EM, Reid J, Nolan AM. Validation of a structured questionnaire as an instrument to measure chronic pain in dogs on the basis of effects on health-related quality of life. *Am J Vet Res.* 2006 Nov;67(11):1826-36.

26. Hielm-Bjorkman AK, Kuusela E, Liman A, Markkola A, Saarto E, Huttunen P, Leppaluoto J, Tulamo RM, Raekallio M. Evaluation of methods for assessment of pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2003 Jun 1;222(11):1552-8.

27. Lascelles BD, Gaynor JS, Smith ES, Roe SC, Marcellin-Little DJ, Davidson G, Boland E, Carr J. Amantadine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med.* 2008 Jan-Feb;22(1):53-9.

28. Turk DC, Dworkin RH, McDermott MP, Bellamy N, Burke LB, Chandler JM, Cleeland CS, Cowan P, Dimitrova R, Farrar JT, Hertz S, Heyse JF, Iyengar S, Jadad AR, Jay GW, Jermano JA, Katz NP, Manning DC, Martin S, Max MB, McGrath P, McQuay HJ, Quessy S, Rappaport BA, Revicki DA, Rothman M, Stauffer JW, Svensson O, White RE, Witter J. Analyzing multiple endpoints in clinical trials of pain treatments: IMMPACT

- recommendations. initiative on methods, measurement, and pain assessment in clinical trials. *Pain*. 2008 Oct 31;139(3):485-93.
29. Aragon CL, Hofmeister EH, Budsberg SC. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2007 Feb 15;230(4):514-21.
30. Anil SS, Anil L, Deen J. Challenges of pain assessment in domestic animals. *J Am Vet Med Assoc*. 2002 Feb 1;220(3):313-9.
31. Hansen BD. Assessment of pain in dogs: Veterinary clinical studies. *ILAR J*. 2003;44(3):197-205.
32. Moreau M, Riolland P, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Boileau C, Caron J, Frank D, Lussier B, del Castillo JR, Beauchamp G, Gauvin D, Bertaim T, Thibaud D, Troncy E. Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis Res Ther*. 2011 Jun 21;13(3):R98.
33. Lascelles BD, Hansen BD, Roe S, DePuy V, Thomson A, Pierce CC, Smith ES, Rowinski E. Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *J Vet Intern Med*. 2007 May-Jun;21(3):410-6.
34. Brown DC, Boston RC, Farrar JT. Use of an activity monitor to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc*. 2010 Jul 1;237(1):66-70.
35. Budsberg SC, Verstraete MC, Soutas-Little RW. Force plate analysis of the walking gait in healthy dogs. *Am J Vet Res*. 1987 Jun;48(6):915-8.

ANNEXES

ANNEXE I : TAILLE DE L'EFFET

CALCUL DE LA TAILLE DE L'EFFET

La taille de l'effet (ES) a été calculée selon la méthode présentée par Gingerich et Strobel:¹

$$ES = \text{Moyenne}_{\text{groupe traité}} - \text{Moyenne}_{\text{groupe contrôle}} / \text{SD}_{\text{groupe contrôle}}$$

SD représentant la déviation standard.

Pour les méthodes d'évaluation ponctuelles (PVF, MFQ et EDA), la moyenne du groupe contrôle et $\text{SD}_{\text{groupe contrôle}}$ ont été représentées par la moyenne et la SD obtenue lors de la première évaluation (J0). La moyenne des données obtenues à J90 a été utilisée comme moyenne du groupe traité. Pour le CODI et l'actimétrie, les données obtenues durant les 4 premières semaines (semaines 1 à 4) et les 4 dernières semaines (semaines 9 à 12) ont été utilisées pour composer le groupe contrôle et le groupe traité, respectivement.

COMPARAISON DES TAILLES DE L'EFFET

Une taille d'effet satisfaisante ($ES > 0.6$)¹ a été obtenue pour MFQ, CODI et actimétrie (Figure 1 annexe I). Il est à noter que ES était supérieur pour les mesures continues : CODI ($ES = 0.66$) et actimétrie ($ES = 0.79$ to 2.12 , dépendamment de la période d'activité considérée). Pour les mesures ponctuelles, ES était plus faible : pour PVF, $ES = 0.24$.

Les activités choisies pour évaluer la progression des patients par le CODI ont montré des ES différents (Figure 2 annexe I). Par exemple, des activités à sens large telles que « marcher » ou « jouer » n'ont pas documenté d'effet traitement important. Des activités précises et/ou de durée limitée (« sauter sur les meubles », le plus souvent les canapés, ou « se lever ») semblent avoir apporté plus d'informations.

FIGURES DE L'ANNEXE I

Figure 1 Annexe I :

Tailles de l'effet (ES) obtenues pour les différents instruments utilisés. La taille de l'effet est satisfaisante quand $ES > 0.6$.¹ La bande rayée met en valeur les instruments pour lesquels $ES > 0.6$.

