

Université de Montréal

Caractérisation de la douleur neuropathique canine
Évaluation des scores de douleur, des profils somatosensoriels et des
concentrations en cytokines inflammatoires chez les patients traités avec
du gabapentin seul ou en combinaison avec le méloxicam

Par

Hélène LM Ruel

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté de médecine vétérinaire

en vue de l'obtention du grade de *Philosophiae doctor* (Ph. D.)

en sciences vétérinaires

Décembre, 2020

© Hélène LM Ruel, 2020

Université de Montréal

Département de sciences cliniques, Faculté de médecine vétérinaire

Cette thèse intitulée

Caractérisation de la douleur neuropathique canine

Évaluation des scores de douleur, des profils somatosensoriels et des concentrations en cytokines inflammatoires chez les patients traités avec du gabapentin seul ou en combinaison avec le méloxicam

Présentée par

Hélène LM Ruel

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

M. Mouhamadou Diaw

Président-rapporteur

M. Paulo Steagall

Directeur de recherche

Mme Aude Castel

Membre du jury

M. Ludovic Pelligand

Examineur externe

Résumé

Selon l'Association Internationale pour l'Étude de la Douleur, la douleur neuropathique est causée par « une lésion ou une maladie du système somatosensoriel ». Actuellement, il n'existe pas de test permettant de la diagnostiquer avec certitude. En médecine humaine, les suspicions cliniques reposent essentiellement sur les caractéristiques de la douleur perçue par le patient. En effet, le mélange de douleurs lancinantes et fulgurantes souvent de très forte intensité, et les termes utilisés pour les décrire, permettent de poser un diagnostic présomptif. En revanche, chez les personnes non-communicantes ainsi que chez nos patients en médecine vétérinaire, la douleur neuropathique devient extrêmement difficile à déceler. Elle pose aussi un problème éthique puisque ces douleurs sont souvent qualifiées d'insoutenables et sont notoirement réfractaires aux traitements analgésiques conventionnels. Faute de données spécifiques, le Conseil sur la douleur de l'Association internationale des vétérinaires pour les animaux de compagnie (WSAVA Global Pain Council) base ses recommandations thérapeutiques sur des succès anecdotiques relevés dans des rapports de cas ou des données tirées de la médecine humaine.

Notre étude s'articulait autour de trois objectifs principaux : 1) Évaluer la fiabilité et la faisabilité des tests proposés pour explorer les profils somatosensoriels chez des chiens de propriétaires, incluant une nouvelle méthode dynamique permettant d'évaluer le système endogène de modulation de la douleur ; 2) Identifier une population de chiens de propriétaires présentant de la douleur neurologique chronique à composante neuropathique d'apparition spontanée, en se basant sur les recommandations données en médecine humaine, et caractériser la douleur neuropathique dans ce groupe, en comparant les profils somatosensoriels et les concentrations en cytokines inflammatoires de ces chiens avec ceux d'un groupe contrôle ; 3) Suivre l'évolution des profils somatosensoriels, des concentrations en cytokines inflammatoires et des scores de douleur/qualité de vie des chiens neuropathiques enrôlés dans un essai clinique croisé prospectif, partiellement masqué et randomisé, afin d'évaluer les effets du placebo, du gabapentin seul ou administré en combinaison avec le méloxicam sur ces paramètres. Nos hypothèses étaient que la méthodologie proposée serait fiable et faisable pour évaluer les profils somatosensoriels chez les

chiens de propriétaires, et que la population de chiens souffrant de douleur neuropathique différerait du groupe contrôle par leurs concentrations en cytokines inflammatoires, leurs seuils nociceptifs et leur capacité à moduler la douleur après application d'un stimulus conditionnant. Enfin, il était attendu que les traitements actifs (gabapentin et gabapentin-méloxicam) altèreraient les profils somatosensoriels, les scores de douleur/qualité de vie et les concentrations en cytokines inflammatoires des patients neuropathiques.

Les tests quantitatifs sensoriels retenus pour évaluer la population de chiens neuropathiques dans la seconde partie du projet (stimulations mécanique et électrique) étaient fiables, faciles à réaliser et bien tolérés. L'évaluation du système inhibiteur descendant induit par les stimulations nociceptives (système endogène de modulation de la douleur; DNIC) a permis de mettre en évidence une dysfonction de la capacité de modulation de la douleur chez les chiens neuropathiques. L'administration de gabapentin combiné ou non avec le méloxicam a eu pour effet de « normaliser » les profils somatosensoriels dynamiques (augmentation du nombre de chiens présentant une inhibition après l'application d'un stimulus conditionnant). Les scores de douleur/qualité de vie ont évolué en faveur d'une amélioration avec l'administration de gabapentin seul ou en combinaison avec le méloxicam. Les concentrations en cytokines inflammatoires et les profils somatosensoriels statiques (les seuils nociceptifs), quant à eux, n'étaient pas différents entre les groupes et n'ont pas significativement varié avec les traitements étudiés.

À travers ces études, nous avons présenté de nouvelles techniques de QST fiables et faisable chez le chien. Nous avons également montré que l'évaluation du DNIC est possible dans l'espèce canine, et que les chiens présentant une douleur chronique à composante neuropathique ont un DNIC déficient. L'évaluation des profils somatosensoriels dynamiques et des scores de douleur/qualité de vie supportent l'utilisation du gabapentin seul ou en combinaison avec le méloxicam pour le traitement médical de la douleur neuropathique chez le chien, tel que recommandé par les spécialistes du WSAVA.

Mots-clés : Tests quantitatifs sensoriels ; seuil nociceptif électrique ; seuil nociceptif mécanique ; seuil nociceptif thermique ; contrôles inhibiteurs diffus induits par des stimulations nociceptives; chien ; douleur neuropathique ; cytokines inflammatoires; analgésie; évaluation de la douleur

Abstract

According to the International Association for the Study of Pain, neuropathic pain is caused by "a lesion or a disease of the somatosensory system". Currently, there is no definitive test available to diagnose neuropathic pain. In humans, the presumptive diagnosis is essentially based on the characteristics of the pain perceived by the patient. In non-communicative individuals, on the other hand, just like in our patients in veterinary medicine, the diagnosis of neuropathic pain is difficult and poses an ethical problem because this type of pain is often qualified as unbearable and known to be refractory to conventional therapies. In the absence of specific data, the Global Pain Council of World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) based its treatment recommendations of neuropathic pain on anecdotal veterinary reports, case reports or data from human medicine.

This PhD program had three main objectives: 1) To assess the reliability and feasibility of the tests proposed to explore the somatosensory profiles in client-owned dogs, including a method to assess the descending noxious inhibitory controls; 2) To identify a population of client-owned dogs with naturally-occurring neuropathic pain, based on the recommendations from human medicine ; and to characterize neuropathic pain in this group, by comparing the somatosensory profiles and the serum levels of inflammatory cytokines of these dogs with those of a control group; 3) To determine the effects of placebo, gabapentin alone or in combination with meloxicam on the somatosensory profiles, concentrations of inflammatory cytokines and pain scores of dogs with naturally-occurring neuropathic pain managed medically, in a prospective, partially masked and randomized crossover clinical trial.

Our hypotheses were that the proposed methodology would be feasible and reliable, allowing to assess somatosensory profiles of client-owned dogs, and that dogs with neuropathic pain would differ from the control group in their serum concentrations of inflammatory cytokines, their nociceptive thresholds and their ability to modulate pain after the application of a conditioning stimulus. Gabapentin and gabapentin-meloxicam would change somatosensory profiles, pain scores and serum concentrations of inflammatory cytokines of dogs with neuropathic pain.

The quantitative sensory tests (electrical and mechanical stimulations) were easy to perform, well tolerated and reliable. The evaluation of the diffuse noxious inhibitory control (endogenous pain modulation system; DNIC) revealed a dysfunction of the pain modulation capacity in neuropathic dogs. Administration of gabapentin with or without meloxicam had a "normalizing" effect on the dynamic somatosensory profiles (increase in the number of dogs showing inhibition after application of a conditioning stimulus). Pain / quality of life scores improved after gabapentin alone or in combination with meloxicam. On the other hand, serum concentrations of inflammatory cytokines and static somatosensory profiles (nociceptive thresholds) were not different between groups and did not vary significantly with treatments.

Through these studies, we have presented new reliable and feasible QST techniques in dogs. We have also shown that the evaluation of the DNIC is possible in the canine species, and that dogs with chronic pain with a neuropathic component have a deficient DNIC. The assessment of the dynamic somatosensory profiles and pain / quality of life scores support the use of gabapentin alone or in combination with meloxicam for the medical management of neuropathic pain in dogs, as recommended by WSAVA specialists.

Keywords: Analgesia ; canine ; diffuse noxious inhibitory controls ; electrical nociceptive threshold ; mechanical nociceptive threshold ; neuropathic pain ; pain assessment ; thermal nociceptive threshold ; inflammatory cytokines ; quantitative sensory testing

Table des matières

Résumé.....	3
Abstract	6
Table des matières	8
Liste des tableaux.....	13
Liste des figures.....	15
Liste des sigles et abréviations.....	16
Remerciements	18
Introduction.....	19
1 Revue de littérature	22
1.1 Introduction.....	22
1.2 Anatomie de la douleur.....	23
1.2.1 Le système somatosensoriel	23
1.2.1.1 Les acteurs du système nociceptif ascendant.....	23
a) Nocicepteurs	23
b) Corne dorsale de la moelle épinière	26
1.2.1.2 Les voies de la douleur	27
1.2.1.3 Perception de la douleur	28
1.2.1.4 Neurotransmetteurs	29
1.3 La modulation de la douleur	31
1.3.1 Modulation spinale	31
1.3.2 <i>Modulation supraspinale</i>	32
1.3.2.1 Contrôles inhibiteurs diffus induits par des stimulations nociceptives (DNIC)	32

1.3.2.2	Le système substance grise périaqueducale — bulbe rostroventromédian	33
1.3.2.3	Pons : Locus coeruleus, noyau raphe magnus, complexe parabrachial	35
1.3.5	— Facteurs cognitifs et émotionnels	36
1.4	— La neuroplasticité à l'origine de la sensibilisation périphérique et centrale	37
1.5	— Évaluation de la douleur mésadaptative chez les chiens	38
1.5.1	— Aperçu des méthodes d'évaluation de la douleur canine	38
1.5.2	— Test quantitatifs sensoriels (QST)	40
1.6	— La douleur neuropathique	43
1.6.1	— En médecine humaine	43
1.6.1.1	— Symptomatologie.....	43
1.6.1.2	— Modèle animal de la douleur neuropathique.	44
1.6.1.3	Pathophysiologie.....	45
a)	Les cytokines pro-inflammatoires ^{108,109}	46
b)	Les cytokines anti-inflammatoires ¹⁰⁸	48
1.6.2	— En médecine vétérinaire.....	49
1.6.2.1	— Description des signes cliniques, basée sur l'étude des modèles canins.....	49
a)	Modèle expérimental de douleur neuropathique canine.....	49
b)	Cas spontanés de douleur neuropathique canine	49
1.6.3	— Défi diagnostique en médecine humaine.....	52
	<i>Recommandations actuelles en médecine vétérinaire</i>	54
1.6.4	Traitements recommandés en médecine humaine	54
1.6.4.1	Traitements recommandés en première instance.....	55
a)	Gabapentinoïdes	55
b)	Antidépresseurs	56

c) Traitements topiques — Lidocaïne et Capsaïcine	57
1.6.5 Thérapies recommandées en médecine vétérinaire	57
a) Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (NSAIDs)	57
b) Les opioïdes — Tramadol	58
c) Les antagonistes des récepteurs NMDA — Amantadine	59
d) Les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la norépinéphrine — Amitriptyline.....	59
e) Les gabapentinoïdes	60
1.6.5.1 Adjuvant analgesics in acute pain management	63
a) Gabapentin	64
b) Ketamine.....	68
c) Tramadol.....	74
1.7 Objectifs et hypothèses.....	79
2 — Publications.....	81
2.1 — Feasibility and reliability of electrical, mechanical and thermal nociceptive testing and assessment of diffuse noxious inhibitory control in dogs.....	81
2.1.1 — Citation.....	81
2.1.2 — Contribution de la candidate au PhD	81
2.1.3 — Abstract.....	82
2.1.4 — Introduction	83
2.1.5 — Materials and Methods	83
2.1.6 — Results.....	87
2.1.7 — Discussion	89
2.1.8 — Conclusion.....	91

2.1.9 — Conflict of interest statement and Acknowledgements.....	92
2.1.10 — References	92
2.2 — Pain burden, sensory profile and inflammatory cytokines of dogs with naturally-occurring neuropathic pain treated with gabapentin alone or with meloxicam.....	95
2.2.1 — Citation.....	95
2.2.2 — Contribution de la candidate au PhD	95
2.2.3 — Abstract.....	96
2.2.4 — Introduction	96
2.2.5 — Methods.....	98
2.2.6 — Results.....	105
2.2.7 — Discussion	117
2.2.8 — Conclusion.....	122
2.2.9 — Conflict of interest statement and Acknowledgements.....	122
2.2.10 — Supporting information	123
2.2.11 — References	123
3 — Discussion	128
3.1 — Évaluation du système endogène de modulation de la douleur.....	128
3.1.1 — Méthode expérimentale d'évaluation du DNIC	128
3.1.2 — Réponse à la stimulation conditionnante chez les chiens en bonne santé.....	130
3.1.3 — Réponse à la stimulation conditionnante chez les chiens souffrant de douleur chronique à composante neuropathique	130
3.1.4 — Réflexions et perspectives sur l'utilisation du DNIC chez le chien	132
3.2 — Le fardeau de la douleur chez les chiens neuropathiques	133
3.2.1 — Évaluation du fardeau de la douleur	133

3.2.3 — Perspectives sur l'évaluation du fardeau de la douleur neuropathique.....	136
4 — Conclusion.....	137
5 — Références bibliographiques	139
Annexe.....	165
Pruritus & Neuropathic Pain in a Dog	166

Liste des tableaux

Tableau 1. – Correspondance entre les modalités nocives et les transducteurs moléculaires primaires impliqués dans le traitement des différents stimuli ¹⁵⁻¹⁷	24
Tableau 2. – Caractéristiques des fibres afférentes cutanées des mammifères (Adapté de ^{14,16})	26
Tableau 3. – Principaux neurotransmetteurs impliqués dans la médiation de la douleur ²⁹	29
Tableau 4. – Liste des maladies ou lésions pouvant être associées à de la douleur neuropathique canine.....	50
Tableau 5. – Questionnaires validés les plus fréquemment utilisés pour la détection de la douleur neuropathique chez les patients communicants	53
Tableau 6. – Études prospectives évaluant les effets du gabapentin ou du prégabalin chez des chiens atteints de douleur chronique avec une possible composante neuropathique.	60
Tableau 7. – Mean ± SD for electrical and mechanical nociceptive thresholds for thoracic and pelvic limbs using data from observers and period	88
Tableau 8. – Treatment groups of a prospective, randomized, partially masked, placebo-controlled clinical trial in dogs with naturally-occurring presumptive neuropathic pain.	99
Tableau 9. – Electrical and mechanical nociceptive thresholds (ENT and MNT, respectively) and changes in mechanical nociceptive thresholds after application of a conditioning stimulus (Δ MNT) in dogs with naturally-occurring presumptive neuropathic pain before and after each treatment period.....	108
Tableau 10. – Pain scores obtained in dogs with naturally-occurring neuropathic pain before and after each treatment period.	110
Tableau 11. – Cytokine concentrations (median and range) in pg/mL measured in healthy control dogs and in dogs with presumptive neuropathic pain (NeuP) using the Milliplex Canine Cytokine Panel.....	113
Tableau 12. – Cytokine concentrations (median and range) in pg/mL measured in dogs with presumptive neuropathic pain (NeuP) before and after treatments of placebo, gabapentin, gabapentin-meloxicam using the Milliplex Canine Cytokine Panel.....	114

Tableau 13. – Results of the statistical analysis evaluating the association between cytokines concentrations and a) owners’ perception of their dog’s quality of life b) CMPS-SF.....115

Tableau 14. – Results of the statistical analysis evaluating the association between cytokines concentrations and a) Client Specific Outcome Measures scores b) Canine Brief Pain Inventory (section pain) scores c) Canine Brief Pain Inventory (section interference, locomotion) scores.116

Liste des figures

Figure 1. – Catégories de douleurs chroniques selon l'Association Internationale pour l'étude sur la Douleur.....	22
Figure 2. – Coupe transverse de moelle épinière d'un chien en région cervicale. Représentation schématique des principaux faisceaux composant la matière blanche.	28
Figure 3. – Boucle spino-bulbo-spinale.....	34
Figure 4. – Représentation schématique d'une coupe sagittale de cerveau de chien situant les principaux acteurs de la modulation supra-spinale.....	36
Figure 5. – Timeline of the study.	100
Figure 6. – CONSORT Flow Diagram showing the flow of a) healthy dogs and b) dogs with neuropathic pain through the study	106
Figure 7. – Diffuse Noxious Inhibitory Control (DNIC) in the population of a) healthy dogs, b) dogs with neuropathic pain at initial presentation, c) after placebo, d) after gabapentin-meloxicam and e) after gabapentin alone.....	111

Liste des sigles et abréviations

Pour uniformiser l'usage des abréviations entre les articles et le reste de la thèse et faciliter la lecture, les acronymes anglais ont été conservés tout au long du manuscrit.

CPM (Conditioned Pain Modulation) — Modulation conditionnée de la douleur

DNIC (Diffuse Noxious Inhibitory Controls) — Contrôles inhibiteurs diffus induits par des stimulations nociceptives

G — Gabapentin

GM — Combinaison de gabapentin et méloxicam

IASP (International Association for the Study of Pain) — Association internationale pour l'étude sur la douleur

LC — Locus coeruleus

MRM — Noyau raphe magnus

NMDA — N-methyl D-aspartate

PAG — Substance grise périaqueducale

PB — Complexe parabrachial

QST (Quantitative Sensory Testing) — Test quantitatif sensoriel

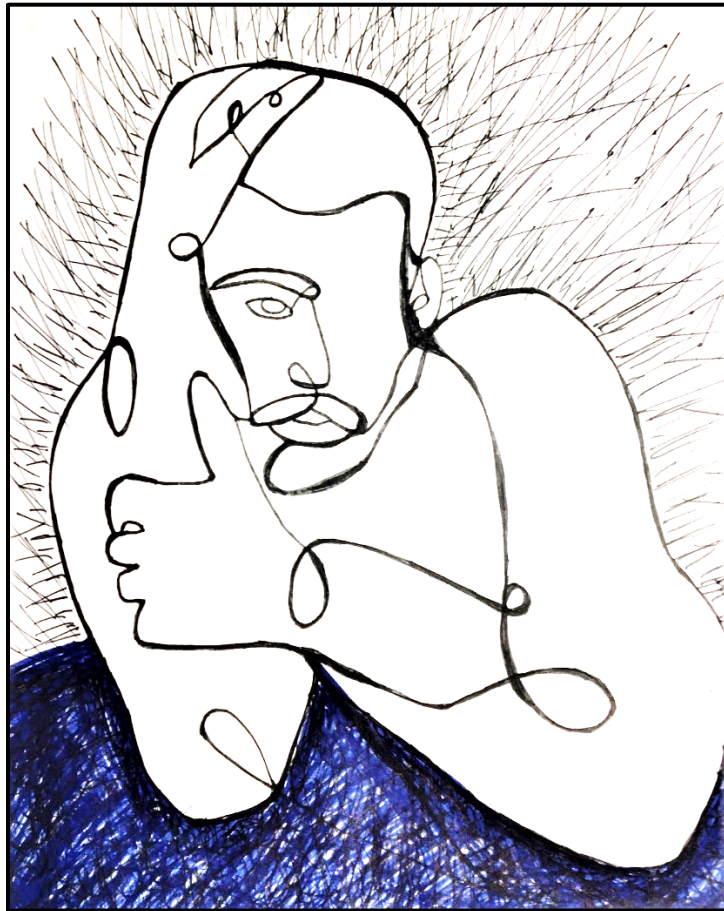
RVM — Bulbe rostroventromédian

SRD — Subnucleus reticularis dorsalis

WDR (Wide-dynamic Range) — Neurone à large gamme dynamique/neurone convergent

WSAVA Global Pain Council (World Small Animal Veterinary Association) — Conseil sur la douleur de l'Association internationale des vétérinaires pour les animaux de compagnie

À ceux qui souffrent et que l'on n'entend pas,



Anne-Claire Ruel, 2020
Encre sur papier

Remerciements

Mes remerciements vont à tous ceux qui ont été impliqués dans la réalisation des travaux rapportés dans ce manuscrit ou qui ont contribué aux révisions, ainsi qu'à ceux qui m'ont soutenue au cours des quatre dernières années :

Aux partenaires financiers et au laboratoire Steagall, pour avoir rendu possible la réalisation de ces projets. Nos recherches ont été financées par le programme MITACS, Boehringer Ingelheim, l'American Kennel Club et le laboratoire Steagall. La présentation des résultats dans des congrès internationaux a également été possible grâce à la contribution, sous forme de bourses, de l'Université de Montréal et de la Faculté de médecine vétérinaire de Saint-Hyacinthe.

Aux membres du jury, pour leur expertise et pour avoir accepté de réviser ce travail.

Au Docteur Steagall, que je salue pour son engagement dans l'amélioration du bien-être des animaux. Merci pour avoir encadré ce PhD et pour m'avoir donné l'opportunité de découvrir le monde de la recherche en anesthésie et en gestion de la douleur.

À Marina Evangelista et Ryota Watanabe pour leur aide dans la collecte des données. Merci à l'ensemble de la Feline Anesthesia and Analgesia Research Team pour le support moral tout au long du programme.

À ma famille et mes amis pour les mots d'encouragement.

Merci aussi aux propriétaires dévoués que j'ai rencontré à travers le projet et qui m'ont accordé leur confiance. De très sincères remerciements à Mme Boscolano pour sa gratitude.

Introduction

D'abord considérée comme une fatalité surnaturelle, la perception de douleur évolue considérablement à partir de la Renaissance grâce aux progrès de l'anatomie, des neurosciences et l'affaiblissement de l'emprise religieuse.¹ Les travaux de Leonardo Da Vinci d'abord, vont permettre de mieux comprendre la fonction de la moelle épinière et amèneront quelques années plus tard René Descartes à bousculer les conceptions anciennes, en proposant une théorie de la transmission de la douleur : de la périphérie jusqu'au cerveau. Finalement, l'arrivée de la microscopie optique au XIXe siècle, rendra possible de lever le voile sur les récepteurs cutanés et les terminaisons libres impliquées dans la douleur. Graduellement, les avancées neurophysiologiques aideront à la compréhension des mécanismes sur lesquels repose la douleur et permettront de la traiter plus efficacement.

Mais au-delà de ses fonctions biologiques de protection de l'organisme, la notion de douleur est complexe et elle doit être comprise dans son contexte socio-culturel. La récente définition (2020), fournie par l'Association Internationale pour l'Étude sur la Douleur (IASP), prend en compte non seulement cette composante multi-dimensionnelle, mais elle est de surcroît plus inclusive puisqu'elle prend aussi en compte les humains non-communicants et les animaux. La douleur est désormais définie comme « une expérience désagréable à la fois sensorielle et émotionnelle, associée ou ressemblant à celle associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle ».²

Plusieurs types de douleur sont reconnus. En s'appuyant sur la capacité de l'organisme à regagner son état homéostatique après que le stimulus initial a disparu, on distingue : la douleur transitoire (préventive), la douleur aiguë (préventive et/ou favorisant la guérison) et les douleurs chroniques (délétères).³ Le plus grand enjeu médical actuel, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, réside dans la compréhension et le traitement des douleurs chroniques dont l'impact négatif sur la qualité de vie et le bien-être est majeur. Parmi elles, une des formes les moins comprises par les médecins et chercheurs reste la douleur neuropathique.

La douleur neuropathique est un terme générique qui englobe toutes les anciennes appellations (névralgies, douleur de déafférentation, douleur neurogénique et douleur centrale). Cette appellation a été proposée par l'IASP pour éviter les spéculations sur les mécanismes pathophysiologiques.⁴ Elle a été initialement décrite comme « une douleur initiée ou causée par une lésion primaire ou dysfonction du système nerveux ». Cette définition a été révisée en 2008 et devient : « douleur résultant directement d'une lésion ou d'une maladie affectant le système nerveux somato-sensoriel ».^a Cette nuance écarte les douleurs causées par des changements plastiques liés à une stimulation nociceptive intense.⁵

La douleur neuropathique en médecine humaine n'est pas rare, elle touche jusqu'à 8 % de la population générale et un quart de la population souffrant de douleurs chroniques.⁶ Au Canada, selon une étude épidémiologique menée en 2016 sur l'ensemble des dix provinces, la douleur neuropathique périphérique affectait 7 à 11% de la population générale.⁷

La douleur chronique à composante neuropathique peut accompagner une grande variété de pathologies qui ne sont pas nécessairement primairement neurologiques comme l'ostéoarthrose ou la pancréatite. Elles peuvent aussi apparaître comme une complication plus ou moins tardive, après une procédure chirurgicale au cours de laquelle la section d'un nerf a été effectuée. Pour compliquer encore le tableau clinique, la douleur neuropathique s'exprime à travers une palette de nombreux mécanismes pathophysiologiques⁸ qui la rendent difficile à traiter et elle est très souvent réfractaire aux traitements analgésiques conventionnels.⁹ Elle est invalidante et de ce fait, lourde de conséquences économiques et socio-économiques.¹⁰

Les pathologies et chirurgies associées aux douleurs neuropathiques humaines sont également couramment rencontrées en médecine vétérinaire (ostéoarthrose, hernies discales, mastectomies, thoracotomies, etc.). Cependant, la douleur neuropathique est peu souvent diagnostiquée chez les animaux de compagnie¹¹ et reste anecdotique dans la littérature vétérinaire. Est-il alors possible que, dans notre pratique, nous passions à côté d'une large proportion de patients atteints de douleur neuropathique ?

^a iasp-pain.org

Dans l'espoir de pouvoir contribuer à offrir une meilleure prise en charge de ces cas oubliés, nous avons entrepris d'étudier la douleur neuropathique d'origine spontanée, traitée médicalement, chez le chien.

Le premier chapitre de cette thèse est consacré à une revue de littérature sur la douleur neuropathique mettant l'accent sur les difficultés inhérentes à la caractérisation de cette maladie dans l'espèce canine, ainsi que sur les défis du traitement. Le second chapitre présente, sous forme d'articles, l'ensemble des recherches effectuées dans le but de caractériser la douleur neuropathique d'apparition spontanée chez le chien. Les résultats principaux seront discutés plus avant dans une troisième partie, sous un angle différent de celui adopté dans les articles.

1 Revue de littérature

1.1 Introduction

En 2015, l'Association internationale pour l'étude sur la douleur (IASP) a pris l'initiative de repenser la classification des différents types de douleurs chroniques sur laquelle repose l'encodage officiel des maladies (validé par l'Organisation Mondiale de la Santé : OMS), servant notamment au recrutement des patients en recherche.¹² En effet, il avait alors été constaté que les codes disponibles ne correspondaient plus aux nouvelles données épidémiologiques et manquaient de systématisation, constituant de ce fait, un facteur de biais potentiel pour les études cliniques.¹² Dans la classification révisée de l'IASP, la douleur neuropathique constituait une entité séparée de douleur chronique (Fig. 1). Le groupe de chercheurs reconnaissait toutefois que d'autres sous-catégories de douleurs pouvaient avoir, elles aussi, une composante neuropathique.¹²



Figure 1. – Catégories de douleurs chroniques selon l'Association Internationale pour l'étude sur la Douleur (IASP), d'après¹²

La nouvelle classification provisoire de l'OMS (*11th International Classification of Diseases*; entrée en vigueur prévue en 2022) tient compte du travail fourni par l'IASP.^b Ainsi, les douleurs chroniques primaires et les syndromes douloureux, deviennent des catégories distinctes des syndromes douloureux chroniques secondaires, lesquels comprennent la douleur neuropathique. Le format d'encodage proposé par l'OMS autorise des syndromes douloureux à découler de plusieurs maladies, de sorte que, par exemple, la douleur cancéreuse secondaire peut provenir à

^b WHO. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD-11). Disponible à : <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>. Dernier accès le 21 octobre, 2020.

la fois de la douleur chronique liée au cancer et d'une composante neuropathique surajoutée. La complexité de cette classification traduit la difficulté clinique de distinguer clairement la douleur neuropathique des autres entités de douleurs chroniques et témoigne du manque de compréhension actuel des mécanismes qui lui donnent naissance et la font perdurer dans le temps.

Dans la revue de littérature qui suit, nous présenterons le système somatosensoriel et évoquerons les acteurs et les principes de la nociception afin de mieux saisir la portée d'une dysfonction donnant lieu à la mise en place de la douleur neuropathique. Nous donnerons ensuite un aperçu de cette entité en nous appuyant sur la littérature issue de la médecine humaine et ferons un état des lieux des données rapportées sur cette maladie chez le chien. Nous verrons finalement les moyens, actuellement à notre disposition, pour explorer la douleur canine et les traitements proposés pour soulager la douleur neuropathique.

1.2 Anatomie de la douleur

1.2.1 Le système somatosensoriel

Le système somatosensoriel comprend les tissus nerveux impliqués dans la conduction et le traitement de l'information nociceptive, ainsi que les systèmes associés au toucher et à la proprioception. Il comprend également les afférences viscérales et le système de thermorégulation.⁶

1.2.1.1 Les acteurs du système nociceptif ascendant

a) *Nocicepteurs*

Les nocicepteurs sont des récepteurs somesthésiques, au même titre que les récepteurs tactiles cutanés et les mécanorécepteurs proprioceptifs. Leur rôle est de percevoir les stimuli potentiellement nocifs et de les convertir en un signal chimio-électrique (transduction). Ils sont nombreux dans la peau et se trouvent principalement dans le derme, mais de très fines terminaisons arborisent aussi jusque dans la partie superficielle de l'épiderme.¹³ Les nocicepteurs sont également présents dans de nombreux tissus (muqueuses, membranes, fascias profonds,

tissus connectifs des viscères, ligaments, capsules articulaires, périoste, muscles, tendons et vaisseaux artériels).¹³

Histologiquement, les nocicepteurs correspondent à des terminaisons nerveuses libres, c'est-à-dire à un arbre dendritique non recouvert de myéline qui s'organise différemment selon la localisation (en rameaux, en spirales, etc.).¹³ La superficie de tissu couverte par l'ensemble des ramifications d'un nocicepteur correspond à son champ de réception ; celui-ci est très restreint (quelques millimètres de diamètre au maximum).¹³ Puisque les territoires des nocicepteurs se chevauchent, une perte de sensibilité d'une seule entité est cliniquement imperceptible; en revanche, une augmentation de la sensibilité d'un nocicepteur est décelable, c'est ce qui donne naissance aux phénomènes d'hyperalgésie et d'allodynie.

Ces neurones périphériques sensoriels sont spécialisés dans la détection de stimuli qui pourraient porter atteinte à l'intégrité de l'organisme (température, pression et conditions chimiques).¹⁴ Au repos, le nocicepteur ne présente pas d'activité électrique spontanée.¹⁴ L'activation des nocicepteurs passe par la fixation aux canaux ioniques, à diverses substances excitatrices comme des ions (notamment les protons), des nucléotides, des lipides, des peptides et des dérivés d'acides aminés ou des protéines, notamment (Tableau 1). Ainsi, lorsque qu'un stimulus externe excède son seuil de déclenchement, un train de potentiels d'action est généré par le nocicepteur (transduction). La fréquence des dépolarisations dépend de l'intensité de la stimulation appliquée (encodage fréquentiel).

Tableau 1. – Correspondance entre les modalités nocives et les transducteurs moléculaires primaires impliqués dans le traitement des différents stimuli¹⁵⁻¹⁷

Stimulus	Protéines impliquées dans la transduction	Type de récepteurs
Irritant chimique	VR1, ASICs, P2X3	Récepteurs vanilloïdes ;
Chaleur nocive	VR1, VRL1	Récepteurs vanilloïdes ; récepteurs vanilloïde-like
Froid nocif	TRPM8	Récepteurs à potentiel transitoire (canaux cationiques)
Mécanique nocif	mammalian Degenerin (ASIC2), P2X, P2Y	Canaux ioniques sensibles à l'acide ; Canaux ioniques ATP ; Récepteurs ATP couplés à la protéine G

Les potentiels d'action parcourent les fibres dont la vitesse de conduction varie en fonction de leurs diamètres et degré de myélinisation. Ainsi se distinguent anatomiquement et électrophysiologiquement les fibres A δ (moyen calibre, faiblement myélinisées) et les fibres C (faible calibre, non myélinisées). La plupart des nocicepteurs possèdent des fibres A δ et C (62% chez les mammifères).¹⁶ En revanche, une faible proportion de fibres A δ et C n'appartiennent pas à des nocicepteurs (6% et 5%, respectivement).¹⁶

Les fibres A β (fort calibre, myélinisées) ne conduisent pas les informations nociceptives à proprement parler, mais sont impliquées dans la modulation de la douleur et dans les phénomènes pathologiques de sensibilisation centrale avec l'hyperalgésie et l'allodynie.

Les fibres A δ , plus rapides que les fibres C, transmettent le message qui donnera lieu à la douleur ressentie en premier lieu. Celle-ci est perçue comme étant localisée et aiguë. Les fibres C quant à elles, sont associées à la douleur secondaire, persistante et diffuse.¹⁷ Ces deux caractéristiques sont liées à la moindre fatigabilité des fibres C (dépoliarisation de longue durée) et à la large couverture des terminaisons libres associées aux fibres C.¹⁴ Notons également que la douleur profonde et viscérale est essentiellement transmise par les fibres de type C.¹⁸

Les nocicepteurs ont historiquement été d'abord ségrégués sur base des modalités qu'ils transmettaient (mécanique, thermique ou chimique) (Table 1). On qualifiait de « polymodal » un nocicepteur qui était capable de traiter plusieurs modalités, alors qu'un nocicepteur silencieux était celui qui ne répondait pas à la stimulation mécanique dans des conditions normales. Il s'avère que ces derniers répondent en fait à des pressions très élevées (> 6 bars) ou n'y répondent, en effet, pas du tout.¹⁹

Avec les méthodes de biologie moléculaire actuelles, une classification reposant sur les récepteurs exprimés par les nocicepteurs a été établie. On distingue notamment parmi les fibres C, les neurones peptidergiques exprimant le récepteur TrKA, pour le facteur de croissance nerveuse (NGF; nerve growth factor), des neurones non-peptidergiques qui possèdent des récepteurs P2X₃ (un canal ionique ATP), basés sur leur capacité, ou non, à fixer le marqueur moléculaire isolectine B4 (IB4; glycoprotéine). Les neurones qui fixent l'IB4 (ou IB4+) ne libèrent

pas les neuropeptides substance P et calcitonin-gene related peptide (CGRP), contrairement aux nocicepteurs IB4-.¹⁷

Tableau 2. – Caractéristiques des fibres afférentes cutanées des mammifères
(Adapté de ^{14,16})

Type de fibres	Diamètre (µM)	Vélocité (m/s)	Sensibilité thermique	Fonction	Modalité
Aα	13–20	80–120	Non	Proprioception	Information provenant des mouvements musculaires, capsules articulaires, etc.
Aβ	6-12	35 - 90	Non	Mécanorécepteur	Toucher et pression cutanée
Aδ	1– 5	5–40	Non	Toucher	Toucher Polymodalité (M, T, C)
C	0,02–1,5	0,5–2	Oui	Nociception	C-M, C-MT, C-MF, C-T Silencieux (T) (après sensibilisation)
			C-MT : 39– 51°C C-T : > 41°C	Non	Toucher

Abréviations : (Aδ-MT) : fibre Aδ-mécano-thermique; (C-M) : fibre C-mécanonocicepteur; (C-MT) : fibre C-mécano-thermique; (C-MF) : fibre C-mécanothermo(froid)nocicepteur; (C-T) : fibre C-thermonocicepteur; (T) : thermique.

Les afférences nerveuses primaires correspondent à des neurones pseudo-unipolaires qui possèdent deux branches, l'une provenant de la périphérie, l'autre se dirigeant vers la corne dorsale de la moelle épinière. L'ensemble des corps cellulaires des neurones périphériques afférents constitue le ganglion de la racine dorsale situé à chaque espace intervertébral.¹⁹ La nociception orofaciale passe par le nerf trijumeau et son noyau sensitif, localisé à la base du crâne, sur l'os temporal.¹⁹

b) Corne dorsale de la moelle épinière

La corne dorsale de la moelle épinière est classiquement divisée en six couches selon la classification établie par Rexed sur un modèle félin.²⁰ Les nocicepteurs aboutissent principalement dans les parties les plus superficielles de la moelle épinière, les laminae I (la couche marginale) et II (substantia gelatinosa), alors que les fibres amenant les informations sur le toucher pénètrent plus profondément et s'arrêtent dans les couches III-VI.²¹

Dans la corne dorsale, les nocicepteurs font synapse sur les neurones de deuxième ordre (ou neurones de projection).²² Il est à noter que les couches Rexed I et II contiennent énormément d'interneurones qui interviendront dans la modulation de la douleur.

Les fibres C projettent dans la substantia gelatinosa où elles sont étroitement liées à un réseau de neurones d'association qui relie les segments médullaires adjacents (rostralement et caudalement), constituant le tractus dorso-latéral (ou tractus de Lissauer) qui se situe juste au-dessus la couche I de Rexed.²² Dans la moelle épinière, plusieurs nocicepteurs convergent sur des neurones de deuxième ordre, lesquels projettent vers la formation réticulée dans le tronc cérébral puis le thalamus. Cette arrivée de plusieurs neurones de premier ordre couvrant des territoires distincts constitue la base de la théorie de convergence-projection qui expliquerait les douleurs référées.²³ D'autres hypothèses sont avancées pour tenter d'expliquer le phénomène de douleurs référées et diffèrent par le site de convergence des fibres (axonal, cérébral, etc.).²³

1.2.1.2 Les voies de la douleur

Les voies spinothalamiques allant de la moelle épinière au thalamus sont les avenues principales de la transmission des messages nociceptifs chez l'homme. En pratiquant des lésions fasciculaires sélectives dans la moelle épinière de chats, Melzack a montré l'implication du tractus spinothalamique et de la matière grise périaqueducale (située dans le mésencéphale), dans la transmission des afférences nociceptives.²⁴ Chez les animaux domestiques, le tractus spinothalamique est bilatéral et multisynaptique et s'entremêle avec le faisceau propriospinal (le fasciculus proprius) qui pourrait donc être lui aussi impliqué dans la transmission de la douleur profonde et superficielle.²⁵ Une petite proportion des fibres nociceptives se retrouvent également dans le noyau cervical latéral et conserve une organisation somatotopique (membres thoraciques, portion ventromédiale ; membres pelviens portion dorsolatérale).²⁶

Bien qu'il y ait des preuves d'une implication des voies spinothalamiques dans la nociception des animaux domestiques, son faible développement par rapport à celles de l'homme, a amené à penser que les voies spinoréticulaires pourraient être également impliquées.²⁵ Ce tractus se situe dans la partie ventrale du funicule latéral de la moelle épinière.²⁵ Il est impliqué dans la sensation de douleur profonde et viscérale.²⁷

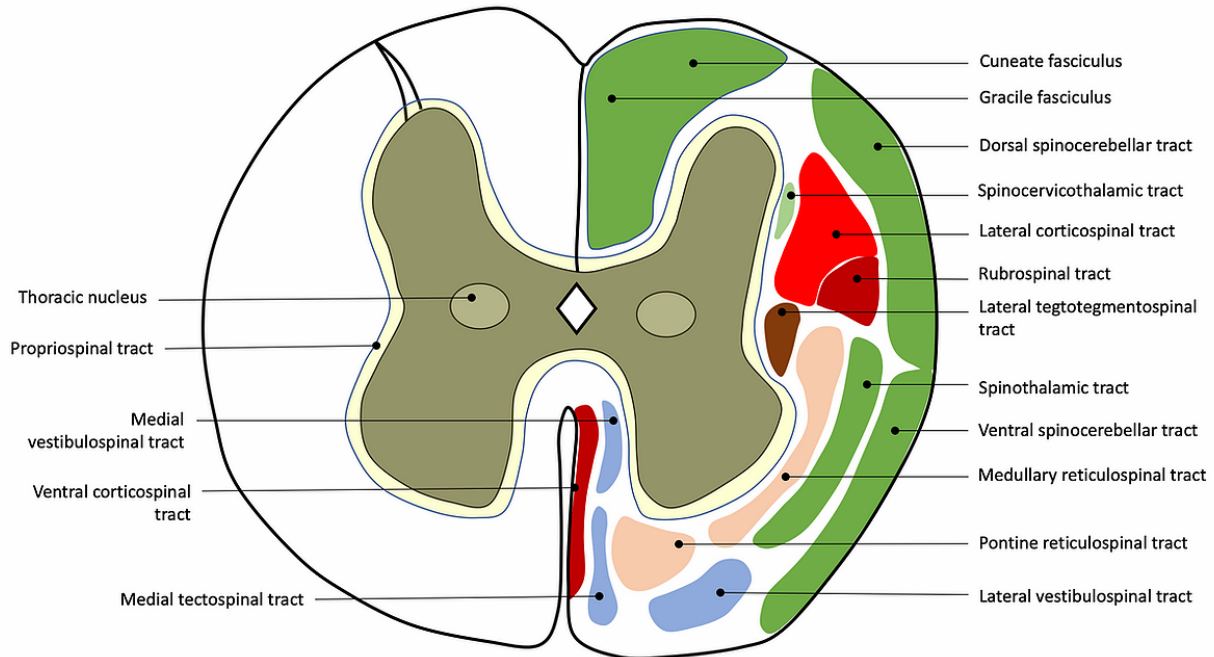


Figure 2. – Coupe transverse de la moelle épinière d'un chien en région cervicale.

Représentation schématisée des principaux faisceaux composant la matière blanche.

(Aige Gil V., 2012)^c

1.2.1.3 Perception de la douleur

Les neurones convergents arrivent au thalamus où ils font synapse avec le neurone de 3^e ordre qui transmettra l'information nociceptive au cortex somatosensoriel dans les aires primaires (SI) et secondaires (SII). La nociception devient douleur après intégration corticale et entraîne une réponse motrice d'évitement face au stimulus douloureux. Une distinction est faite entre le réflexe de retrait qui survient en réponse immédiate au stimulus nociceptif, aussi appelé « réflexe nociceptif de flexion », et le comportement de douleur qui suggère l'intervention d'une composante affective et émotionnelle à cette expérience déplaisante.²⁸ Les aires sensorielles des chiens et des humains présentent des similarités, notamment sur le plan de l'organisation somatotopique.

^c <https://www.neuroanatomyofthedog.com/internal-structure> (Vincente Aige Gil. functional neuroanatomy of the dog, Ed. Universidad Autónoma de Barcelona, 2012)

Par conséquent, bien que globalement similaire, l'anatomie du système amenant à la perception de la douleur chez le chien est plus complexe que chez l'Homme, notamment parce que dans l'espèce canine, les trajets ascendants dans la moelle épinière sont bilatéraux, impliquent de multiples voies et sont polysynaptiques.²⁵ Ces trajets sont encore incomplètement élucidés en médecine vétérinaire.

La douleur neuropathique peut se mettre en place après la survenue d'une lésion de ce système somatosensoriel dans sa partie centrale (moelle épinière, cerveau) ou périphérique (nerfs sensitifs afférents, racines et ganglions spinaux).

1.2.1.4 Neurotransmetteurs

Nous avons vu que les nocicepteurs peuvent être activés par l'intermédiaire de la fixation du substrat correspondant aux récepteurs qu'ils expriment. Dans des conditions de dommages tissulaires, la « soupe inflammatoire » relâchée localement va agir en tant que médiatrice de la douleur. Par ailleurs, dans le trajet de la nociception dans le système nerveux central, les neurones communiquent entre eux par le biais de neurotransmetteurs. Selon la nature de ces derniers (excitateur ou inhibiteur), le message va être modulé et altérer la perception de la douleur (Tableau 3).