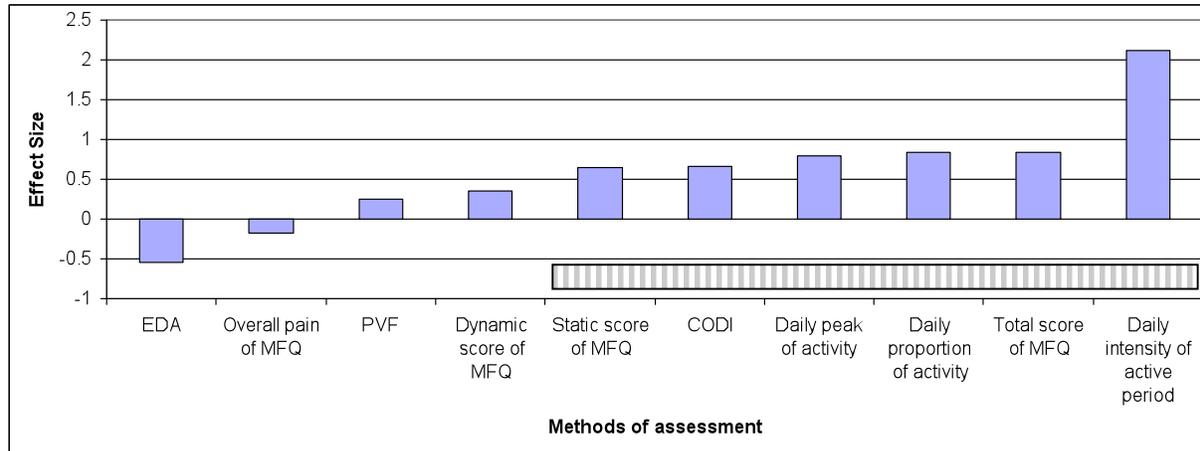
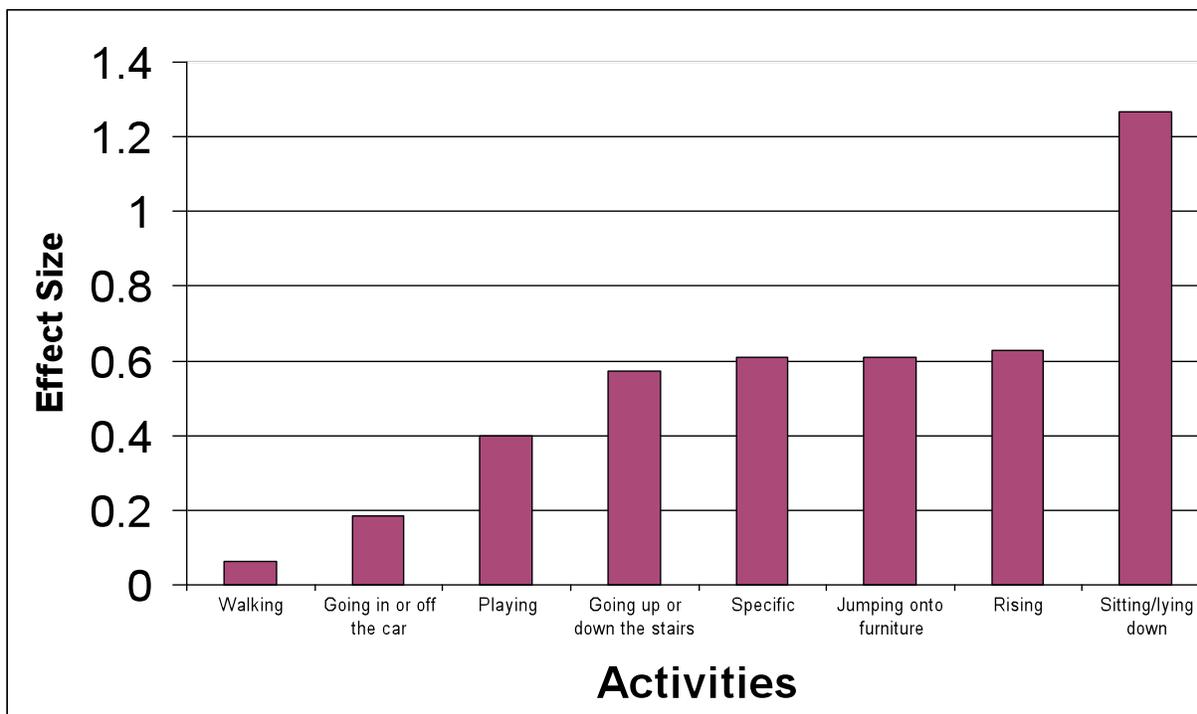


Figure 2 Annexe I :

Comparaison graphique des valeurs de ES en fonction des activités choisies pour le CODI.

Les activités spécifiques (*specific*) représentent des activités propres à un seul patient, par exemple se mettre debout sur ses pattes arrières ou sauter pour attraper une récompense.



ANNEXE 2 : SCORE MULTIFACTORIEL MFQ

SCORE STATIQUE

From the following list, check any depressed or diminished parameter observed on your dog during the last month

- Mood
- Amount of daily activity
- Willingness to play voluntarily
- Frequency of postures of a happy dog
- Appetite
- Frequency of exercise
- Sleep (disturbance)
- From the following list, check any change of attitude**

Social relationships (withdrawal) with humans

Social relationships (withdrawal) with other dogs

Vocalization (audible complaining)

# of checked boxes	0 to 1	2	3 to 4	5 to 7	8 to 10
Score	0	1	2	3	4

SCORE DYNAMIQUE

From the following list, check any parameter presently observed on your cat

Stiffness/difficulty to rise after rest

Stiffness/difficulty moving at the end of the day (after activities)

Lameness/difficulty when performing regular activity (walking, running...)

Lameness/difficulty when performing brutal activity (jumping, stairs...)

Pain when turning suddenly while walking

Difficulty to sit or lay down

Difficulty to rise from a lying position

Difficulty to squat, urinate or defecate

# of					
checked	0	1	2	3 to 4	5 to 8
boxes					
Score	0	1	2	3	4

Références

1. Gingerich DA, Strobel JD. Use of client-specific outcome measures to assess treatment effects in geriatric, arthritic dogs: Controlled clinical evaluation of a nutraceutical. *Vet Ther.* 2003 Winter;4(4):376-86.