Tableau 3. – Principaux neurotransmetteurs impliqués dans la médiation de la douleur²⁹

Famille	Principaux membres (récepteurs)	Lieu de production principal	Effets principaux
Tachynines	Substance P (NK ₁) Neurokinine A (NK ₂) Neurokinine B (NK ₃)	Terminaison périphérique des fibres nerveuses sensorielles	Inflammation neurogénique
Peptide relié au gène calcitonine	CGRP (CALCRL)	Racine dorsale des nerfs afférents primaires	Conduction de la stimulation nociceptive / transmission de la douleur
Bradykinine	BK (B1 ou B2)	Production locale dans les tissus périphériques	Sensibilisation des récepteurs ; Stimulation de la production de cytokine pro-inflammatoire

Cytokines	Interleukines 1 β , Tumor necrosis factor	Multiples	Inflammation
Prostaglandines	PGE ₂ (PI)	Localement dans les tissus périphériques	Inflammation
Leukotriène	LTB ₄	Produits par les leucocytes localement	Recrutement des neutrophiles ; promotion de la production de cytokines; hyperalgésie
Protons	H ⁺ (ASICs, VR1)	Racine dorsale des nerfs afférents primaires	
Adénosine triphosphate	ATP (PX2)	Relâché localement par les tissus lésés	Hyperalgésie, douleur
Facteur de croissance nerveuse	NGF (TrKA)	Relâché localement par fibroblastes	Méiateur de la douleur persistante; Hyperalgésie thermique et mécanique; Sensibilisation périphérique
Glutamate	Glutamate (AMPA-R, NMDA-R)	Localement aux sites périphériques d'inflammation (fibres C) ; aux synapses dans le système nerveux central	Neurotransmetteur excitateur ; Modulation de la douleur ; Sensibilisation centrale
Acide gamma- aminobutyrique	GABA (GABA _A -R, GABA _B -R)	Neurones GABAergiques (interneurones, moelle épinière, cortex et cervelet)	Neurotransmetteur inhibiteur
Peptides opioïdes	Enképhaline Dynorphine (MOR, DOR, KOR)	Interneurones	Inhibition de la transmission excitatrice ; Atténuation de la douleur
Cannabinoïdes	Tetrahydrocannabinol (CB ₁ , CB ₂)	Système nerveux central (cerveau) et périphérique	Réduction de l'excitation des neurones; prévention de la dégranulation et de la relâche de médiateurs pro-inflammatoires; Réduction de la sensation de douleur
Norépinéphrine	NE (Récepteur α 1 couplé à la protéine - Gq α -, Récepteur α 2 couplé à la protéine Gi α -, Récepteur β	Terminaisons nerveuses	Inhibiteur ou excitateur selon la localisation des récepteurs (pré ou post-synaptiques)

	couplé à la protéine - G α)		
Sérotonine	5-HT (5-HT _{2A} , 5-HT ₃)	Système nerveux central et périphérique, plaquettes	Neurotransmetteur exciteur
Glycine	Gly (GlyR)	Système nerveux central	Neurotransmetteur inhibiteur
Histamine	Histamine (H1)	Système nerveux central et périphérique	Neurotransmetteur exciteur
Oxide nitrique	NO (diffuse dans les neurones)	Système nerveux central et périphérique	Neurotransmetteur exciteur et inhibiteur

Abréviations : (NK) Récepteur neurokinine ; (CGRP) Peptide relié au gène calcitonine ; (CALCRL) Récepteur récepteur-like de la calcitonine ; (PI) récepteur des prostacyclines ; (PX) récepteur purinique inotropique ; (TrK) récepteur kinase à la tropomyosine A ; (AMPA-R) alpha amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptors ; (NMDA) N-methyl-D-aspartate receptors ; (MOR) récepteur opioïde μ ; (DOR) récepteur opioïde δ ; (KOR) récepteur opioïde κ ; (CB) récepteur cannabinoïde couplé à la protéine G ; (NE) norépinéphrine ; (5-HT) sérotonine ; (GlyR) récepteur à la glycine ; (H1) récepteur histaminique.

1.3 La modulation de la douleur

La modulation de la douleur correspond aux phénomènes qui entrent en jeu dans la modification de la perception de la douleur. La modulation peut être excitatrice (ou facilitatrice), lorsque l'altération augmente l'intensité de la douleur ; ou inhibitrice, lorsqu'au contraire, elle atténue la sensation de douleur.

1.3.1 Modulation spinale

En 1965, Melzack et Wall ont proposé la « théorie du portillon » pour expliquer une inhibition locale de la douleur au sein d'un métamère spinal.³⁰ Ce modèle repose sur la présence d'interneurones reliant les différents types de fibres afférentes sensibles. Lorsqu'une information circule simultanément sur des fibres de petit et de gros calibre d'un même segment spinal, l'interneurone commun à ces deux afférences n'autorise que l'information majoritaire à finalement atteindre les projections supra-spinales.³¹ Il est donc responsable d'ouvrir (faciliter)

ou de fermer (inhiber) le portillon des voies de la douleur vers les centres supérieurs. Cette théorie permet d'expliquer notamment le principe de fonctionnement des thérapies par stimulation médullaire chez l'homme ou encore, en partie, l'acupuncture.

En outre, dans les lamina IV à VI de la corne spinale dorsale se situent des neurones qui participent en continu à l'acquisition de données sur les stimuli environnants.³² Il s'agit des neurones convergents à large gamme dynamique (wide dynamic range neurons; WDR). Alors que le centre de leur champ de réception est impliqué dans cette collecte de données non nociceptive, la périphérie est, quant à elle, intensément activée par des stimuli nociceptifs. Les WDR qui ne sont pas directement activés par une stimulation nociceptive vont être inhibés par l'entremise du contrôle descendant bulbo-spinal. Ce mécanisme de modulation spino-bulbo-spinal permet de limiter le « bruit de fond » et d'augmenter le contraste entre les activités neuronales. Ce mécanisme est la base des contrôles inhibiteurs diffus induits par des stimulations nociceptive, modulés par des centres supraspinaux.

1.3.2 Modulation supraspinale

1.3.2.1 Contrôles inhibiteurs diffus induits par des stimulations nociceptives (DNIC)

Ce phénomène, décrit initialement chez le rat, la souris, le chat et le singe, correspond à la capacité de certains neurones d'être fortement inhibés par une afférence nociceptive appliquée dans une région située en dehors de leur champ de réception.³³ Cette inhibition est généralisée et s'applique à l'ensemble du corps (diffuse). La particularité de ce contrôle est qu'il peut être volontairement déclenché par l'application d'un stimulus conditionnant. Ceci représente la base de l'évaluation du DNIC en recherche ou en clinique.

Les structures impliquées dans le DNIC sont situées dans la partie caudale de la formation réticulée bulbaire (région caudale du tronc cérébral) et participent de la modulation supraspinale de la douleur. Un noyau est particulièrement important dans ce phénomène de modulation : le subnucleus reticularis dorsalis (SRD). Les neurones qui le composent sont sensibles à l'intensité des stimulations.³⁴ Le SRD exerce un puissant contrôle inhibiteur sur l'ensemble des neurones convergents à large gamme dynamique (WDR).³⁵ Le DNIC peut être déclenché par tout stimulus

conditionnant capable d'exciter les fibres A δ ou C.³⁶ Ces observations ont donné naissance au paradigme de : « une douleur en inhibe une autre » ou « modulation conditionnée de la douleur (CPM) », qui est maintenant testé de routine dans les évaluations du système somatosensoriel chez les patients humains en douleur.^d Puisque l'inhibition par le SRD est généralisée, le site d'application du stimulus conditionnant n'a pas d'importance. Ce phénomène constitue le fondement des techniques anciennes qui étaient utilisées pour induire un état hypoalgésique lors des procédures chirurgicales, chez l'homme et chez l'animal.³⁶ En médecine vétérinaire, l'utilisation des pinces mouchettes et du tord-nez en sont des applications. Le Bars *et al.* ont constaté dans leurs études que l'intensité du stimulus conditionnant thermique appliqué aux rats était associée à la magnitude observée du DNIC.³⁷ Les études subséquentes n'ont pas toujours confirmé ce point.^{35,38,39} En médecine humaine, l'étude du DNIC permet d'établir des phénotypes somatosensoriels (ou profils) qui pourraient devenir des biomarqueurs pour prédire l'évolution de la douleur après une intervention ou encore sa réponse à un traitement.^{35,40} Son utilisation laisse donc entrevoir une possibilité future de médecine personnalisée.

1.3.2.2 Le système substance grise périaqueducale — bulbe rostroventromédian

Le système descendant de contrôle de la douleur est constitué de fibres en provenance de la substance grise périaqueducale (PAG) et du bulbe rostroventromédian (RVM). Cette région a été décrite chez le rat, comme s'étendant du noyau facial caudal à l'olive supérieure caudale.⁴¹ La PAG et le RVM contiennent des neurones qui interviennent directement dans la modulation de la douleur (Fig. 3). Le RVM contient trois types de neurones initialement différenciés sur base de leur activité électrique face à une stimulation à la chaleur : les cellules « ON », « OFF » et « NEUTRES ».⁴³ Les neurones « ON » et « OFF » sont impliqués dans les arcs réflexes nocifensifs et modulent la douleur en exerçant un contrôle sur les cellules de la corne dorsale de la moelle épinière. Les cellules « ON » jouent un rôle pro-nociceptif, alors que les cellules « OFF » possèdent la fonction opposée.⁴³ Les cellules « OFF » sont activées par les agonistes opioïdes μ et cessent leur activité lorsque le réflexe nocifensif est sur le point de se produire.³⁴ Les cellules « ON » sont, quant à elles, activées par les stimulations nociceptives et provoquent le retrait nocifensif

^d Par convention, le terme CPM est réservé à la médecine humaine et le DNIC à la médecine vétérinaire.

(mouvement réflexe d'évitement, par exemple le retrait de la patte ou le dégagement de la queue chez le rat); Elles contribuent à faciliter la nociception et sont inhibées par les opiacés.³⁴

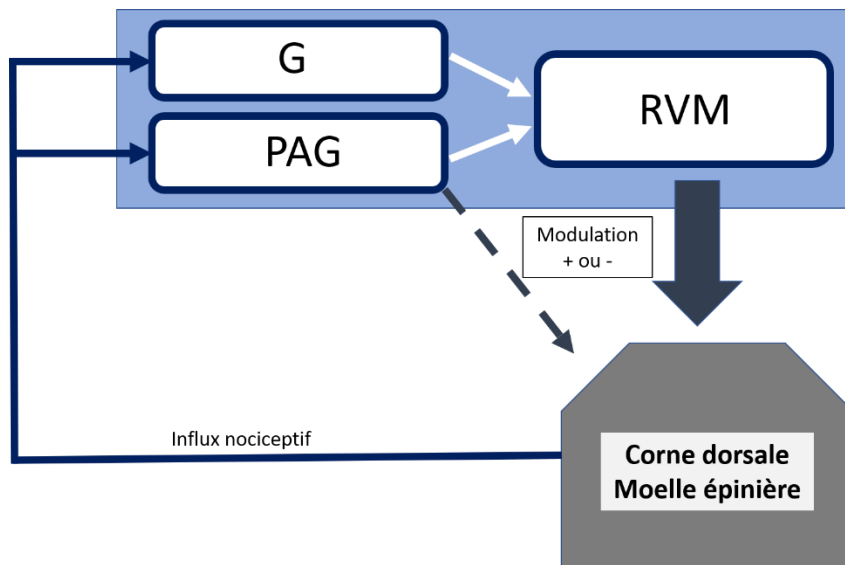


Figure 3. — Boucle spino-bulbo-spinale.

L'influx nociceptif ascendant passe par la substance grise périaqueducale ventrale (PAG) et le noyau gigantocellulaire (G) avant d'arriver au bulbe rostroventromédian (RVM).³⁴ Le RVM possède des projections directes (via le funicule dorsolatéral) sur les neurones des couches I, II, V de la corne dorsale de la moelle épinière.^{41,42} Grâce à cette connexion, il exerce un rôle modulateur majeur (excitateur ou inhibiteur) comparé à la PAG qui partage cette fonction, mais dont l'influence est moindre compte tenu de ses projections spinales peu nombreuses.³⁴

Les endorphines agissent à tous les niveaux du système de modulation de la douleur et certainement au niveau de la PAG — RVM.⁴¹ Il a été montré qu'une élévation transitoire des neuromédiateurs excitateurs glutamate et aspartate et une réduction d'un neuromédiateur inhibiteur, la glycine, dans la RVM, était associée à l'instauration d'un état d'hyperalgésie.⁴⁴ L'hypothalamus envoie des projections sur le système PAG — RVM et exerce ainsi un contrôle sur son activité de modulation.³⁴

1.3.2.3 Pons : Locus coeruleus, noyau raphe magnus, complexe parabrachial

Le locus coeruleus (LC) est impliqué dans le système d'éveil, dans l'attention et la réponse au stress.⁴⁵ Il joue également un rôle important dans le traitement de l'information nociceptive et la modulation de la douleur. En effet, il reçoit directement les afférences de la moelle épinière et relaye l'information vers le thalamus ou directement vers le cortex par l'intermédiaire des voies coeruleo-thalamiques ou coeruleo-corticales, respectivement.⁴⁶ Il reçoit également des afférences en provenance de la PAG.⁴⁷ Une stimulation nociceptive a pour effet d'activer les neurones du LC.⁴⁸

Le LC est la source de la grande majorité des afférences noradrénergiques dans la moelle épinière.⁴⁷ La noradrénaline agit sur les récepteurs α_2 -adrénergiques des interneurons GABAergique et glycinergiques, produisant ainsi une inhibition de l'influx douloureux ascendant.⁴⁷ Le RVM possède des neurones sérotoninergiques qui, en fonction du type de récepteurs impliqués dans la corne dorsale, peuvent entraîner une exacerbation ou une diminution de la sensibilité à la douleur.⁴⁷

Le noyau raphé magnus, localisé dans la formation réticulée, reçoit des afférences thalamocorticales et de la PAG. Il s'agit d'un autre grand acteur de la modulation de la douleur. Chez les animaux, il est décrit qu'il projette des axones vers la substance gélatineuse de moelle épinière (lamina II) via le tractus raphé-spinal et aboutit sur les interneurons inhibiteurs enképhalinergiques.²⁵

Le complexe parabrachial est également situé dans la région du pons. Il reçoit des influx nociceptifs ascendants et participe à la modulation descendante. Il est particulièrement impliqué dans la composante affective/émotionnelle de la douleur par son lien avec l'amygdala.⁴⁹ Dans les modèles animaux de douleur neuropathique, ce complexe présente une activité amplifiée.⁴⁹

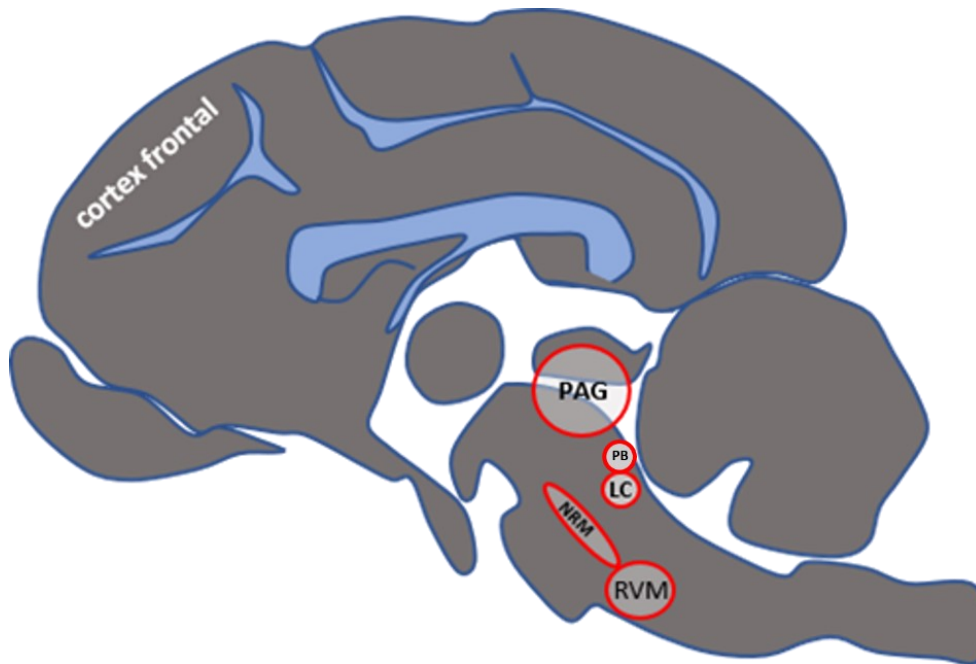


Figure 4. – Représentation schématique d’une coupe sagittale de cerveau de chien situant les principaux acteurs de la modulation supra-spineale.

Abréviations : (PAG) substance grise périaqueducale dans le mésencéphale ; (LC) locus coeruleus dans la région pontine; (PB) complexe parabrachial ; (RVM) partie rostro-ventrale du bulbe rachidien ; (NRM) noyau raphe magnus.

1.3.5 — Facteurs cognitifs et émotionnels

Curieusement, l’organisme ne donne pas toujours priorité à l’information nociceptive.⁴³ En effet, des facteurs cognitifs et émotionnels peuvent interférer avec ce signal. Il a été démontré notamment, qu’un stress intense⁵⁰ ou l’action de manger, élève le seuil nociceptif et a donc préséance sur le message douloureux, même chez des rats nourris *ad libitum*.⁵¹ À l’inverse, la douleur peut être facilitée lorsqu’un individu est très attentif ou s’il se trouve dans un état psychologique négatif.⁵² Cette modulation est possible grâce à l’intervention des contrôles supra-spinaux.

Expérimentalement, il a été possible d’impliquer différentes parties du thalamocortex dans le phénomène de douleur, notamment le cortex préfrontal et le système libique.⁵³ Ces régions influencent presque tous les centres bulbo-spinaux, situés dans la région caudale du tronc

cérébral. Les contrôles exercés par le thalamocortex ont la particularité de pouvoir être activés par des stimuli non douloureux.³⁴

1.4 — La neuroplasticité à l'origine de la sensibilisation périphérique et centrale

Cramer définit la neuroplasticité comme « une capacité du système nerveux à répondre aux stimuli intrinsèques et extrinsèques en réorganisant sa structure, ses connexions et sa fonction ».⁵⁴

Le phénomène de sensibilisation est une démonstration de la neuroplasticité qui se met en place à la suite d'une stimulation répétée, ou prolongée dans le temps, et qui aboutit à une augmentation progressive de la réponse. Plusieurs types de sensibilisation sont alors observés⁵⁵ :

- *Autosensibilisation* : Elle correspond à une adaptation des transducteurs impliqués qui deviennent plus faciles à activer.

- *Hétérosensibilisation* : Il s'agit d'une hyperexcitabilité de la membrane terminale du nocicepteur survenant après avoir été exposée à des substances libérées lors de dommages cellulaires (médiateurs inflammatoires, neurotransmetteurs excitateurs, facteurs neurotrophiques, etc.).

- *Sensibilisation centrale ou paradigme de « wind up »* : Ce phénomène (potentiellement réversible) est la conséquence d'une stimulation répétée, à haute fréquence, d'une fibre C qui donne lieu à une amplification graduelle du signal sur le neurone de second ordre, dans la corne dorsale de la moelle épinière.²¹ Il naît de la relâche simultanée de substance P et neurokinine A, en plus du glutamate. L'internalisation du complexe substance P-Neurokinine-1 (son récepteur), active la protéine kinase C.⁵⁵ Cette dernière va déloger le magnésium qui interdisait jusqu'alors, la fixation du glutamate et de la glycine sur le récepteur N-méthyl D-aspartate (NMDA). L'activation du récepteur entraîne une augmentation du calcium dans le neurone de 2nd ordre ce qui amplifie le signal nociceptif et donne naissance au phénomène de « Wind-up » ou sommation temporelle. En d'autres termes, la sommation temporelle correspond à l'effet additif de la transmission à haute fréquence, et sur une période prolongée de temps, de potentiels d'action provenant d'une même afférence, sur un neurone post-synaptique. Les neurones de 2nd ordre

concernés sont non seulement les neurones de projection spécifiques (dédiés à la nociception) mais aussi les WDR, qui deviennent alors sensibles aux stimuli mécaniques de faible intensité. Cliniquement, ce phénomène donne lieu à l'hyperalgésie secondaire et à l'allodynie. Cette dernière correspond à la perception d'une douleur associée à un stimulus normalement non douloureux (comme le toucher, la vibration ou la proprioception). L'hyperalgésie, quant à elle, est définie comme une réponse exagérée à un stimulus nociceptif. On parle d'hyperalgésie primaire lorsque la sensation de douleur est exacerbée au site de la lésion et d'hyperalgésie secondaire lorsque ce phénomène est rencontré en périphérie de la lésion, sur du tissu sain, secondairement à la mise en place de la sensibilisation centrale.

La neuroplasticité est d'abord un phénomène adaptatif, mais elle peut devenir délétère lorsqu'elle entraîne des modifications irréversibles du mécanisme de traitement de la douleur, comme cela survient dans le cas de la douleur neuropathique.

1.5 — Évaluation de la douleur mésadaptative chez les chiens

La douleur est une expérience multidimensionnelle qui comprend des composantes sensorielles et affectives. Elle n'est donc pas directement mesurable et repose, chez les animaux, sur l'observation (par un proxy ou par le vétérinaire) des comportements induits par la douleur. Plusieurs méthodes indirectes ont été proposées pour refléter le statut de douleur du patient.

1.5.1 — Aperçu des méthodes d'évaluation de la douleur canine

Un parallèle peut être dressé entre les enfants pré-verbaux ou les individus non-communicants et les animaux, dans la difficulté à reconnaître et à adresser efficacement la douleur.

À l'instar des comportements adoptés par les enfants lorsqu'ils sont en douleur (expressions faciales particulières, altération de la façon de se mouvoir, émission de signes d'alarme (pleurs), évitement de stimuli nocifs ou comportements d'agression),⁵⁶ les chiens modifient leurs comportements quand ils souffrent. Par exemple, ils peuvent protéger la partie du corps douloureuse et vocaliser. Des échelles de douleur basées sur les expressions faciales ont été développées pour de nombreuses espèces animales,⁵⁷⁻⁶¹ mais il n'en existe pas chez le chien. La

raison est probablement en lien avec la diversité morphologique des races canines. En pédiatrie, les indicateurs physiologiques comme la fréquence cardiaque, la pression artérielle et le patron respiratoire sont utilisés dans l'évaluation de la douleur.⁵⁶ En revanche, ces paramètres ne sont pas suffisamment fiables pour évaluer la douleur sur un animal conscient.⁶² Par ailleurs, la perte de poids n'est pas un indicateur spécifique puisqu'elle peut avoir diverses origines, notamment l'anxiété, un état qui peut cependant coexister avec la douleur.⁶²

Pour pallier ce manque de moyens, des instruments de mesure clinique et des questionnaires ont été développés pour l'évaluation spécifique de la douleur canine aiguë ou chronique. Ces échelles tiennent compte de l'aspect multidimensionnel de la douleur en intégrant notamment le comportement, les interactions et la locomotion dans l'évaluation, et permettent d'estimer la sévérité de la douleur. Ces outils ont été validés dans un contexte particulier et de ce fait sont limités à une utilisation dans des conditions similaires (incluant l'espèce-cible, la pathologie à l'origine de la douleur, la langue du répondant, le type de répondant, etc.). Dans le cas de la douleur chronique, la validation a été basée sur des patients atteints d'ostéoarthrose (Helsinki Chronic Pain Index,⁶³ Canine Brief Pain Inventory,⁶⁴ Liverpool Osteoarthritis in dogs^{65,66}), et dans certains cas, lors de diagnostic d'ostéosarcome. Seul le questionnaire Canine Brief Pain Inventory a été traduit et validé en français.⁶⁷ Ces questionnaires peuvent être utilisés pour suivre l'évolution du patient dans le temps puisque le score obtenu corrèle avec la sévérité de la douleur. Le Client-Specific Outcome Measures (CSOM)⁶⁸ est aussi un outil de suivi, mais cette fois, individualisé au patient dans la mesure où le propriétaire détermine trois activités que son animal a de la difficulté à effectuer et dont il suivra l'évolution à chaque évaluation. Enfin, un questionnaire a été développé récemment pour évaluer la malformation de Chiari associée à une syringomyélie chez le Cavalier King Charles Spaniel.⁶⁹ Les questions portent principalement sur le grattage (fréquemment observé dans cette population de patients), ce qui rend son utilité dans un autre contexte très limitée. De plus, cet instrument n'a pas permis d'associer les signes cliniques avec la sévérité (ou même la présence) de syringomyélie dans la population étudiée.⁶⁹

Les marqueurs biologiques comme les hormones associées au stress (cortisol, adrénaline) ont été investigués dans le contexte de la douleur. Considérant l'interférence du stress lors de toute manipulation chez les animaux, la grande variation individuelle du niveau d'hormones⁷⁰ et la

possible suppression de l'axe hypothalamo-hypophysaire après une élévation prolongée de cortisol,⁷¹ cette méthode est considérée peu fiable pour évaluer la douleur aiguë ou chronique. Finalement, une étude menée par Monchaux *et al.*,⁷² a investigué l'expression et la concentration des cytokines pro-inflammatoires chez 25 chiens présentant des hernies discales. Une expression supérieure de TNF- α et IL-6, mesurées par Real-Time PCR, a été observée chez les sujets atteints par rapport aux contrôles et la concentration des protéines TNF- α et IL-8, mesurées par méthode ELISA, était supérieure chez les chiens présentant une hernie discale. En revanche, aucune association n'a été trouvée entre les expressions et concentrations de cytokines pro-inflammatoires et la durée des signes cliniques de douleur.

1.5.2 — Test quantitatifs sensoriels (QST)

Cette méthode psychophysique permet d'évaluer la fonction du système somatosensoriel. Elle est de plus en plus utilisée en médecine vétérinaire car elle fournit une mesure semi-objective du niveau de douleur. En d'autres termes, elle présente l'attrait de permettre de quantifier un phénomène subjectif.

Le principe des QST est de mesurer le seuil de réponse ou l'intensité de la douleur lors d'une stimulation sensorielle calibrée, et idéalement avec une méthodologie validée. La modalité physique employée pour exercer la stimulation détermine le type des fibres évalué. Ainsi, une stimulation thermique (froide ou chaude) testera les fibres A δ et C, alors qu'une stimulation mécanique de faible intensité (coton-tige) évaluera l'intégrité des fibres A β . Une pression exercée par un algomètre ou une aiguille activera plutôt les fibres nociceptives A δ et C. La vibration, quant à elle, pourra être utilisée pour tester les fibres A β , tout comme les filaments de Von Frey.⁷³ Actuellement en médecine humaine, le protocole standardisé permettant de peindre le profil somatosensoriel complet d'un individu comporte 7 tests et mesure 13 paramètres en une heure.⁷⁴

En médecine vétérinaire, l'évaluation des QST n'est souvent valable que lorsqu'elle est effectuée par un évaluateur entraîné, capable de déceler la réaction de l'animal (parfois subtile) lors de l'application – la plus standardisée possible - d'un stimulus. Chez le chien, les comportements couramment cités comme des réponses évidentes à la stimulation sont les mouvements

volontaires pour se soustraire à la sonde, les vocalisations ou simplement porter le regard sur le site de stimulation.⁷⁵ Si l'intensité du stimulus donne un chiffre, il faut toutefois relativiser sa précision. En effet, les incertitudes liées à la mesure proviennent de nombreux facteurs, notamment le délai de réponse du patient et de détection de l'observateur (alors que l'intensité continue d'augmenter), l'incertitude sur la motivation exacte conduisant au comportement observé (paramètre aussi appelé « confiance dans le résultat »).⁷⁵ Enfin, en raison des niveaux de stoïcité variables entre les animaux, il est difficile de savoir si l'on teste un seuil de sensibilité ou de tolérance à la douleur au sein de la population étudiée. Tous ces facteurs contribuent à la grande variabilité inter et intra-individuelle des QST.^{11,75-78} Ce constat souligne la nécessité de raffiner les protocoles pour limiter la variation et relève l'importance de réaliser des tests de fiabilité et de répétabilité des différentes méthodes pour pouvoir exploiter les résultats des QST. En médecine humaine en revanche, les QST sont beaucoup moins sujets aux variations puisque ce sont directement les patients qui signalent les changements de sensation ou le niveau de douleur ressenti. Néanmoins, la coopération de l'individu demeure un facteur aléatoire et les instructions fournies au patient doivent être claires.⁷⁹ Les tests pour les humains ont été standardisés et les cliniciens formés pour augmenter la constance dans la réalisation de la méthode. De ce fait, des analyses de données multicentriques ont pu être effectuées pour obtenir des valeurs normatives.^{74,79} Les QST sont recommandés, à des fins cliniques, pour détecter des neuropathies affectant des fibres de faible et large calibres, suivre l'évolution de déficits sensoriels ou encore la présence d'allodynie et d'hyperalgésie et contrôler la réponse au traitement.^{80,81} À eux seuls, les QST ne permettent pas de diagnostiquer la douleur neuropathique.⁸⁰

En médecine vétérinaire, en revanche, l'absence de standardisation de la méthode entre les laboratoires et le faible nombre de patients testés dans les études ne permettent pas encore l'établissement de valeurs de références. Chez le chat par contre, des valeurs seuils (pour les membres thoraciques et pelviens), au-delà desquelles l'animal présentait de l'allodynie ont été déterminées en utilisant un filament de von Frey en polypropylène.⁸² La diversité phénotypique des chiens et les résultats obtenus jusqu'à maintenant, suggèrent que des sous-catégories devraient être réalisées pour homogénéiser les groupes, notamment sur base du poids.⁷⁶ Par

ailleurs, l'âge et le sexe ainsi que la région testée sont également des facteurs de variabilité en médecine humaine dont les effets restent à être précisés chez le chien. Récemment, un premier pas vers une standardisation de la méthode de QST chez le chien a été fait, en proposant un protocole de 90 minutes permettant de tester sur 5 régions du corps, les seuils tactiles par 2 méthodes, les seuils mécaniques avec 3 diamètres de sonde différents et les seuils thermiques avec 2 températures.⁷⁶ Il s'agit d'un point de départ, mais davantage d'études de ce type devront être conduites pour poursuivre vers l'établissement d'un protocole commun constitué de tests fiables et répétables.

Le protocole standard humain inclut les mesures des seuils de *détection* thermiques et mécanique, des seuils de *douleur* thermique et mécanique et de sensibilité tactile. Avec cette combinaison, il est possible de déterminer quel mécanisme neurobiologique est présent (déafférentation, sensibilisation périphérique ou centrale). En effet, chacun de ces phénomènes est caractérisé par un profil différent lors de la réalisation des QST. Par exemple, la déafférentation correspond à une diminution globale de la sensibilité tous tests confondus, alors que les sensibilisations centrales et périphériques vont plutôt entraîner des augmentations.⁷³

En médecine vétérinaire, ce sont les seuils nociceptifs mécaniques qui ont été les premiers à être employés à des fins de recherche. Ensuite, les modalités thermiques (froid/chaud) ont intégré l'arsenal de QST employés pour des animaux de compagnie.^{11,75-78,83,84} Dernièrement, les QST dynamiques ont fait leur entrée. Ces tests permettent d'apprécier l'adaptation (modulation) du système de traitement de la douleur, face à une stimulation répétée ou après une stimulation conditionnante. L'évaluation de la sommation temporelle, décrite chez le chat, évalue la facilitation ascendante (phénomène de wind-up).⁸⁵⁻⁸⁷ Cette technique consiste à appliquer des stimulations répétées à une intensité constante, inférieure au seuil de déclenchement du nocicepteur, puis de compter le nombre de stimulations nécessaires pour motiver une réponse comportementale.⁸⁷ Lorsque le phénomène de sensibilisation centrale est présente, les stimulations répétées sont intégrées et s'additionnent pour finalement provoquer une réponse qui ne devrait pas survenir dans des conditions normales. La sommation spatiale peut également être testée, ce phénomène est le résultat d'une réponse obtenue non plus en générant un train de stimulations sur une seule région mais en activant plusieurs localisations en même temps.

En médecine humaine, le paradigme de modulation conditionnée de la douleur (ou CPM) permet d'évaluer le système de modulation endogène descendant. Ce test fait, lui aussi, partie des QST dynamiques. Le principe est de mesurer les seuils nociceptifs avant et après l'application d'une stimulation conditionnante ayant excité les fibres A δ ou C, et de noter si la tendance est à la hausse (inhibition de la douleur) ou à la baisse (facilitation de la douleur), permettant de déterminer ainsi des types de profils selon les individus (inhibiteur ou facilitateur). La stimulation conditionnante peut être effectuée à distance du site testé, on parle alors de stimulation hétérotopique ou proche, dans le cas d'une activation homotopique.³⁸ Au moment de la conception de notre protocole de recherche, aucune adaptation des CPM pour une utilisation chez les animaux de compagnie n'était rapportée.

1.6 — La douleur neuropathique

« Toute douleur qui n'aide personne est absurde »

André Malraux, La Condition humaine (1933)

1.6.1 — En médecine humaine

1.6.1.1 — Symptomatologie

Aucun symptôme n'est pathognomonique de la douleur neuropathique. Les patients rapportent souvent une topographie bien définie de la douleur et présentent souvent une hyperalgésie et de l'allodynie.⁸⁸ Ce « territoire douloureux » peut aussi englober une zone analgésique. En général, ces symptômes sont associés à des perceptions sensorielles paradoxales.⁸⁹ Ces dernières peuvent être spontanées (apparaître sans cause apparente) ou être provoquées, notamment par le toucher. L'ensemble de ces sensations anormales douloureuses sont regroupées sous le terme de paresthésies et sont fréquemment sévères.¹⁰ Une étude portant sur les descripteurs qualitatifs utilisés pour les décrire a montré que les personnes interrogées utilisaient une sémantique commune : brûlure, choc électrique, fourmillements, picotements, démangeaisons et sensation de froid.⁹⁰ Ce type de douleur est très souvent négligé, notamment chez les patients qui ne parviennent pas à décrire verbalement leur douleur. Une revue systématique publiée en 2017 sur

des patients présentant une aphasie légère à modérée à la suite d'une atteinte vasculaire cérébrale, a montré que les outils disponibles actuellement pour évaluer la douleur n'étaient pas facilement utilisables, fiables et valides pour cette catégorie de patients.⁹¹

Par ailleurs, une composante neurogénique est retrouvée dans 8% des cas de patients atteints de prurit chronique, on parle du symptôme de « démangeaison neuropathique ».⁹² Par définition, la douleur neuropathique résulte d'une lésion ou d'une maladie du système somatosensoriel. Elle peut donc être associée à une large variété de pathologies. Les symptômes présentés par le patient ne sont pas le reflet de la lésion primaire, et un même signe clinique peut être issu de mécanismes différents. C'est pourquoi les chercheurs tendent désormais à s'écarter de la conception d'études autour d'une pathologie ou d'un symptôme, pour recruter davantage sur base des profils sensoriels des patients (permis par les analyses de cluster dans les résultats de QST).⁹³ De la sorte, ils pensent constituer des groupes plus homogènes tant sur les mécanismes sous-jacents à la douleur neuropathique que sur les tendances de réponse au traitement. Cette approche permet d'augmenter la puissance statistique d'une étude en limitant le nombre de patients à inclure.

1.6.1.2 — Modèle animal de la douleur neuropathique.

De nombreux modèles chirurgicaux murins ont été développés pour étudier les mécanismes pathophysiologiques de la douleur neuropathique, incluant : la transection complète du nerf sciatique, la ligature partielle de la portion commune du nerf sciatique (modèle de Seltzer),⁹⁴ la ligature des nerfs spinaux (L5-L6 ou L7),⁹⁵ l'axotomie des nerfs tibial et péronier (« spared nerve injury »),⁹⁶ l'axotomie des nerfs tibial et sural,⁹⁷ la ligature du nerf péronier commun, la ligature du nerf infra-orbital⁹⁸ ou encore les méthodes de compression (manchon de polyéthylène autour du nerf sciatique).⁹⁹ Des modèles de douleur neuropathique induite par une exposition chimique ou à des tumeurs ont aussi été créés pour répondre à l'étude de conditions spécifiques.¹⁰⁰

Le modèle de lésion par constriction chronique (Chronic Constriction Injury ou CCI) ou modèle de Bennett¹⁰¹ reste le plus utilisé. Il produit une mononeuropathie périphérique unilatérale qui mime l'allodynie et l'hyperalgésie observée chez les patients neuropathiques humains. L'étude de ces modèles a permis de mieux comprendre la pathophysiologie et les circonstances de développement de la douleur neuropathique. La procédure de Bennett consiste à appliquer 4

ligatures lâches, distantes de 1 mm, autour de la portion commune du nerf sciatique (juste au-dessus de la trifurcation).¹⁰¹ L'œdème intraneural contenu par les ligatures entraîne une constriction du nerf sciatique. Ce processus est accompagné d'ischémie focale et de dégénérescence wallérienne, réunissant les conditions pour que la douleur neuropathique s'installe.¹⁰¹ L'hyperalgésie mécanique et l'allodynie au froid apparaît dans la semaine qui suit la procédure.¹⁰⁰ Ce modèle entraîne des comportements de protection du membre et, dans certains cas, d'autotomie.¹⁰¹ Bien qu'un modèle canin de douleur neuropathique soit également rapporté,^{100,95,102-104} aucune donnée ne permet de conclure à la présence de douleur chez ces animaux.

1.6.1.3 Pathophysiologie

Grâce à l'utilisation de ces modèles expérimentaux, il a été possible d'étudier la pathophysiologie de la douleur neuropathique et de découvrir certains des mécanismes qui interviennent dans la genèse ou le maintien de la douleur neuropathique, et qui peuvent expliquer quelques aspects de la symptomatologie rencontrée chez les patients.

Ainsi l'activité neuronale ectopique qui survient après une lésion nerveuse permet d'expliquer les paresthésies spontanées. Dans ce cas, c'est l'hyperexcitabilité du nerf lésé, secondaire à l'altération moléculaire des récepteurs (essentiellement sodiques), qui conduit à la genèse de potentiels d'action sur le nerf afférent, sans stimulation apparente.⁸⁸ D'autre part, nous avons vu que la sensibilisation périphérique et centrale étaient des mécanismes importants dans la mise en place et la persistance de la douleur. Ceci est particulièrement vrai dans le cas de la douleur neuropathique et explique l'hyperalgésie et l'allodynie présentée par les patients qui en sont atteints. En outre, une atteinte de la capacité à moduler la douleur a été observée chez certains patients. Plusieurs mécanismes peuvent être en cause pour l'expliquer, comme par exemple la mort cellulaire par apoptose des interneurons GABAergiques spinaux secondairement à la lésion d'un nerf périphérique afférent.⁸⁸ Il a également été montré que la capacité endogène à inhiber la douleur via la boucle spino-bulbo-spinale était déficiente dans certains cas chez les patients humains.¹⁰⁵

Par ailleurs, plus récemment, une attention particulière a été portée à la contribution des cellules non-neuronales (cellules de la glie) dans ce processus de douleur chronique. Les cellules gliales sont des cellules de soutien pour les neurones et comprennent les oligodendrocytes, les astrocytes et la microglie. Les modèles animaux ont permis de comprendre que dans le contexte de la douleur neuropathique, l'activation de la microglie par le TNF et l'IL-6 après une lésion spinale par exemple, joue un rôle important dans le phénomène de sensibilisation centrale. La microglie est responsable de la relâche des médiateurs pro-inflammatoires (notamment IL-1 β , IL-6 et TNF) impliqués dans la cascade de réponses inflammatoires au sein du système nerveux central.¹⁰⁶ La glie joue un rôle à la fois au site lésionnel mais également à distance dans le système nerveux central. La contribution réelle de la glie dans la douleur chronique n'est pas encore déterminée puisque les données cliniques humaines sont rares.¹⁰⁶ En effet, si les modèles animaux sont importants dans la phase exploratoire de la pathophysiologie, ils sont toutefois éloignés des maladies survenant spontanément. Des différences mécanistiques existent entre les maladies développées par les modèles et les patients. Ceci explique l'intérêt pour des modèles présentant une condition d'apparition spontanée et vivant dans le même environnement que l'homme.¹⁰⁷

Finalement, au cours des dernières années, il a été possible de préciser le rôle des principales cytokines dans les différentes étapes conduisant à l'installation de la douleur chronique.

a) *Les cytokines pro-inflammatoires*^{108,109}

L'*interleukine 1 β* (ou IL-1 β) est impliquée dans la mise en place des mécanismes conduisant à la douleur neuropathique périphérique. Cette cytokine est normalement produite en très faible quantité et voit son expression augmenter lors d'atteinte nerveuse périphérique. En effet, dans ces conditions, l'activité des métalloprotéinases MMP9 et MMP2 augmente et donne lieu à un clivage important des pro-IL-1 β (forme inactive) en IL-1 β (forme active). Cette cytokine agirait par deux voies, l'une par action directe sur les neurones et l'autre par activation indirecte sur les cellules immunitaires pro-inflammatoires.

Le *facteur de nécrose tumorale* (ou TNF α) est une cytokine pro-inflammatoire cruciale pour le développement (initiation) de la douleur neuropathique. Elle est exprimée par les neurones et les

cellules gliales. Ces deux populations possèdent également les récepteurs pour ce peptide. Il a été montré qu'une altération de la production de TNF α atténuait l'hypersensitivité des rats neuropathiques et qu'en revanche, sa surexpression chez des souris transgéniques augmentait de façon significative l'hypersensibilité comparé aux souches sauvages. Il existe 2 types de récepteurs TNFR1 et R2. L'étude sélective de ces récepteurs a permis de comprendre que TNFR1 est davantage impliqué dans la pro-nociception dans des conditions normales, alors que la contribution de TNFR2 survient à la suite à d'une lésion nerveuse. TNF stimule la réponse astrocytaire via la phosphorylation de la terminaison N de la kinase c-Jun et la relâche de CCL2 (chimiokine ligand 2).

Le *complexe fractalkine* (ou CX3CL1) et CX3CR1, son récepteur, semble être élément clé de la communication entre les neurones et la microglie dans un contexte de douleur neuropathique. Il entraîne, par une série de phosphorylation, la relâche d'IL-1 β , IL-6 et oxide nitrique et par ce biais, sensibilise les neurones. La réponse est particulièrement marquée dans la population de neurones WDR dans la moelle épinière. Son effet est donc pro-nociceptif au niveau spinal, pourtant, en périphérie, il joue un rôle anti-nociceptif.

La *chimiokine ligand 2* (ou CCL2, ou MCP-1) est exprimée par les fibres afférentes primaires, dans le ganglion de la racine dorsale et les terminaisons centrales dans les couches superficielles de la corne dorsale de la moelle épinière. Il a été montré qu'en bloquant CCL2/CCR2, son récepteur, il y avait une diminution de l'activité microgliale dans la corne dorsale. Dans ce sens, CCL2 participe au développement de la douleur neuropathique.

L'*interleukine 6* (ou IL-6) est largement pro-inflammatoire bien qu'elle puisse dans certains cas moduler des réponses anti-inflammatoires. Dans le contexte de la douleur neuropathique toutefois, son rôle en faveur de l'inflammation a été démontré. Après une lésion nerveuse périphérique, l'IL-6 est relâchée par les macrophages et les cellules de Schwann localement, mais aussi à distance par les neurones et les cellules de la glie, dans le ganglion de la racine dorsale et la moelle épinière. IL-6 contribue à l'augmentation de médiateurs algiques (Brain-Derived Nerve Factor, substance P) et promeut l'activation de la microglie.

b) *Les cytokines anti-inflammatoires*¹⁰⁸

L'*interleukine 10* (ou IL-10), est une cytokine anti-inflammatoire puissante qui diminue l'activité du facteur nucléaire kappa B (ou NFκB), impliqué dans la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, incluant IL-1β et TNF α. Une corrélation inverse a été montrée entre les niveaux d'IL-10 dans le liquide céphalorachidien et les scores de douleur chez les patients atteints de neuropathies périphériques douloureuses.

L'*interleukine 4* est une autre cytokine anti-inflammatoire, qui, contrairement à IL-10, a été peu étudiée dans les cas de douleur neuropathique. Cependant, il a été constaté que des patients atteints d'un syndrome douloureux complexe régional (CRPS) avaient un niveau d'IL-4 dans le liquide céphalorachidien, inférieur aux patients contrôles.

La douleur neuropathique résulterait d'un déséquilibre entre le niveau d'expression de cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Les études récentes suggèrent que les mécanismes d'initiation et la maintenance de la neuro-inflammation à l'origine de la douleur neuropathique seraient différents en fonction des sexes, avec une médiation par les cellules gliales pour les mâles et par les cellules immunitaires pour les femelles.¹¹⁰

Dans le cadre de nos recherches, nous avons souhaité explorer les concentrations en cytokines des chiens souffrant de douleur neuropathique. Pour ce faire nous avons utilisé un kit commercial validé pour le chien comprenant 13 cytokines impliquées dans l'inflammation. En plus de l'IL-6, IL-10, MCP-1, TNF-α, mentionnés plus haut, ce panel permettait de quantifier GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony stimulating factor; qui promeut l'inflammation et la douleur), IFN-γ (Interféron γ; qui promeut l'activation des polynucléaire neutrophiles et des cellules NK), IL-2 (qui promeut la douleur; sa concentration sérique est corrélée à la douleur oncologique)¹¹¹, IL-7 (rôle dans la maturation des lymphocytes B), IL-8 et IL-15 (pro-inflammatoires; en concentration plus élevée dans le liquide synovial de patients atteints d'ostéoarthrose¹¹²), IP-10 (Interferon γ- produced protein-10; elle participe à l'activation précoce de la microglie¹¹³), KC-like (Keratinocyte-derived chemokine; elle est élevée dans les maladies inflammatoires¹¹⁴), IL-18 (pro-inflammatoire; elle module l'activation des lymphocytes T). Il est à noter que MCP-1 a été le

marqueur le plus sensible et spécifique pour identifier l'arthrose dans le liquide synovial de chien.¹¹⁴

1.6.2 — En médecine vétérinaire

1.6.2.1 — Description des signes cliniques, basée sur l'étude des modèles canins

a) Modèle expérimental de douleur neuropathique canine

Les chiens atteints de neuropathie sensitive induite par administration orale¹⁰⁴ ou sous-cutanée¹¹⁵ de larges doses de pyridoxine (vitamine B6) ont été listé parmi les modèles canin de douleur neuropathique.¹⁰⁰ Les lésions histologiques ont été bien documentées et montrent une atteinte sélective des structures sensibles incluant le funicule dorsal, les fibres et les voies spinales du nerf trijumeau, les racines dorsales spinales et dans une moindre mesure les faisceaux des nerfs périphériques.¹⁰⁴ Les auteurs rapportent que les chiens présentaient des anomalies de la démarche et des déficits proprioceptifs, mais aucune de ces études n'a testé la présence d'hyperalgésie ou d'allodynie.^{102,115} Chez ces animaux, la présence de douleur était extrapolée à partir de la perte de poids.^{115,116} Or récemment, une étude randomisée et contrôlée sur 29 Beagles a montré qu'une alimentation enrichie en leucine/pyridoxine atteignait les mêmes objectifs de perte de poids qu'une alimentation conçue pour l'amaigrissement.¹¹⁷ La même étude avance que la pyridoxine serait le composé principal derrière l'effet de cette alimentation nutraceutique. Si le modèle est convaincant pour une intoxication à la B6, il l'est moins pour le développement de douleur neuropathique.

b) Cas spontanés de douleur neuropathique canine

Les Cavalier King Charles Spaniels sont prédisposés au développement d'une malformation similaire au syndrome d'Arnold Chiari, qui est associé à des douleurs neuropathiques chez l'Homme.¹¹⁸ Selon les statistiques du Kennel Club (UK) de 2019^e, cette race est la deuxième race toy la plus populaire en Angleterre. Il n'est donc pas surprenant que cette race soit surreprésentée dans la littérature sur la douleur neuropathique canine et que les études soient principalement menées par des équipes anglaises. Dans une étude récente se concentrant sur la

^e <https://www.thekennelclub.org.uk/media/2406/quarterly-breed-stats-toys.pdf> ; accédé le 03/11/2020.

prévalence des signes cliniques liés au syndrome sur un groupe de 130 chiens, Rusbridge *et al.* rapportaient principalement l'observation de vocalisations (provoquées ou non; 65,4%), de douleur spinale indépendante du site du syrinx et plus souvent notée dans la région cervicale et thoraco-lombaire (54,6%), de réduction de la tolérance à l'exercice (33,8%), de léthargie (8,5%), de difficulté à sauter ou à emprunter les escaliers (refus, hésitation, etc.), de changements de comportement (plus timide, plus anxieux, en retrait ou plus agressif ; 28,5%), d'agitation nocturne (22,3%) et de la réticence à être caressé ou brossé, plus particulièrement sur la région de la tête et du cou (30%). Tous ces signes étaient indépendants de la présence et de la taille du syrinx. En revanche, une association a été notée avec le « grattage fantôme », l'action de se frotter la tête ou les oreilles et la taille et le côté affecté par le syrinx. Par ailleurs, ces patients avec un large syrinx (≥ 4 mm) étaient aussi enclins à présenter des signes neurologiques tels qu'une scoliose, des déficits posturaux et de la faiblesse. Dans une autre étude, cette fois s'attardant sur les Chihuahuas présentant une malformation de type Chiari avec syringomyélie (n = 44), les signes associés à la douleur étaient similaires, mais le grattage des oreilles, des épaules ou de la région thoracique crâniale était plus fréquent que les vocalisations (73% versus 41%).

La littérature vétérinaire plus ancienne ne mentionne pas la présence de douleur neuropathique puisqu'il s'agit d'un concept relativement nouveau. Cependant, les descriptions des maladies ou lésions traumatiques impliquant directement le système somatosensoriel, ou des pathologies similaires à celles associées en médecine humaine avec la douleur neuropathique, constituent des sources potentielles d'information sur la présentation clinique de la douleur neuropathique (Tableau 4).

Tableau 4. – Liste des maladies ou lésions pouvant être associées à de la douleur neuropathique canine

Maladies vasculaires	Myélopathie par embolie fibrocartilagineuse ^{21,119} Maladies thromboemboliques ¹¹⁹ Accidents cérébrovasculaires ¹²⁰
-----------------------------	---

Maladies inflammatoires/infectieuses	Discospondylites /Ostéomyélites vertébrales ^{21,119} Polyradiculonévrites ^{21,119} Vasculites ^{21,119} Maladies inflammatoires intestinales ^{21,119,120} Pancréatites ^{21,119,120} Polyarthrites immunitaires ¹²⁰
Complications chirurgicales / traumatismes	Ligature nerveuse involontaire ^{21,119,120} /(modèle félin de neuropathie trigéminal) ¹²¹ Amputations ^{21,119,120,122,123} Avulsions du plexus brachial et de la queue ^{119,124}
Maladies endocriniennes	Neuropathies diabétiques ^{21,119,120} Hyperthyroïdisme ¹²⁰
Malformations	Syringomyélie/Malformation de Chiari ^{21,119,120,125,126}
Maladies/processus dégénératifs	Hernies discales ^{21,119} Syndromes de la cauda equina ¹¹⁹ Ostéoarthrose ¹²⁰
Néoplasies	Tumeur thalamique ¹²⁷

À ce titre, le cas des chiens atteints de neuropathies sensitives génétiques, affectant les neurones sensitifs primaires est particulièrement intéressant pour observer les signes associés à la douleur neuropathique. On observe chez ces derniers une hypoalgésie ou une anesthésie de la partie distale des quatre membres.¹²⁸⁻¹³¹ Un léchage et/ou mordillement de ces zones, allant fréquemment jusqu'à la mutilation.¹²⁸⁻¹³¹ Bien que l'origine de ce comportement reste controversée pour certains,^{132,133} une étude comparant la désafférentation pharmacologique chronique (non douloureuse) chez le rat et la névrotomie, a mis en évidence que ce comportement était la conséquence de la présence de douleur chronique.^{133,134} Par analogie avec les descriptions données par les personnes atteintes de neuropathies sensitives héréditaires, similaires à celle rapportées chez les chiens,¹³¹ nous pensons que les comportements de léchage/mordillement/mutilation étaient effectivement en lien avec la présence de douleur

neuropathique. Ces comportements sont également rencontrés chez des chiens ayant développé un névrome après une caudectomie esthétique,¹³⁵ ainsi que dans des cas d'avulsion du plexus brachial.¹²⁴ Il est à noter que dans l'étude rétrospective sur les 40 cas d'avulsion du plexus brachial chez le chien, ces traumatismes auto-infligés étaient notés alors qu'une absence de douleur profonde était présente au moment du diagnostic. Sur le long terme, les chiens ont développé des comportements de léchage/mutilations, d'attention marquée sur le membre affecté et de changements « émotionnels », souvent sous forme d'anxiété.

Il en ressort que les signes cliniques associés à la douleur neuropathique chez le chien peuvent être regroupés en trois grandes catégories : allodynie et hypo et/ou hyperalgésie et les « comportements évocateurs d'une douleur spontanée ».^{21,119,120,136} Cette dernière catégorie regroupe en fait plus précisément les « comportements somesthésiques accrus ». Par ailleurs, bien qu'ils soient moins bien documentés, les changements de comportement avec l'apparition d'anxiété devraient également être considérés, au même titre que les perturbations du sommeil.^{126,137,138}

1.6.3 — Défi diagnostique en médecine humaine

Puisque la douleur est un phénomène subjectif, la « diagnostiquer » constitue un défi de taille. Il existe différentes approches qui diffèrent par leur degré d'objectivité vis-à-vis de la douleur.

En premier lieu, le diagnostic repose sur les caractéristiques et la topographie de la douleur rapportées par le patient. On cherche à identifier le plus souvent une douleur chronique de fond et des sensations désagréables fulgurantes (paroxystiques). La douleur neuropathique est également caractérisée par la présence d'allodynie et d'hyperalgésie. Ces signes positifs sont souvent accompagnés de symptômes dits « négatifs », tels que des seuils sensitifs diminués (hypoesthésie) ou une hypoalgésie / analgésie localisée.^{139,140} Ces anomalies sensitives peuvent être mises en évidence lors d'un examen clinique incluant un interrogatoire du patient et une évaluation neurologique de routine. Le médecin traitant s'aide également de questionnaires validés, spécialement conçus pour le dépistage de la douleur neuropathique. Ces questionnaires permettent une détection de la douleur neuropathique avec une sensibilité et une spécificité avoisinant les 80 % (Tableau 5).

Tableau 5. – Questionnaires validés les plus fréquemment utilisés pour la détection de la douleur neuropathique chez les patients communicants

	LANSS ¹⁴¹	NPQ ¹⁴²	DN4 ¹⁴³	PainDETECT ¹⁴⁴	ID pain ¹⁴⁵
Paramètres évalués					
- Type de sensations	X	X	X	X	X
- Qualité de vie	X		X	X	
- Autre				Humeur	
- Descripteurs de douleur	X	X	X	X	X
- Examen clinique			(X)		
Sensibilité	82 – 91 %	66 %	76 – 100 %	85 %	84%
Spécificité	80 – 94 %	74 %	45 – 92 %	80 %	75%

Abréviations : (LANSS) Leeds Assessment of Neuropathic Symptoms and Signs scale ; (DN4) Douleur Neuropathique en 4 Questions; (NPQ) Neuropathic Pain Questionnaire.

Par la suite, les tests quantitatifs sensoriels (QST) standardisés peuvent être réalisés dans des cliniques spécialisées. Ils permettent d'évaluer la fonction sensitive et la perception ressentie consécutivement à l'application d'un stimulus calibré. Le profil sensoriel du patient est établi à l'aide de différents types de stimulations (mécaniques, thermiques; statiques ou dynamiques ; voir section 1.5.2). Si les QST permettent de déceler des anomalies de fonction, ils ne permettent pas de localiser la lésion et ne peuvent pas statuer sur la présence de douleur neuropathique puisque des changements similaires peuvent être observés dans les cas de douleurs d'un autre type. Pourtant ces tests, notamment les QST dynamiques, sont particulièrement importants dans le cadre de la douleur neuropathique puisqu'ils semblent capables d'orienter vers une thérapie personnalisée.^{40,88} Parallèlement, la lésion neurologique sous-jacente doit être recherchée à l'aide d'examen complémentaires.

Les examens électrophysiologiques classiques permettent d'évaluer les fibres sensibles les plus rapides, en mesurant leurs vitesses de conduction. Pour évaluer les lésions affectant des fibres de petits calibres (associées avec les neuropathies douloureuses), il faut avoir recours à d'autres techniques, notamment à l'examen par microscopie électronique de biopsies cutanées. Celle-ci

constitue actuellement le gold standard pour diagnostiquer les neuropathies impliquant les fibres A- δ et C, en se basant sur la densité en fibres nerveuses intra-épidermiques.¹⁴⁶ Cet examen à l'avantage d'être minimalement invasif et permet le suivi des patients dans le temps.¹⁴⁶ Toutefois, cette méthode ne peut être utilisée que dans le cadre des neuropathies périphériques. L'évaluation des potentiels douloureux évoqués par stimulation thermique générée par un laser, constitue un moyen diagnostique neurophysiologique fiable pour évaluer la fonction nociceptive dans le contexte des douleurs neuropathiques centrales et périphériques.¹⁴⁶ En revanche, son utilisation est restreinte aux rares centres qui disposent de cet équipement de pointe.

Puisqu'il n'existe pas de test pour confirmer la présence de douleur neuropathique, un algorithme a été proposée pour évaluer le degré de certitude avec lequel un diagnostic de douleur neuropathique peut être posé.¹⁴⁷ L'arbre décisionnel reprend les étapes décrites précédemment. Lorsque l'historique médical et la localisation des douleurs sont compatibles avec une distribution neurologique cohérente, la douleur neuropathique est qualifiée de possible. Après confirmation des anomalies sensitives sur ce même territoire neuroanatomique, le diagnostic devient probable. Enfin, la douleur neuropathique devient « certaine », après confirmation de la lésion du système somatosensoriel à l'origine de la douleur, par des tests diagnostiques, incluant la résonance magnétique ou la tomodensitométrie.¹⁴⁷

Recommandations actuelles en médecine vétérinaire

Selon les directives du conseil sur la douleur de l'association mondiale des vétérinaires pour les animaux de compagnie (WSAVA), la douleur neuropathique devrait être suspectée lorsque l'animal présente des signes d'hypersensibilité compatibles avec de l'allodynie et de l'hyperalgésie, et dans les cas de douleurs réfractaires à l'analgésie conventionnelle.¹⁴⁸

1.6.4 Traitements recommandés en médecine humaine

La douleur neuropathique est notoirement difficile à traiter et un soulagement complet est rarement atteint. Les objectifs réalistes visés par la thérapie sont une diminution de la douleur d'au-moins 30 % (montrée comme étant cliniquement significative),¹⁴⁹ une amélioration de la qualité de vie et du sommeil et un progrès dans la fonctionnalité du patient.¹⁴⁰ Les médicaments utilisés dans le traitement de la douleur neuropathique ont initialement été développés pour

d'autres indications comme le contrôle de la dépression ou des crises épileptiformes puis ont été testés dans le contexte de la douleur neuropathique. Selon l'approche GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation), les recommandations actuelles pour traiter la douleur neuropathique passent par l'utilisation en première ligne d'antidépresseurs (tricycliques et inhibiteurs de la recapture de sérotonine et de norépinéphrine) et des gabapentinoïdes.¹⁵⁰ Dans un algorithme de prise en charge de la douleur neuropathique publié récemment, les traitements topiques font leur apparition dans la catégorie des traitements de première ligne.¹⁵¹ La gestion de la douleur neuropathique est complexe et requiert dans la plupart des cas d'avoir recours à une analgésie multimodale.

Pour aider les cliniciens, des guides et recommandations officielles sont disponibles.^{f,151} Le plan comprend une succession d'étapes débutant par la mise en place d'un agent de première ligne, une évaluation du traitement à mi-parcours, puis à la fin de l'essai thérapeutique (d'une durée habituelle de 4 à 8 semaines). À ce stade, si la réponse au traitement est insatisfaisante, le recours à une combinaison de médicaments issus de la liste « de première ligne » doit être envisagé. Le tramadol (faible agoniste des récepteurs μ et inhibiteur de la recapture de la noradrénaline) est aussi considéré comme une alternative à ce stade,¹⁵¹ mais sera réservé à une utilisation de troisième ligne dans un avenir proche (recommandations applicables en 2024).¹⁴⁰ En cas d'échec, les médecins traitants sont invités à rediriger les patients vers des cliniques de la douleur et centres spécialisés pour une gestion personnalisée et un recours à des thérapies alternatives.¹⁵¹

1.6.4.1 Traitements recommandés en première instance

a) *Gabapentinoïdes*

Le groupe des gabapentinoïdes regroupe le gabapentin et le prégabalin. Grâce à leur liaison avec la sous-unité $\alpha 2\text{-}\delta$ des canaux calciques, elles diminuent la quantité de neurotransmetteurs relâchés dans la fente synaptique au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière.¹⁵² Leur mécanisme d'action précis demeure inconnu, mais ils pourraient également interférer avec la voie « amygdala – PAG », augmenter la production des sous-unités $\alpha 2\text{-}\delta$ et diminuer la relâche

^fhttps://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/document-001058/?&txt=douleur%20neuropathique&msss_valpub&date=DESC

de glutamate et de substance P.¹⁵³ En outre, les gabapentinoïdes possèdent une activité désinhibitrice sur les neurones du locus coeruleus, suggérant leur implication dans la voie inhibitrice descendante.^{153,154} En clinique, les gabapentinoïdes sont préférés dans les cas de douleurs localisées ou paroxystiques.¹³⁹ L'utilisation d'autres agents antiépileptiques ou anticonvulsivants tels que la carbamazépine, la phénytoïne, et le clonazépam peuvent être considérés comme des alternatives dans certains cas.

b) *Antidépresseurs*

L'association fréquente entre la dépression et la douleur chronique a poussé les médecins à utiliser les agents antidépresseurs pour traiter les patients neuropathiques. Bien qu'initialement le succès de ces thérapies a été imputé à une meilleure gestion des émotions, l'hypothèse que la dépression et la douleur chronique puisse partager un mécanisme commun a fait surface.¹⁵⁵ Désormais, on sait maintenant que les effets antalgiques et antidépresseurs sont indépendants et qu'une action analgésique peut être atteinte à des doses qui ne permettent pas de traiter la dépression (environ un quart de la dose efficace pour des effets antidépresseurs).^{154,156} Les antidépresseurs tricycliques et les inhibiteurs de la recapture de sérotonine et norépinéphrine sont actuellement les agents les plus utilisés pour traiter la douleur neuropathique et sont recommandés pour un traitement de première ligne. Ils conviennent à la fois pour le traitement des douleurs centrales et périphériques et exercent leur effet principal par inhibition de la recapture des monoamines sérotonine et noradrénaline.¹⁵⁶ De ce fait, ces antidépresseurs contribuent à prolonger leur action et ainsi favorisent l'inhibition descendante bulbospinale.⁷ En outre, il a été démontré qu'ils exercent également des actions locales et centrales permettant le contrôle de la douleur neuropathique, par le biais de blocages des canaux ioniques et des récepteurs N-méthyl D-aspartate (NMDA), respectivement.¹⁵² D'autres mécanismes ont également été proposés pour expliquer leurs effets analgésiques, notamment l'action sur les récepteurs muscariniques et histaminiques, l'augmentation de la transmission adénosinique ou encore la diminution de production de la substance P.¹⁵⁵ Toutefois, en comparant l'efficacité des différentes classes d'antidépresseurs, il a été déterminé que l'action prépondérante pour le contrôle de la douleur passait par les mécanismes noradrénergiques.¹⁵² Cliniquement, les antidépresseurs sont utilisés principalement pour traiter les douleurs permanentes.¹³⁹

c) *Traitements topiques — Lidocaïne et Capsaïcine*

Les traitements topiques ne conviennent que pour les douleurs neuropathiques périphériques focales puisque les patches doivent être appliqués directement sur la région douloureuse. La lidocaïne agit en bloquant les canaux sodiques et contribue ainsi à la diminution de la fréquence des décharges ectopiques dans les nerfs périphériques. Une utilisation répétée a également pour effet de désensibiliser les canaux TRPA1, impliqués dans les phénomènes d'irritation.¹⁵⁷

La capsaïcine quant à elle, est un dérivé vanilloïde qui se lie aux récepteurs TRPV1 situés sur les fibres A- δ et C et provoque la dépolarisation de ces nerfs. Si l'effet analgésique semble contre-intuitif, c'est qu'il repose sur une déplétion de substance P par stimulation nerveuse excessive.¹⁵⁸ Parce que ce traitement est initialement très douloureux, et qu'il nécessite une utilisation prolongée pour en constater les bénéfices, les médecins sont réticents à l'employer.¹³⁹ L'efficacité de la capsaïcine a été démontrée supérieure au placebo, seulement dans le cas des patches à 8% (haute concentration).¹⁵⁸

1.6.5 Thérapies recommandées en médecine vétérinaire

Chez les animaux de compagnie, les recommandations s'appuient principalement sur les données humaines. Toutefois, en raison des régulations sur l'utilisation des médicaments en médecine vétérinaire et des différences inter-espèces de tolérance aux molécules, les experts en analgésie vétérinaire du WSAVA Global Pain Council ont proposé une sélection de traitements de première ligne qui diffère quelque peu de la liste de l'IASP. Ils suggèrent en premier lieu de traiter systématiquement la douleur dans la période péri-opératoire pour réduire les risques de sensibilisation périphérique et centrale, favorisant à la mise en place de la douleur neuropathique et de la douleur persistante postopératoire. Les traitements oraux suggérés dans le cas où la douleur neuropathique est installée sont les suivants :

a) *Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (NSAIDs)*

Outre leur activité dans les tissus périphériques, les NSAIDs exercent une activité centrale sur la moelle épinière en bloquant la synthèse des prostaglandines (lesquels agissent comme neurotransmetteurs nociceptifs), par inhibition des enzymes cyclooxygénases.¹⁴⁸ Ils possèdent également une action sur le système opioïdérique et cannabinoïde endogène descendant.¹⁵⁹ Les

COX-2 ont été incriminés dans le développement de la douleur neuropathique.¹⁶⁰ Dans le contexte de la douleur neuropathique, les études pré-cliniques sur des modèles animaux ont permis de constater que les NSAIDs réduisaient l'hypersensibilité mécanique ; en revanche, ils ne sont pas montrés supérieurs au placebo dans les essais humains contrôlés.¹⁶¹ Il est à noter que la problématique de la réponse favorable au placebo impacte considérablement plus la recherche sur la douleur neuropathique que sur les autres formes de douleurs chroniques.^{162,163} Ces raisons expliquent en partie pourquoi les NSAIDs ne font pas partie de la liste des médicaments de première ligne pour l'IASP, mais devraient être considérés en médecine vétérinaire en traitement de première instance. Les NSAIDs sont souvent préférés aux anti-inflammatoires stéroïdiens en raison des effets secondaires moindres associés à ce traitement pour une utilisation chronique, aux doses couramment rapportées dans la littérature. Toutefois, les corticoïdes inhibent également les médiateurs pro-inflammatoires et diminuent la substance P.¹⁶⁴ Ils constituent donc une alternative valable. Dans notre expérience personnelle, une très faible dose de dexaméthasone (0,03 mg/kg q24h) sur des patients présentant des douleurs chroniques à composante neuropathique s'accompagne d'une réponse clinique positive et est souvent très bien tolérée. Des suivis hémato-biochimiques réguliers sont néanmoins indiqués.

b) *Les opioïdes — Tramadol*

Le tramadol est un faible agoniste des récepteurs opioïdes μ qui agit également comme inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la norépinephrine (voir la section 1.6.5.1 pour une description détaillée). C'est grâce à cette dernière propriété qu'il pourrait partager les effets bénéfiques des antidépresseurs tricycliques dans le traitement de la douleur neuropathique. En médecine humaine, toutefois, son utilisation est controversée pour la gestion de la douleur neuropathique en raison de l'effet paradoxal de sensibilisation à des stimuli nociceptifs parfois observé (hyperalgésie induite par les opioïdes)¹⁶⁵ et de la diminution de l'expression des récepteurs opioïdes μ dans la corne dorsale des patients neuropathiques.¹⁶⁶ Bien que leurs effets antinociceptifs ne soient pas contestés, les méta-analyses s'intéressant à leurs utilisations sans le contexte de la douleur neuropathique concluent que les données pour l'utilisation des opioïdes en médecine humaine sont insuffisantes pour supporter leur utilisation en monothérapie.^{165,167} Un traitement combinant du tramadol (2 mg/kg q12h PO) et du paracétamol (10 mg/kg q12h PO)

sur un chien présentant une anomalie caudale (osselet additionnel) associé à de l'auto-mutilation a montré un résultat satisfaisant (arrêt des tentatives de morsure de la région) après 2 semaines sous traitement.¹⁶⁸ Dans une étude prospective sur des chiens présentant une sténose lombosacrée (pathologie souvent associée à de la douleur neuropathique), un traitement de tramadol-prednisone a contribué à diminuer les scores de Glasgow dans 50 % des cas.¹⁶⁹ L'utilisation en combinaison ne permet pas de connaître la contribution du tramadol dans la réponse au traitement. Cependant, l'utilisation du tramadol chez le chien est controversée, parce que les études ont montré que le médicament ne donne pas d'analgésie clinique adéquate (section 1.6.5.1).

c) *Les antagonistes des récepteurs NMDA — Amantadine*

Le mode d'action de l'amantadine, apparenté à celui de la kétamine (voir section 1.6.5.1), vise à contrer la sensibilisation centrale en prévenant l'ouverture des récepteurs NMDA. Son effet antihyperalgésique a été constaté lors d'une utilisation en combinaison avec un NSAID, dans une étude sur des chiens souffrant d'ostéoarthrose.¹⁷⁰ Un seul rapport de cas fait mention de l'utilisation de l'amantadine dans le traitement de la douleur neuropathique canine.¹⁷¹

d) *Les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la norépinéphrine — Amitriptyline*

Les effets des antidépresseurs ont été décrits précédemment (voir section 1.6.4.1-b). Leur action contre la douleur neuropathique repose sur la promotion de l'inhibition descendante bulbospinale.⁷ L'amitriptyline a été utilisée avec succès, en combinaison avec la cyclosporine et le gabapentin, chez un chat atteint d'un syndrome hyperesthésique félin pour lequel une dermatite d'hypersensibilité sous-jacente était suspectée.¹⁷² Dans ce cas toutefois, la polypharmacie rend difficile de conclure sur la réelle contribution de l'amitriptyline dans l'amélioration clinique. Une série de cas rapporte une rétrocession complète de l'allodynie mécanique et un retour à la normale du comportement du patient pour deux des trois cas présentés, de chiens souffrant de douleur neuropathique, sous monothérapie avec l'amitriptyline (1-1,5 mg/kg q12h PO).¹⁷³ Récemment, une étude prospective suivant une approche analgésique par pallier (1- NSAID; 2- Amitriptyline; 3- gabapentin) menée sur 13 chiens avec une tumeur (ostéosarcome), a montré que l'ajout d'amitriptyline (1-1,5 mg/kg q24h PO) améliorait la mobilité

du patient et la performance du système de modulation endogène de la douleur.¹⁷⁴ Les douleurs cancéreuses ayant très souvent une composante neuropathique, cette étude supporte l'utilisation de l'amitriptyline pour cette condition. Dans tous les cas, lorsque le traitement conduisait à une amélioration, celle-ci était notée endéans d'une semaine.^{173,174} Des études prospectives randomisées seront nécessaires pour préciser les effets de ce traitement.

e) *Les gabapentinoïdes*

Leur mode d'action a été décrit ailleurs (voir sections 1.6.4.1 et 1.6.5.1). Le tableau ci-dessous groupe les principales études prospectives évaluant les effets des gabapentinoïdes chez le chien dans le contexte de douleur chronique où une composante neuropathique était possible. Les recherches où la période d'investigation était limitée à la période péri-opératoire et celle où la conception de l'étude ne permettait pas d'apprécier la contribution du traitement n'ont pas été incluses (Tableau 6). Toutes ces études ont montré que l'administration de gabapentinoïdes s'accompagnait d'une amélioration clinique, à l'exception de celle menée sur les chiens atteints d'ostéosarcome.¹⁷⁴ Il est à noter que si la conception de l'étude incluant une thérapie par pallier est cohérente avec l'approche clinique, elle désavantageait la dernière molécule introduite dans le contexte particulier de cette étude. En effet, la médiane de survie des patients étudiés était de 43 jours (à partir de l'inclusion dans le projet), soit 13 jours après les tests pour évaluer les effets du gabapentin. Une utilisation plus précoce aurait peut-être conduit à l'obtention de résultats plus probants.

Tableau 6. – Études prospectives évaluant les effets du gabapentin ou du prégabaline chez des chiens atteints de douleur chronique avec une possible composante neuropathique.

Nombre de cas	Type d'étude	Pathologie	Traitement oraux administrés et posologies	Mesures de suivi	Effets de la molécule testée et remarques	Références
n=10	Essai clinique	Syndrome lombosacré	Prednisolone (0,5 mg/kg/j) +	CMPS-SF	Amélioration avec gabapentin dans tous les cas	Giudice <i>et al.</i> , 2019 ¹⁶⁹

			Tramadol (3 mg/kg q8h) Gabapentin = analgésie de secours (10 mg/kg q8h)		où le tramadol avait préalablement échoué (5/5)	
n=13	Open-label, Essai clinique par pallier	Ostéosarcome	Cimicoxib (2mg/kg q24h) puis + amitriptyline (1-1,5 mg/kg q24h PO) puis + gabapentin (10 mg/kg q8)	QST (incluant dynamiques) actimétrie	Détérioration des QST (excepté seuils tactiles; actimétrie)	Monteiro <i>et al.</i> , 2018 ¹⁷⁴
n=8	En double aveugle, randomisée, croisée, contrôlée par placebo.	CM/SM	Meloxicam (0,05 mg/kg q24h n=7 ; carprofen 2 mg/kg q24h n=2) pregabalin (5 mg/kg q12h) ; nb 1 exclusion	QST NRS (propriétaire)	Diminution des scores de douleur avec pregabalin ; Reduction d l'hyperalgésie mécanique et de l'hyperalgésie thermique (0°C), de l'allodynie (15°C)	Sanchis-Mora <i>et al.</i> , 2019 ¹⁷⁵
n=12	En double aveugle, randomisée, croisée, contrôlée par placebo	CM/SM	pregabalin (13-19 mg/kg q12h = 150 mg par chien q12h)	SC (grattage)	Diminution des épisodes de grattage lié à CM/SM avec prégabalin	Thoefner <i>et al.</i> , 2020 ¹⁷⁶
n= 40	Randomisée, croisée	CM/SM	Gabapentin (10 mg/kg q8h) ou Topiramate (10 mg/kg q8h)	VAS (QoL)	Gabapentin supérieur au Carprofen ;	Plessas <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷⁷

			+ carprofen (2 mg/kg q24h)		Pas de différence entre gabapentin et topiramate.	
--	--	--	----------------------------	--	---	--

Abréviations : (CMPS-SF) scores de glasgow, formulaire court; (UMPS) Échelle de douleur de l'Université de Melbourne; (S-WM) Monofilament Semmes-Weinstein ; (VAS) : échelle visuelle analogue ; (NRS) échelle numérique de scores ; (CM) : malformation de chiari ; (SM) syringomyélie ; (SC) : signes cliniques; (SCI) atteinte de la moelle épinière; (QoL) qualité de vie.

Puisque les maladies chroniques les plus fréquentes chez les chiens figurent parmi celles qui sont aussi les plus souvent associées à une douleur mixte chez l'homme (nociceptive et neuropathique),¹⁷⁸ un aperçu de la littérature sur les traitements, autres que les opioïdes, proposés pour soulager la douleur nociceptive aiguë est présenté dans la section suivante.

1.6.5.1 Adjuvant analgesics in acute pain management

Hélène LM Ruel^g, Paulo V Steagall^f

Citation

Article publié dans *Veterinary Clinic of North America: Small Animal Practice*. 2019 Nov;49(6):1127-1141.

doi: 10.1016/j.cvsm.2019.07.005. Epub 2019 Aug 30.

PMID: 31474414

Contribution de la candidate au PhD

La candidate au PhD a été impliquée dans la rédaction, en collaboration avec le co-auteur et a participé aux révisions du manuscrit.

Disclosure statement

The authors have nothing to disclose

Key words: gabapentin; ketamine; tramadol; canine; feline; adjuvant drugs; analgesia; pain

Key Points

- The efficacy of gabapentin in combination with buprenorphine has been demonstrated after ovariohysterectomy in cats. Additional studies using gabapentin alone are required to evaluate its efficacy in dogs and cats.
- The use of ketamine in clinical practice including dosage regimens, drug combinations, advantages, disadvantages or limitations, anesthetic-sparing effects and clinically relevant studies, is presented.
- The analgesic efficacy of tramadol relies on the activity of cytochrome P 450 enzymes to produce its active metabolites (i.e. O-desmethyltramadol). Dogs produce less

^g Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

concentrations of this metabolite and tramadol's efficacy has been questioned in this species.

- The use of tramadol in dogs should be judicious. Veterinarians should know the potential for analgesic failure and the clinical limitations of the drug in pain management.

Synopsis

Adjuvant analgesics (i.e. gabapentin, tramadol and ketamine) are commonly used in small animal practice. Most of these drugs are often prescribed for outpatients, when pain is refractory to classic analgesics (i.e. local anesthetics, opioids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs), or when contra-indications exist to the administration of other analgesics including nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). This article reviews the mechanisms of action, clinical use, potential adverse effects and current evidence of adjuvant analgesics in the treatment of acute pain in companion animals. These drugs should be considered as alternatives in order to reduce/replace the use of opioids.

a) Gabapentin

Mechanism of action and pharmacology

Gabapentin is a structural analogue of the inhibitory neurotransmitter gamma-aminobutyric acid (GABA); however, it has little activity at the GABA receptors. Instead, it is thought that gabapentinoids exert their main effects by binding to the $\alpha 2$ - δ subunit of the voltage-gated calcium channels.¹⁷⁹ Gabapentin also inhibits presynaptic release of GABA and induces glutamate release in the locus coeruleus located in the brainstem.¹⁵⁴ Therefore, gabapentin acts also on the descending noradrenergic inhibitory system.¹⁸⁰

Gabapentin has high oral bioavailability in dogs (80%; 50 mg/kg)¹⁸¹ and cats (90-95%; 10 mg/kg).^{182,183} Peak plasma concentrations are expected to occur 45 minutes to 2 hours after oral administration in both cats^{182,183} and dogs.¹⁸⁴ In dogs, 34% of the drug is metabolized by the liver into N-methyl-gabapentin and it is eliminated by renal excretion.¹⁸¹ The extensiveness of hepatic

biotransformation in cats is unknown. Elimination half-lives are approximately between 3 and 4 hours in dogs and cats.^{182,183,185} This information suggests the need for frequent oral dosing. However, specific target-levels for antiepileptic efficacy and pain management are yet to be determined in companion animals.

Some drug interactions have been described in humans but it is unknown if similar effects occur in animals. In humans, coadministration of hydrocodone or morphine may lead to increases in the plasma concentrations of gabapentin. A delay of two hours is also recommended when gabapentin is administered concomitantly with aluminium-magnesium hydroxides because they can decrease the absorption of gabapentin.

Clinical use

Gabapentin is approved by the US Food and Drug Administration as an adjunct antiepileptic and antihyperalgesic drug (for neuropathic pain associated with postherpetic neuralgia) in humans. The drug is inexpensive and easily available for oral administration in capsules, tablets or liquid. Some formulations contain xylitol, which can be toxic at large doses in dogs. For this reason, care must be taken when prescribing this drug from a nonveterinary pharmacy. It is currently nonscheduled in most of the United States.

In dogs and cats, gabapentin was initially used off-label as an antiepileptic drug. Despite the limited number of randomized controlled trials and dosage recommendations, the drug is now widely used for chronic pain management. More recently, its analgesic properties for acute and postoperative pain have been investigated in companion animals in combination with other analgesic drugs^{186–189} or administered alone as a single dose to facilitate transportation and examination, or to attenuate fear responses in cage-trap cats.^{190,191}

Evidence in Humans Related to Acute Pain

A recent meta-analysis showed that a single dose of gabapentin or pregabalin administered pre-operatively reduced opioid consumption in the postoperative period.¹⁹² Gabapentin provided adequate pain control in the early period after cesarean section without increasing maternal or neonatal adverse effects.¹⁹³ It also provided superior analgesia when compared with placebo, and

it decreased the prevalence of vomiting after craniotomy¹⁹⁴ and open hysterectomy.¹⁹⁵ However, it did not improve pain scores or reduce opioid requirements when used in critically ill patients with rib fractures¹⁹⁶ or before hysterectomy by laparoscopy.¹⁹⁷ A systematic review and meta-analysis is currently being conducted to document the efficacy and safety of gabapentinoids (i.e. gabapentin and pregabalin) in the perioperative period to support recommendations of the American Pain Society on the use of perioperative gabapentinoids (Box 1).¹⁹⁸

Box 1- Current recommendations of the American Society of Pain regarding the use of gabapentin for the management of postoperative pain in people¹⁹⁹

Type of patients

- Patients undergoing major or minor surgery.

Dose range

- For preoperative use: 600 -1200 mg per individual, to be administered 1 to 2h before surgery as part of multimodal analgesia; preoperative use is recommended for major surgery or when high degree of pain is expected.

- For postoperative use: 600 mg per individual as a single or in multiple doses.

Adverse effects

- Dizziness, fatigue, and sedation without evidence of respiratory depression.

- The dose should be reduced in patients with renal dysfunction.

Evidence in Companion Animals

The World Small Animal Veterinary Association Global Pain Council recommends the perioperative use of gabapentin as an adjunctive treatment to prevent or treat postsurgical pain, or in circumstances of limited availability of analgesic drugs.¹⁴⁸ However, the current knowledge on the analgesic effects of gabapentin in companion animals is mostly based on expert opinion, case reports and review articles (see Box 1).^{148,173,200–202} For example, the analgesic efficacy of gabapentin has been reported in case-series following major orthopedic procedures,²⁰² wound debridement,²⁰¹ musculoskeletal pain and head trauma.²⁰³ The administration of buprenorphine in combination with 2 preoperative doses of gabapentin (50 mg per cat; 12 hours and 1 hour

before surgery) provided similar analgesic effects to buprenorphine-meloxicam in cats undergoing ovariohysterectomy. Depending on the pain scoring system, buprenorphine-gabapentin provided better pain relief than buprenorphine alone.¹⁸⁸ On the other hand, thermal antinociception and decreases in the minimum alveolar concentration (MAC) of isoflurane were not observed in healthy cats treated with gabapentin.^{204,205}

Data on the efficacy of gabapentin alone are lacking in dogs. Perioperative administration of gabapentin (10 mg/kg orally) in combination with intramuscular morphine reduced postoperative morphine consumption following mastectomy when compared with placebo.¹⁸⁷ However, pain scores in dogs undergoing hemilaminectomy or limb amputation, and treated with gabapentin in combination with other analgesics, did not differ from those treated with placebo and other analgesics.^{186,189} The concomitant administration of other analgesics is a confounding factor in these studies. In a study performed in the authors' laboratory, dogs with naturally-occurring neuropathic pain had lower pain scores when treated medically with gabapentin alone (10 mg/kg orally every 8 hours for 7 days) or in combination with meloxicam (0.2 mg/kg followed by 0.1 mg/kg/d) than baseline (Ruel & Steagall 2019, unpublished observations) (Box 2).

Box 2 – The most important features of gabapentin for acute pain management in companion animals

- Gabapentin should be administered every 6 to 8 hours orally to sustain plasma concentrations of the drug. Studies using 12-hour intervals of administration showed that gabapentin had poor response.^{186,189}
- The plasma concentrations of gabapentin associated with acute pain relief are unknown in companion animals. Based on the human literature and a study in cats,¹⁸⁸ single or double preoperative doses of 15 to 30 mg/kg orally are recommended for postoperative pain relief to reduce opioid consumption. These doses are similar to those used to facilitate transportation and veterinary examination and reduce fear responses in cage-trap cats.^{190,191}
- The following doses for chronic pain or persistent postsurgical pain have been suggested:

- Dogs: 10 mg/kg every 8 hours orally²⁰⁰
- Cats: 8 mg/kg every 6 hours orally.¹⁸²
- Adverse effects may include sedation and dizziness in humans and are usually self-limited. In companion animals, sedation and ataxia can occur. Loose stools have been reported; however, the association with the administration of gabapentin was not clearly established.¹⁸⁴ Gabapentin seems safe for companion animals.

b) Ketamine

Mechanism of Action and Pharmacology

The analgesic effects of ketamine are mostly due to its noncompetitive and nonspecific antagonism of the N-methyl D-aspartate (NMDA) receptors.²⁰⁶ These receptors are activated by 2 excitatory neurotransmitters (ie, glycine and glutamate) during sustained nociception in the dorsal horn of the spinal cord and are important in the transmission and modulation of nociceptive stimuli (ie, pain facilitation). For this reason, NMDA receptors are key players in central sensitization and cumulative depolarization (so-called wind-up).²⁰⁷ The activation of NMDA receptors occurs mostly in maladaptive and not in nociceptive pain.²⁰⁸ Subanesthetic doses of ketamine can antagonize NMDA receptors and produce antihyperalgesic effects; Ketamine is not considered a classic stand-alone analgesic. Ketamine also has effects on μ -opioid, muscarinic, monoaminergic and GABA receptors, among others, which are responsible for some of the systemic effects.²⁰⁹

Ketamine at anesthetic doses may suppress natural killer cell activity, which have been shown to promote lung and liver metastases in animal models.²¹⁰⁻²¹² On the other hand, low-dose ketamine presents some immunomodulatory effects. The drug can reverse pain-induced immunosuppression^{213,214} and can suppress proinflammatory cytokine productions (tumor necrosis factor- α and interleukines 6 and 8).²¹⁵

Clinical Use

There has been increasing interest concerning the use of ketamine, especially considering its inhalant and opioid-sparing effects, the current opioid-related public health crisis, and its wide-

spread availability. Furthermore, optimal pain relief is often difficult to achieve without significant adverse effects when using a single analgesic, thus multimodal analgesia with ketamine has been recommended in cats with major injury.^{201,216}

Subanesthetic doses of ketamine are used as a variable or constant rate infusion (CRI) for pain management in the perioperative period. The administration of single boluses alone for perioperative analgesia is uncommon due to its rapid clearance. Ketamine is mostly administered intravenously in small animal practice, and pain assessment and monitoring is required during the hospitalization. The drug is administered to prevent or treat the hyperalgesia and allodynia commonly associated with central sensitization during major surgery. After surgery, dogs and cats are then often transferred to an intermediate or intensive care unit where the infusion is continued for 24 to 72 hours postoperatively.

The activation of NMDA receptors in the central nervous system following traumatic brain injury is associated with poor prognosis. Subanesthetic doses of ketamine are administered for neuroprotection against ischemic brain injury and glutamate-induced brain injury. These low doses (2- 16 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) are not associated with increases in intracranial pressure. However, ketamine should be used with caution in these patients when ventilation is already compromised since hypoventilation (ie, increases in Paco_2) may lead to increases in intracranial pressure. Anesthetic doses of ketamine are rarely used in patients with increased intracranial pressure because indirect sympathetic activation could increase blood pressure, cerebral blood flow and cerebral perfusion pressure.

In both dogs and cats, ketamine is excreted by the kidneys, and patients with renal impairment may experience prolong effect of the drug, especially in cats. However, anecdotally, sub-anesthetic doses of ketamine infusions have been used for postoperative pain control in cats after subcutaneous urethral bypass when renal function is improving over time.

Dosage regimens usually consist of administering a loading dose (0.15-0.7 mg/kg) followed by a CRI (2-10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) (Box 3).^{217,218} Ketamine is used in combination with opioids and other analgesics (ie, systemic lidocaine and local anesthetic blocks) but rarely as a first-line analgesic for treatment of pain. Indeed, in a study, ketamine infusions did not provide adequate analgesia in

combination with butorphanol; 37.5% of dogs required rescue analgesia after ovariohysterectomy.²¹⁹ Pain scores in that study were higher in the ketamine group when compared with dexmedetomidine infusions, or a combination of lidocaine-ketamine-dexmedetomidine (LKD) infusions.

Box 3 – A practical approach to ketamine infusion in clinical practice.

- 60 mg of ketamine (0.6 mL of ketamine 10%) can be mixed in 0.5 L of a crystalloid solution. The patient will receive an infusion of 10 µg/kg/minute if the infusion is administered at 5 mL/kg/h in the intraoperative period.
- Concentrations and doses should be adjusted in the perioperative period according to fluid therapy rates.

Ketamine may also be combined with opioids to optimize inhalant-sparing effects and improve the quality of anesthesia. This has been the objective of several studies in veterinary anesthesia but one should bear in mind that higher than subanesthetic doses have been used.^{220–222} The summary of the clinical use of ketamine is presented in Box 4.

Box 4 – The most important features of ketamine and its clinical use

- Ketamine is an NMDA antagonist used for the prevention and treatment of maladaptive pain.
- Dosage regimens usually consist of administering a loading dose (0.15-0.7 mg/kg) followed by variable infusion rates (2-10 µg/kg/minute).
- Ketamine is often administered in the perioperative period by the intravenous route, and in combination with opioids, local anesthetic blocks, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (i.e. multimodal analgesia).

Evidence in Humans Related to Acute Pain

Consensus guidelines on the use of intravenous ketamine infusion for acute pain management from the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, the American Academy of Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists have been recently published.²²³ Recommendations of the consensus are summarized in Box 5. Readers should be aware that recommendations have different grades and suggestions from practice, and have low, moderate, or high level of certainty (Box 5).

Box 5 – Summary of recommendations on the use of intravenous ketamine infusion for acute pain management in humans with potential impact in companion animals

Type of patients

- Patients undergoing surgery for which postoperative pain will be severe (i.e. abdominal, thoracic surgery, and limb and spine procedures)
- Patients with opioid tolerance or dependence, especially with acute on chronic, acute exacerbation of chronic conditions
- As an adjuvant to opioid analgesics in perioperative analgesia

Dose range

- Common subanesthetic doses vary between 0.3 and 0.5 mg/kg bolus with or without an infusion (0.1-0.2 mg/kg/h or approximately 2-4 µg/kg/min). However, some studies administered up to 80 µg/kg/minute.
- The overall recommendation is not to exceed a bolus of 0.35 mg/kg and an infusion rate of 16 µg/kg/minute, with some exceptions.

Contraindications

- The human literature does not provide clear guidance on contraindications for ketamine. Therefore, contraindications are often based on the anesthetic use of ketamine (i.e. high doses) in patients with uncontrolled cardiovascular disease, pregnancy, and hepatic dysfunction.
- Contraindications for low-dose ketamine are poorly reported.

Evidence in Veterinary Medicine

Ketamine has shown to improve postoperative analgesia in dogs undergoing forelimb amputation.²¹⁸ A ketamine CRI has also been used as an adjunctive analgesic drug in cats undergoing major surgery to minimize the risk of central sensitization and to decrease opioid requirements in the intensive care unit.²⁰¹ Adverse effects have not been reported but evidence is low owing to the clinical nature and lack of opioid-based control groups in these studies. In these studies, ketamine was administered in combination with other analgesic techniques, thus it is difficult to appreciate the true analgesic benefits of ketamine for pain relief in this context. Ketamine improved feeding behavior when administered during the postoperative period using a bolus of 0.7 mg/kg followed by a CRI of 10 µg/kg/min in dogs after mastectomy.²¹⁷ However, it did not provide an opioid-sparing effect nor induce better analgesia than a control group receiving morphine intravenously in that study. A loading dose followed by a CRI of ketamine in combination with other analgesics has been associated with analgesia of longer duration in dogs undergoing ovariohysterectomy and major surgery.^{218,224}

Studies with the use of ketamine for balanced anesthesia have been published especially in terms of dose-dependent decreases in the MAC of inhalant anesthetics, in addition to its anti-hyperalgesic effects.^{220–222,225–228} For example, in the absence of a loading dose, a 10 µg/kg/min CRI reduced the MAC of isoflurane by 25%.²²⁶ End-tidal concentrations of isoflurane were reduced up to 28.9% in dogs undergoing ovariohysterectomy when a loading dose of 1 mg/kg followed by 40 µg/kg/min was administered.²²¹ Finally, a loading dose of 2 mg/kg followed by a CRI of ketamine (1.38 mg/kg/h or 23 µg/kg/min) reduced the mean MAC of isoflurane by 45% in cats.²²⁷ Therefore, doses of ketamine for inhalant anesthetic-sparing are often higher than those previously reported for analgesia.

A combination of remifentanyl and ketamine (bolus of 0.5 mg/kg followed by 30 µg/kg/minute) infusions provided clinically relevant greater isoflurane-sparing effect when compared with a control group or remifentanyl alone after ovariohysterectomy in cats.²²⁹ This effect may be

important in ill cats that do not tolerate the cardiorespiratory depression produced by inhalant anesthetics. Analgesic effects were not evaluated in the latter study.

The combination of LKD has been investigated in dogs (Box 6).^{219,221} Isoflurane requirements were significantly reduced during LKD CRI by approximately 55% when compared with controls, ketamine, dexmedetomidine or lidocaine CRI alone. However, LKD prolonged anesthetic recovery (time to extubation, time to first head lift, time to sternal recumbency and time to standing). In the clinical setting, prolonged anesthetic recoveries after LKD CRI could be prevented with the administration of an α_2 -adrenoreceptor antagonist (eg, atipamezole) to reverse the sedative and cardiovascular effects of dexmedetomidine but it would also end any analgesic effect associated with this drug. A CRI of LKD was associated with lower pain scores when compared with each drug CRI alone. None of the dogs required rescue analgesia after ovariohysterectomy, and treatment with LKD provided similar analgesia when compared with fentanyl CRI. The LKD protocol is an excellent alternative to opioids for balanced anesthesia in dogs. However, this protocol has not been evaluated in cats and should be used with caution especially considering the deleterious cardiovascular effects of lidocaine in this species.

Anesthetic recoveries after prolonged ketamine infusion rates (ie, 12 hours in MAC studies) have been reported to be rough and protracted in cats.²²⁷ However, other studies have not corroborated these findings, and it seems that subanesthetic doses of ketamine do not impair anesthetic recovery in cats in a short-term basis.²²⁹ Nevertheless, acepromazine can be administered in normovolemic cats to prevent ketamine-induced dysphoria in the early postoperative period.²²⁹

Box 6 – The use of lidocaine-ketamine-dexmedetomidine in dogs

- A loading dose (2 mg/kg) of lidocaine followed by a CRI of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$, a loading dose (1 mg/kg) of ketamine followed by a CRI of 40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ and a loading dose (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) of dexmedetomidine followed by a CRI of 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ is used.

- Boluses should be administered slowly (eg, over 60 seconds). They could be either administered before or after induction of anesthesia. The administration before induction of anesthesia may reduce the requirements of injectable anesthetics.
- Volatile anesthetic concentrations should be reduced on a case-by-case basis. Veterinarians should expect a sparing effect of 50 to 60% but could be much more profound in dogs that are sensitive to α_2 -adrenoreceptor agonists or in critical condition.
- The technique has not been studied in cats, and these patients may react differently to this drug combination. For this reason, the authors do not recommend this technique in cats until further studies are performed.

c) *Tramadol*

Mechanism of Action

Tramadol is a dual-action analgesic drug. It is a centrally acting synthetic weak opioid agonist and a serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor. Therefore, in addition to its opioid effects, tramadol produces central modulation of nociception by enhancing noradrenergic and serotonergic activity.²³⁰

Tramadol is metabolized by cytochrome P (CYP)-450 enzymes into active metabolites. The (+)-M1 metabolites bind to the μ -opioid receptor to produce analgesia and are involved in opioid-induced adverse effects. The (+)-*O*-desmethyltramadol is the most important M1 metabolite. Additionally, the (+)-M5 metabolite (*N,O*-desmethyltramadol) also contributes to the analgesic effects in some species but its clinical relevance is unknown in companion animals. There are major species differences in the metabolism of tramadol regarding the CYP450 genes and subfamilies (Box 7).

Box 7 – Species-specific differences in the metabolism of tramadol

- Tramadol is catalyzed by CYP2D6 and CYP3A4 in humans, whereas the CYP2D15 is responsible for the production of (+)-M1 metabolites in dogs.

- Both (+)-M1 and (+)-M2 metabolites are transformed into (+)-M5 metabolite in dogs, which is the major by-product of tramadol found in plasma and urine in this species. The complex metabolism of tramadol in dogs has been recently described.²³¹
- Oral, epidural and parenteral administration of tramadol does not lead to significant concentrations of the (+)-M1 metabolites (eg, *O*-desmethyltramadol) in dogs.^{232–235} On the other hand, cats produce *O*-desmethyltramadol^{236,237} and opioid-induced adverse effects may be observed.
- The formation of the *O*-desmethyltramadol is produced at much faster rate (3.9-fold) and elimination half-life is longer with higher concentrations of *O*-desmethyltramadol in cats when compared with dogs.^{237,238}
- The half-life of tramadol and the (+)-M1 metabolite is considerably shorter in dogs when compared with humans (2 hours vs 7 hours, respectively). Therefore, intervals of administration would be much shorter in canine individuals than in humans (ie, 4-6 times a day)^{239,240} making treatment difficult and limiting clinical use.

The data presented previously suggest that the analgesic efficacy and adverse effects produced by tramadol vary according to the species but also the intrinsic hepatic metabolism and genetic polymorphisms in CYP450 subfamilies. For example, the effects of tramadol can be significantly different depending on the efficiency and amount of a specific CYP450 enzyme among individuals. These differences in CYP450 phenotypes will affect the speed of metabolism and the rate of accumulation or elimination, leading to analgesic failure or effectiveness and the potential for adverse effects. Some human medical centers now use computer clinical decision support with pharmacogenomics tools to guide treatment with tramadol.²⁴¹ This is ultimately based on the individual's pharmacogenomics (ie, extensive, intermediate, or poor metabolizers) to predict the safety and efficacy of therapy.

Clinical Use

Tramadol is commonly administered for the treatment of acute and chronic pain. It is often prescribed for long-term postoperative pain. Tramadol is a Schedule IV substance per the Drug

Enforcement Agency in the United States because it has potential for abuse. The injectable formulation is used in perioperative pain management in parts of Europe and Latin America, whereas the oral formulation is mostly prescribed in North America, Oceania, and other countries in Europe. Published dosage regimens are variable in dogs and cats. Injectable tramadol (2-4 mg/kg intramuscular) is often used in combination with acepromazine in the premedication of dogs and cats. Doses of 4 to 10 mg/kg orally every 6 hours have been administered in dogs. Doses of 4 mg/kg every 6 hours orally are recommended in cats. Lower doses have been used in the treatment of feline osteoarthritis (2-4 mg/kg orally every 12 hours).⁸⁷ The clinical analgesic effects of tramadol have been a subject of substantial controversy in dogs and the causes are described in Box 8.

Box 8 – The controversy involving the analgesic effects of tramadol in dogs

- Dogs produce much lower concentrations of *O*-desmethyltramadol than other species. This metabolite is responsible for the opioid analgesic effect after the administration of tramadol.
- There is usually high individual variability in resulting plasma concentrations of the metabolites of tramadol in dogs and cats.
- Tramadol has failed to provide analgesia and antinociception in dogs in several studies (see evidence of tramadol in veterinary medicine).
- Other studies have shown an analgesic effect in the treatment of canine acute pain. However, one must consider that pain assessment was not always performed by experienced individuals or using validated pain scoring tools, and tramadol was often given in combination with another analgesic drug.
- Some studies on the use of tramadol in dogs and cats have been criticized because of poor study methodology, inappropriate dosage regimens, lack of control groups and valid models for evaluating clinical pain or antinociception, low sample size and factors that could have biased the results.
- Beyond all the controversy, the question remains: does tramadol have a place in canine pain management when administered in combination with NSAIDs or other nonopioid

analgesic techniques when compared with these drugs administered alone?²⁴² The serotonergic and noradrenergic analgesic effects produced by tramadol might produce some level of clinical analgesia that investigators have not been able to address yet. Until then, the administration of tramadol should be very judicious in dogs, with clear understanding of these limitations, and the drug should never be administered alone for pain management in dogs.

Long-term administration of tramadol produces gastrointestinal adverse effects in some individuals and sedation is commonly observed in cats.²⁴³ Oral formulations are rarely palatable and administration using this route can be an important issue in cats. Cats may salivate profusely after drug administration and therefore treatment compliance is poor. The problem is even more aggravating when dealing with compounded drugs in which quality control and evidence of effects are almost inexistent.

The risk of serotonin toxicity should not be underestimated after the administration of tramadol, especially in combination with other drugs with serotonergic effects such as other serotonin inhibitors (eg, fluoxetine and trazodone), monoamine oxidase inhibitors (eg, selegiline), and tricyclic antidepressants (eg, amitriptyline and clomipramine). This has been reported in cats and clinical signs include increased neuromuscular activity, tachycardia, fever, tachypnea, and agitation.²⁴⁴

Evidence in Humans Related to Pain

Two Cochrane meta-analyses that showed that tramadol has good efficacy in the treatment of neuropathic pain and pain-induced osteoarthritis.^{245,246} Some evidence also exists for the treatment of low back pain;²⁴⁷ however the use of tramadol for the treatment of acute and postoperative pain is not clear.²⁴⁸ Owing to species differences in drug metabolism (Box 7), extrapolation from evidence in humans for veterinary use is not recommended.

Evidence in Veterinary Medicine

Tramadol failed to produce analgesia or antinociception in the canine literature, including in dogs with osteoarthritis.²⁴⁹ The drug alone did not provide adequate postoperative analgesia in dogs undergoing tibial plateau-leveling osteotomy.^{250,251} Nonsteroidal antiinflammatory drugs and pure μ -opioid receptor agonists provided better analgesia than tramadol in dogs undergoing orthopedic and ophthalmic procedures.^{252,253} The nonopioid mechanisms of action of tramadol produced limited antinociception in an acute pain model in dogs.²³³ Therefore, the overall literature has failed to demonstrate that tramadol should be administered alone for canine acute and chronic pain management. Injectable tramadol has been administered to dogs undergoing soft tissue procedures such as ovariohysterectomy, castration, and unilateral mastectomy.^{254–256} Half of dogs undergoing ovariohysterectomy required an intravenous bolus of fentanyl owing to insufficient intraoperative analgesia after tramadol.²⁵⁴ Tramadol alone did not modulate increases in cerebrocortical activity during castration when compared with morphine.²⁵⁵

Tramadol produced some analgesic effects in dogs in a limited number of canine studies.²⁵⁶ Increases in mechanical nociceptive thresholds were recorded at the 5-hour and 6-hour time points after a single dose of oral tramadol at 9.9 mg/kg in dogs.²³⁴

Tramadol may be a useful drug for acute and chronic pain in cats. Antinociception and analgesia have been reported after oral and parenteral administration of tramadol in this species.^{257–260} Parenteral administration of tramadol provided greater analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy when compared with μ -opioid receptor agonist meperidine.²⁵⁸ However, its oral palatability and dosing intervals often preclude its oral administration in feline practice. Analgesic failure has been reported after the administration of tramadol in cats, and signs of pain should be monitored.²⁵⁷

1.7 Objectifs et hypothèses

Les objectifs de la *première phase* de notre étude étaient :

- 1) Évaluer la faisabilité et la répétabilité des tests électriques, thermiques (froid) et mécaniques sur une population de chiens en bonne santé.
- 2) Évaluer la possibilité d'étudier les contrôles inhibiteurs descendants induits par une stimulation nociceptive chez le chien grâce à l'utilisation d'un stimulus conditionnant, en utilisant un test mécanique comme stimulation test.

Selon nos hypothèses, il était attendu que :

- Les stimulations nociceptives électrique, thermique (froid) et mécanique seraient faisables avec une bonne fiabilité intra et inter-observateurs chez les chiens en bonne santé.
- L'application du stimulus conditionnant élèverait le seuil mécanique mesuré après lui.

Les objectifs de la *seconde phase* de notre étude étaient :

- 1) Comparer les résultats des tests quantitatifs sensoriels et les concentrations en cytokines inflammatoires des chiens neuropathiques avec ceux des chiens en bonne santé.
- 2) Évaluer le fardeau de la douleur, les profils somatosensoriels et quantifier les cytokines inflammatoires des chiens neuropathiques avant et après l'administration de placebo, gabapentin seul ou en combinaison avec le méloxicam pour déterminer l'effet de ces traitements.

Nos hypothèses étaient alors que :

- Les chiens neuropathiques auraient des profils somatosensoriels différents de ceux des chiens en bonne santé (caractérisés par la présence d'hypo ou d'hyperalgésie) ; qu'ils présenteraient des concentrations en cytokines pro-inflammatoires supérieures à celle des chiens en bonne santé alors qu'ils auraient des niveaux de cytokines anti-inflammatoires inférieurs.

- Les traitements actifs (gabapentin et gabapentin-méloxicam) modifieraient les profils des chiens neuropathiques, amélioreraient les scores de douleur attribués par les propriétaires et la vétérinaire (comparé aux scores correspondants à la présentation initiale, et à ceux mesurés après le placebo).

2 — Publications

2.1 — Feasibility and reliability of electrical, mechanical and thermal nociceptive testing and assessment of diffuse noxious inhibitory control in dogs

Hélène LM Ruel,^{h,h} Ryota Watanabe,^{g,i} Marina C Evangelista,^{g,h} Guy Beauchamp,^j Paulo V Steagall^{g,h}

2.1.1 — Citation

Article publié dans Journal of Pain Research. 2018 Oct 23;11:2491-2496.

doi: 10.2147/JPR.S164483. eCollection 2018.

PMID: 30425561

2.1.2 — Contribution de la candidate au PhD

La candidate au PhD a été impliquée dans la conception de l'étude. Elle a également été responsable du recrutement, de l'évaluation des patients et d'effectuer les tests. Elle a contribué à la gestion des données et à l'interprétation des résultats. Enfin elle a rédigé ce manuscrit qui a ensuite été relu par l'ensemble des co-auteurs.

^h Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

ⁱ GREPAQ (Quebec Animal Pharmacology Research Group), Department of Veterinary Biomedical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

^j Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

2.1.3 — Abstract

Purpose: Quantitative sensory testing has been used to assess the somatosensory system. This study aimed to evaluate the feasibility and reliability of electrical (ENT), mechanical (MNT) and thermal (TNT) nociceptive testing and the effect of a conditioning stimulus on MNT.

Patients and methods: Sixteen healthy client-owned dogs were included in this study. Stimulation was applied bilaterally to the dorsal and plantar aspect of the metacarpus and metatarsus respectively, using transcutaneous electrical stimulator, algometry and a cold nociceptive device in a randomized order until a behavior response was observed or a cut-off reached. Tests were performed twice (60 seconds apart) by two observers. Retesting was performed 5 hours later. The diffuse noxious inhibitory control was tested by comparing MNT pre- and post-conditioning stimuli. Sham-testing was performed for ENT and TNT. Statistical analysis included linear model and intra-class correlation coefficient ($P < 0.05$).

Results: Feasibility was 99% (ENT), 93.5% (MNT) and 93.6% (TNT). Data for TNT were not analyzed due to inconsistent results. Mean \pm SD were 48 ± 22.6 mA (ENT) and 11.9 ± 3.5 N (MNT). MNT was higher for thoracic than for pelvic limbs ($P = 0.002$). Conditioning stimulus increased MNT ($P = 0.049$). Inter-observer reliability was 91.4% (ENT) and 60.9% (MNT). False-positive responses were 15% (ENT) and 35.7% (TNT).

Conclusion: ENT was feasible, repeatable and superior to MNT and TNT. The assessment of the diffuse noxious inhibitory control with a conditioning stimulus showed promising results in dogs. These tools could be used in naturally-occurring disease to provide insight on their underlying mechanisms and therapeutics.

Keywords: canine; diffuse noxious inhibitory controls; electrical threshold; mechanical threshold; quantitative sensory testing; thermal threshold.

2.1.4 — Introduction

Cutaneous sensations such as pain, temperature and touch are conveyed by three ascending pathways that are part of the somatosensory system in dogs, namely the spinothalamic, the spinothalamic and the dorsal column postsynaptic tracts.¹ The somatosensory system is involved in the transmission of sensory stimuli from peripheral receptors to the cerebral cortex. Quantitative sensory testing (QST) has been used to characterize sensory nerve dysfunction and to assess the somatosensory system.² These tests use different modalities (thermal [TNT], mechanical [MNT] or electrical [ENT]) to determine nociceptive thresholds.

QST has been used to establish sensory phenotypes in people experiencing pain.³ These results have been used to predict response to therapy as part of personalized or precision medicine. For this reason, QST has gained interest in veterinary medicine and it has been studied and validated in dogs and cats with osteoarthritis^{4,5} and in dogs with thoracolumbar disc herniation.⁶ These studies concluded that QST is useful and feasible;⁵⁻⁸ however, there is a lack of strong inter- and intra-observer reliability. Test-retest reliability has been evaluated in dogs with osteoarthritis and showed great individual variability over time.⁹ In addition, sham-testing is important to exclude potential false-positive responses in any nociceptive threshold testing. To the authors' knowledge, the latter has not been described for different QST modalities in dogs.

The aim of this study was to evaluate the feasibility and repeatability of electrical, thermal (cold) and mechanical nociceptive stimulation in healthy dogs, including sham-testing, for the first two modalities. In addition, the ability of a conditioning stimulus to assess the diffuse noxious inhibitory control (DNIC) using MNTs was tested. The hypothesis of this study was that electrical, thermal and mechanical nociceptive stimulation would be feasible with good intra- and inter-reliability in healthy dogs. The authors speculated that the conditioning stimulus would significantly increase MNT.

2.1.5 — Materials and Methods

This study was approved by the Animal Care Committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal (16-Rech-1835), according to the Canadian Council of Animal Care

guidelines. The study was performed at the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire between October and December 2016.

Animals

Sixteen healthy client-owned dogs were recruited in a prospective, blinded, randomized clinical trial after obtaining owner's written consent. Patients were included if they were considered healthy based on physical, orthopedic and neurological examinations performed by the same observer (HLMR). Inclusion criteria included age (1–9 years old) and body weight (≥ 5 kg). Exclusion criteria included pregnancy, lactation, aggression, anxiety, systemic disease (including obesity; body condition score $>7/9$), previous history of cancer/tumor removal, pacemaker placement, signs of pain or administration of analgesics 30 days prior to recruitment. Owners were asked to fill out a questionnaire to rule out issues with quality of life and chronic pain (Canine Brief Pain Inventory [CBPI]).¹⁰ Additionally, two observers assessed each dog separately and filled out the short-form Glasgow Composite Pain Measure Scale (CPMS-SF)¹¹ before the experiments had begun. A total CPMS-SF score above the analgesic intervention score (6/24)¹¹ was considered as an exclusion criterion. Dogs were admitted in the morning before the experiments and housed individually in kennels. Bedding and water ad libitum were provided.

Observers

Two veterinarians (observers; Obs1 and Obs2) were involved with QST in this study. These observers were responsible for identifying the behavioral response to nociceptive stimuli and for the application of mechanical nociceptive stimulation. They were not aware of stimuli intensity during testing. A third veterinarian who was not blinded to stimuli intensity was responsible for controlling thermal and electrical nociceptive stimulation (including sham-testing), randomization and compilation of results. This individual was also responsible for terminating the stimuli once cut-off was reached, or when a behavioral nociceptive response was identified by the first two observers. Both observers were unaware of randomization for sham-testing.

Quantitative somatosensory testing

QST was performed in the morning (first period) and repeated 5 hours later (second period) to evaluate intra- and inter-observer reliability of each nociceptive testing. Dogs were acclimated to

the testing room for 10 minutes prior to the experimentation and had free access to water. Stimuli were applied on the dorsal aspect of the metacarpus and the plantar aspect of the metatarsus above the plantar pad bilaterally after clipping. These sites correspond to consistent autonomous zone of the radial and tibial nerve, respectively.¹² Each observer repeated each QST modality twice (replicates) within the same period (60 seconds apart) for all limbs. The sequence of nociceptive testing, the order of the observers and the side (left or right) to be stimulated were randomized according to a random permutation generator (www.randomization.com). The latter was also used to randomly allocate the sham over the two periods (first or second period) of measurements for each observer. Dogs were kept in either a semi-sternal position or lateral recumbency over a mat during experiments to minimize handling.

Endpoints during nociceptive stimulation were characterized by behavioral responses including voluntary movement of the limb away from the probe, looking at the probe, vocalization or when a cut-off was reached.⁷ Rhythmic muscle contractions, withdrawal reflexes, or movement of a non-stimulated limb were not considered as positive responses. The following modalities of QST were used in this study:

A. Transcutaneous electrical nerve stimulator (TENS) for testing ENT – two self-adhesive electrodes (Dura-stick® round 1.25”, Chattanooga, Guildford, Surrey, UK) using a thin layer of conductivity gel were placed on the skin at the site of stimulation and secured in place with medical tape. The mode (VMS™) was selected and delivered a symmetrical biphasic waveform with a 100 µsec interphase. Settings were then adjusted to a CC mode using a frequency of 200 Hz, phase duration 20 µsec and ramp 0 seconds (Intelect® Vet two channel combo unit, Chattanooga, Guildford, Surrey, UK). The current was increased gradually until a nociceptive behavioral response was observed, or until the cut-off of 150 mA was reached. Sham-testing was performed by falsely turning the knob without increasing the current. Sham-stimulation was stopped when a nociceptive response was detected by the observers or after 2 minutes.

B. TNT — a thermal probe (NTE-2A, Physitemp Instruments Inc., Clifton NJ, USA) was applied perpendicular to the surface of the skin at a temperature of 25°C. The temperature was then decreased to 0°C so that the probe temperature gradually decreased to 0°C. The temperature at

which the dog responded to cold stimulation was recorded. If no response was observed, the test was stopped when the probe temperature reached 0°C to avoid tissue damage. Sham-testing was performed by disconnecting the probe from the controller so that it remained at room temperature.

C. MNT testing – MNT was tested using a commercial algometer (Bioseb, Vitrolles, France). An increasing pressure was applied with a flat tip (diameter of 3.5 mm) perpendicular to the surface of the skin until a response was observed (MNT) or a cut-off pressure of 20 Newtons (N) reached. This device did not allow sham-testing.

D. Assessment of DNIC – the endogenous pain inhibitory pathway was tested by comparing MNT (test stimulus) before (recorded during MNT testing as above) and after the application of a conditioning stimulus. Similarly to a technique previously described in human medicine,¹³ a neonatal blood pressure cuff was placed over the thoracic limb to be tested and inflated up to 200 mmHg for 60 seconds. The pressure was released and MNT was recorded 3 minutes later. This test was not randomly allocated and was performed last in all dogs to avoid interference with other nociceptive testing. The order of the thoracic limb tested (left or right) was randomized and one limb was tested in the first period whereas the contralateral limb was tested in the second period.

Feasibility

Each QST measurement was evaluated for feasibility using a scale from 0 to 2 as similarly described.⁷ A score of 0 was given when there was a lack of cooperation or when the observer lack confidence in the data collected. A score of 2 corresponded to a combination of a clear response to the stimulus and strong confidence in the data collected. The score of 1 was given when the response was fairly clear or, when the observer was not entirely sure that the response corresponded to the stimulus.

Statistical analysis

Data analyses were performed using SAS (version 9.3; SAS Institute, Cary, NC, USA). Feasibility was expressed as a percentage corresponding to the number of measurements with scores 1 and

2, divided by the total number of measurements (excluding sham-testing) for each nociceptive testing. Nociceptive thresholds were expressed as mean \pm SD (scores 1 or 2 for both limbs and observers). Cut-off values were included in the statistical analysis when nociceptive behavioral responses were not observed during stimulation. The scores 1 and 2 for feasibility and reliability were analyzed together while scores 0 were excluded from further analysis. Intra- and inter-observer reliability and replicate repeatability were calculated using an intra-class correlation coefficient. Replicate repeatability was calculated using data from the first period of measurements. These results were expressed as ranges. For inter-observer reliability, results of all limbs for both periods (first and second set of measurements; 5 hours apart) were pooled together for each observer. A linear model for repeated measures with limb as a within-subject factor was used to test the effect of limbs (thoracic vs pelvic) on ENT and MNT; results for both observers and periods (first and second set of measurements; 5 hours apart) were pooled together. A linear model for repeated measures with observer, time (before vs after conditioning stimulus) and site of stimulation (left thoracic limb vs right thoracic limb) as within-subject factors was used to analyze the effect of the conditioning stimulus on MNT. This model was repeated using scores 2, as only one measure was taken for this test after the conditioning stimulus. For all comparisons, $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

2.1.6 — Results

Animals

Sixteen healthy client-owned dogs (six males and ten females) were included. Mean \pm SD (range) for age and body weight was 4.8 ± 2.1 years (2–9 years) and 32 ± 16.7 kg (5.5–65.5 kg), respectively. The cumulative score for the severity domain and the interference domain of the CBPI was 0 for all dogs. The part “overall impression” of the CBPI ranged from excellent ($n=14$) to very good ($n=2$). The scores for CPMS-SF ranged from 0 to 2.

Feasibility

Minimal restraint was required to perform QST. In one case, the second set of measurements for MNT could not be performed because the dog became restless. Feasibility was 99% for ENT, 93.5% for MNT and 93.6% for TNT.

Quantitative Sensory Testing

Mean \pm SD for all limbs, observers and periods was 48.0 \pm 22.6 mA for ENT; 11.9 \pm 3.5 N for MNT and 8.5 $^{\circ}$ C \pm 2.2 $^{\circ}$ C for TNT (with exclusion of scores 0 and those cases where cut-off was reached for TNT without a behavioral response). Data for both observers and periods are presented in Table 7. Data could not be analyzed for TNT because results were inconsistent among dogs and many dogs did not respond to cold stimulation. MNT was significantly higher for the thoracic when compared with the pelvic limb ($P=0.002$) (thoracic limb: 12.6 \pm 3.6 Newtons (N); pelvic limb: 11.3 \pm 3.6 N), but there was no effect on site of stimulation for ENT. Sham-testing showed that 15% and 35.7% of ENT and TNT, respectively, were false-positive responses.

Tableau 7. – Mean \pm SD for electrical and mechanical nociceptive thresholds for thoracic and pelvic limbs using data from observers and period

Nociceptive stimulus	1 st period		2 nd period		
	Thoracic limb	Pelvic limb	Thoracic limb	Pelvic limb	
ENT (mA)	Obs ₁	51.1 \pm 30.2	47.6 \pm 30.8	43.3 \pm 21.1	44.8 \pm 20.9
	Obs ₂	55.4 \pm 30.5	43.1 \pm 24.4	49.0 \pm 23.8	46.0 \pm 27.2
MNT (N)	Obs ₁	12.0 \pm 4.7	10.3 \pm 3.6	10.2 \pm 3.2	10.3 \pm 4.6
	Obs ₂	14.6 \pm 3.8	12.4 \pm 5	12.9 \pm 4.7	11.9 \pm 4.2

Notes: First period, morning; second period, afternoon.

Abbreviations: ENT, electrical nociceptive threshold; mA, milliamps; MNT, mechanical nociceptive threshold; N, newton; Obs1, observer 1; Obs2, observer 2.

The conditioning stimulus was not significant ($P=0.15$) when first assessed using both scores 1 and 2. Values were significantly higher when the left thoracic limb was tested when compared with the contralateral limb (leftbefore: 13.3 \pm 4.1 N; leftafter: 14.6 \pm 4.3 N; rightbefore: 12.1 \pm 4 N; rightafter: 12.5 \pm 4.8 N) ($P=0.04$), but not between the two observers ($P=0.14$). A significant difference was recorded when data were analyzed using scores 2 only (before stimulus: 12 \pm 4.7 N; after stimulus: 14.3 \pm 4.2 N) ($P=0.049$)

Intra-observer reliability

Intra-observer reliability for each limb ranged from 20.4%–70.4% for Obs1 and from 14.1%–56.4% for Obs2 using ENT, and 0%–71.5% for Obs1 and 39.9%–82.9% for Obs2 using MNT.

Replicate repeatability

The replicate repeatability for each limb ranged from 56.1%–93.7% for Obs1 and from 29.6%–86.8% for Obs2 using ENT, and 26.8%–70.4% for Obs1 and 48.8%–88.4% for Obs2 using MNT.

Inter-observer reliability

Inter-observer reliability was 91.4% for ENT and 60.9% for MNT.

2.1.7 — Discussion

This study provides new insights on QST in healthy dogs. Information on ENT, MNT, TNT and the ability of a conditioning stimulus to assess the endogenous DNIC is reported as a new modality of QST in this species. The percentage of false-positives via sham-testing was also shown for ENT and TNT in addition to feasibility and reliability, and the replicate repeatability of each modality. Unlike previous studies, a score was attributed to each single measurement and feasibility was excellent¹⁴ for all modalities, which confirms that QST is practical and attainable even in untrained client-owned dogs.

The application of a conditioning stimulus increased MNT when only scores 2 were considered for analysis. Similar observations have been reported in monkeys,¹⁵ rats^{16,17} and cats.¹⁸ The assessment of DNIC is a relatively new QST modality in veterinary medicine.¹⁹ Briefly, the DNICs are evoked by a painful stimulus and are responsible for the immediate and transient increase of nociceptive thresholds.^{16,20} The conditioning stimulus is commonly applied in a remote location from the testing site and produces inhibitory responses at spinal and supraspinal levels. Therefore, changes in thresholds (ie, increased MNT in this study) are normally observed using a remote body location where stimulus is not applied (ie, contralateral limb). On the other hand, an ipsilateral conditioning stimulus (applied at a suprasegmental location in relation to where the test stimulus was conducted) was preferred in this study so patients would not have to be moved from one decubitus to the other. A previous study showed that the DNIC can be activated by the

application of a conditioning stimulus both from a remote location on the contralateral or ipsilateral side,²¹ therefore our results are valid independent of the testing site.

Current recommendations on conditioned pain modulation testing state that the test stimulus should be performed shortly after the conditioning stimulus.²² MNT was measured 3 minutes after the conditioning stimulus to allow restoration of blood flow and normalization of skin temperature. It was judged to be sufficient to assess the DNIC and consequent changes in MNT. This study showed that the use of a conditioning stimulus and MNT are valuable in the assessment of DNIC as a novel QST modality in veterinary medicine. Future studies should be designed to identify the role of DNIC testing in dogs with osteoarthritis and neuropathic pain and in the study of underlying pain mechanisms and therapeutics.

Cold sensory testing (TNT) has been reported to have a low rate of responders following a stimulus at a fixed temperature of 0°C.⁷ This study showed that using a ramped thermal nociceptive stimulus increased this response rate of healthy dogs. For comparison, the response rate obtained in the present study (all scores included) was 25.6% and 21.1% in the first and second period respectively, whereas the aforementioned study reported a response rate of 13.2% at the level of the plantar metatarsal region.⁷ This difference could also be explained by the fact that the testing sites were clipped in the present study, whereas authors applied the probe on unclipped areas in the previous study.⁷ Nevertheless, the response rate is overall low with a high percentage of false-positive responses for TNT (35.7%). The effect of observer, testing site or reliability could not be tested for TNT due to missing data and inconsistent response among subjects. Both observers provided lower scores during measurement which could show that behavioral changes associated with cold sensory testing are subtle and might require a complex learning curve. Another challenge in TNT testing was related to the device used. Decreases in probe temperature were faster than usually described in cold nociceptive testing in humans.²³ Slower changes in temperature ramping (1°C/second) could have improved the response rate and provided more robust results for this modality since the rate of temperature changes affects sensory thresholds in humans.²⁴

TENS has been used in conscious healthy dogs.^{25,26} However, the modality is not commonly used in QST, which makes data comparison with other studies difficult. Different waveforms were applied in previous studies even when using similar testing sites and current frequencies.²⁶ The VMS™ mode was used in this study and is characterized by short pulse duration that is designed to be more comfortable to the patient and suitable for application of high intensities. A gradual increase in current every 2 seconds was safe and well tolerated with excellent inter-observer reliability. Feasibility was excellent and superior to MNT and TNT. Additionally, stimulation requires minimal restraint and stress to the patient, and consistent behavior responses can be observed from a distance. Sham-testing revealed low false-positive responses associated with this modality. However, replicate effect was moderate and intra-observer repeatability was poor. This could suggest that individual variability can be commonly observed with TENS for ENT testing.

MNT values were consistent with findings using similar protocols and device.^{7,27} It has been shown that body weight influences MNT which could explain why higher nociceptive thresholds were recorded with this modality when compared with a previous study.⁷ However, feasibility was greater than previously reported,⁷ which could be related to the observers' ability to interpret behavioral changes associated with stimulation. Overall the technique was easy to perform and well-tolerated with moderate inter-observer reliability, which is consistent with other studies.^{6,7,27,28} Additionally, MNT was significantly higher on the first set of measurements when compared to subsequent periods in a different study.⁶ The present study does not corroborate this finding. However, intra-observer repeatability and replicate effect for MNT was observer-dependent and one could simply hypothesize that Obs2 was more consistent with measurements than Obs1 in this study. A statistical difference was found between thoracic and pelvic limbs thresholds but the magnitude of the difference was small. It was most likely due to technique-related variability and further studies are required to evaluate the possible clinical relevance of this finding.

2.1.8 — Conclusion

This study provides additional information on QST in dogs using ENT, MNT and TNT. The use of a conditioning stimulus to assess the endogenous DNIC has also been reported with interesting

results for future reference. Sham-testing allowed the assessment of false-positive responses with ENT and TNT. The study of QST using similar settings, modalities and laboratory conditions in dogs with naturally-occurring disease is warranted. It could provide valuable insight on the study of underlying mechanisms of disease and therapeutics.

2.1.9 — Conflict of interest statement and Acknowledgements

Hélène LM Ruel is the recipient of the Mitacs Accelerate Program which is partly sponsored by Boehringer Ingelheim. The authors report no other conflicts of interest in this work.

This study was supported by Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd and Mitacs through the Mitacs Accelerate Program, and the American Kennel Club Canine Health Foundation (grant ID 02353-A. An abstract of this paper was presented at the Association of Veterinary Anesthetists Spring Meeting in April 2017 as an oral presentation (Manchester, UK).

2.1.10 — References

1. Uemura E. Fundamentals of Canine Neuroanatomy and Neurophysiology. 1st ed. Ames: John Wiley & Sons Incorporated; 2015.
2. Yarnitsky D. Quantitative Sensory Testing. *Muscle Nerve*. 2004;46(4):223-228.
3. Yarnitsky D, Granot M, Granovsky Y. Pain modulation profile and pain therapy: Between pro- and antinociception. *Pain*. 2014;155(4):663-665.
4. Knazovicky D, Helgeson E, Case B, Gruen ME, Maixner W, Lascelles BD. Widespread somatosensory sensitivity in naturally occurring canine model of osteoarthritis. *Pain*. 2016;157(6):1325-1332.
5. Williams MD, Kirkpatrick AE, Griffith E, Benito J, Hash J, Lascelles X. Feasibility and repeatability of thermal quantitative sensory testing in normal dogs and dogs with hind limb osteoarthritis-associated pain. *Vet J*. 2014;199(1):63-67.
6. Gorney A, Blau S, Dohse C, et al. Mechanical and Thermal Sensory Testing in Normal Chondrodystrophoid Dogs and Dogs with Spinal Cord Injury caused by Thoracolumbar

- Intervertebral Disc Herniations. *J Vet Intern Med.* 2016;30(2):627-635.
7. Briley JD, Williams MD, Freire M, Griffith EH, Lascelles BDX. Feasibility and repeatability of cold and mechanical quantitative sensory testing in normal dogs. *Vet J.* 2014;199(2):245-250.
 8. Moore S. Managing Neuropathic Pain in Dogs. *Front Vet Sci.* 2016;3(3):12.
 9. Knazovicky D, Helgeson ES, Case B, et al. Replicate effects and test-retest reliability of quantitative sensory threshold testing in dogs with and without chronic pain. *Vet Anaesth Analg.* 2017;44(3):615-624.
 10. 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;68(6):631-637.
 11. Reid J, Nolan AM, Hughes JML, Lascelles D, Pawson P, Scott EM. Development of the short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF) and derivation of an analgesic intervention score. *Anim Welf.* 2007;16(Suppl):S97-S104.
 12. Bailey CS, Kitchell RL. Cutaneous Sensory Testing in the Dog. *J Vet Intern Med.* 1987;1(3):128-135.
 13. Graven-Nielsen T, Izumi M, Petersen KK, Arendt-Nielsen L. User-independent assessment of conditioning pain modulation by cuff pressure algometry. *Eur J Pain.* 2017;21(3):552-561.
 14. Portney L, Watkins M. *Foundations of Clinical Research: Applications to Practice.* 2nd ed. New Jersey: Prentice Hall Health; 2000.
 15. Price D, Dubner R, Hu J. Trigeminothalamic neurons in nucleus caudalis responsive to tactile, thermal, and nociceptive stimulation of monkey's face. *J Neurophysiol.* 1976;39(5):936-953.
 16. Le Bars D, Dickenson HA, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain.* 1979;6(3):283-304.
 17. Dickenson AH, Rivot J-P, Chaouch A, Besson J-M, Le Bars D. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in the rat with or without pCPA pretreatment. *Brain Res.* 1981;216(2):313-321.
 18. Morton CR, Du HJ, Xiao HM, Maisch B, Zimmermann M. Inhibition of nociceptive responses

- of lumbar dorsal horn neurones by remote noxious afferent stimulation in the cat. *Pain*. 1988;34(1):75-83.
19. Monteiro B, Moreau M, Otis ., L.P. DL, Pelletier JP, Troncy E. Quantitative sensory testing in animal models of chronic pain: A pilot study. Poster presented at: 6th International Congress of Neuropathic Pain; 2017 June 16-17; Gothenburg, Sweden.
 20. Bannister K, Dickenson A. The plasticity of descending controls in pain: translational probing. *J Physiol*. 2017;595(13):4159-4166.
 21. Pud D, Sprecher E, Yarnitsky D. Homotopic and heterotopic effects of endogenous analgesia in healthy volunteers. *Neurosci Lett*. 2005;380(3):209-213.
 22. Yarnitsky D, Bouhassira D, Drewes A, et al. Recommendations on practice of conditioned pain modulation (CPM) testing. *Eur J Pain*. 2015;19(6):805-806.
 23. Rolke R, Baron R, Maier C, et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. *Pain*. 2006;123(3):231-243.
 24. Pertovaara A, Kojo I. Influence of the rate of temperature change on thermal thresholds in man. *Exp Neurol*. 1985;87(3):439-445.
 25. Bergadano A, Andersen O, Arendt-Nielsen L, Spadavecchia C. Noninvasive assessment of the facilitation of the Nociceptive Withdrawal Reflex By Repeated Electrical Stimulations in Conscious Dogs. *Am J Vet Res*. 2007;68(8):899-907.
 26. Watabiki T, Nagakura Y, Wegner K, et al. Assessment of canine sensory function by using sine-wave electrical stimuli paradigm. *Physiol Behav*. 2010;101(3):327-330.
 27. Knazovicky D, Helgeson ES, Case B, Gruen ME, Maixner W, Lascelles BD. Widespread somatosensory sensitivity in naturally occurring canine model of osteoarthritis. *Pain*. 2016;157(6):1325-1332.
 28. Harris LK, Murrell JC, Van Klink EGM, Whay HR. Influence of experimental protocol on response rate and repeatability of mechanical threshold testing in dogs. *Vet J*. 2015;204(1):82-87.

2.2 — Pain burden, sensory profile and inflammatory cytokines of dogs with naturally-occurring neuropathic pain treated with gabapentin alone or with meloxicam

Hélène L.M. Ruel^k, Ryota Watanabe^j, Marina C. Evangelista^j, Guy Beauchamp^l, Jean-Philippe Auger^m, Mariela Segura^l, Paulo V. Steagall^j

2.2.1 — Citation

Article publié dans PLoS One. 2020; 15(11): e0237121.

Published online 2020 Nov 30.

doi: 10.1371/journal.pone.0237121

2.2.2 — Contribution de la candidate au PhD

La candidate au PhD a été impliquée dans la conception de l'étude. Elle a également été responsable du recrutement et de la gestion médicale des patients (examen physique et neurologique; requêtes et coordination des examens complémentaires, établissement du diagnostic et gestion des complications/détérioration de l'état médical des patients le cas échéant). Elle était par ailleurs en charge des communications avec les propriétaires ainsi que d'effectuer les tests. Elle a contribué à la gestion des données et à l'interprétation des résultats. Enfin, elle a rédigé ce manuscrit qui a ensuite été relu par l'ensemble des co-auteurs.

^k Department of Clinical Sciences, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

^l Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

^m Research Group on Infectious Diseases in Production Animals (GREMIP) and Swine and Poultry Infectious Diseases Research Centre (CRIPA), Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, J2S 2M2, Canada

2.2.3 — Abstract

Canine neuropathic pain (NeuP) has been poorly investigated. This study aimed to evaluate the pain burden, sensory profile and inflammatory cytokines in dogs with naturally-occurring NeuP. Twenty-nine client-owned dogs with NeuP were included in a prospective, partially masked, randomized crossover clinical trial, and treated with gabapentin/placebo/gabapentin-meloxicam or gabapentin-meloxicam/placebo/gabapentin (each treatment block of 7 days; total 21 days). Pain scores, mechanical (MNT) and electrical (ENT) nociceptive thresholds and descending noxious inhibitory controls (DNIC) were assessed at baseline, days 7, 14, and 21. DNIC was evaluated using Δ MNT (after-before conditioning stimulus). Positive or negative Δ MNT corresponded to inhibitory or facilitatory pain profiles, respectively. Pain scores were recorded using the Client Specific Outcome Measures (CSOM), Canine Brief Pain Inventory (CBPI), and short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF). Data from baseline were compared to those of sixteen healthy controls. Δ MNT, but not MNT and ENT, was significantly larger in controls (2.3 ± 0.9 N) than in NeuP (-0.2 ± 0.7 N). The percentage of dogs with facilitatory sensory profile was similar at baseline and after placebo (61.5–63%), and between controls and after gabapentin (33.3–34.6%). The CBPI scores were significantly different between gabapentin (CBPI_{pain} and CBPI_{overall impression}) and/or gabapentin-meloxicam (CBPI_{pain} and _{interference}) when compared with baseline, but not placebo. The CBPI scores were not significantly different between placebo and baseline. The concentration of cytokines was not different between groups or treatments. Dogs with NeuP have deficient inhibitory pain mechanisms. Pain burden was reduced after gabapentin and/or gabapentin-meloxicam when compared with baseline using CBPI and CMPS-SF scores. However, these scores were not superior than placebo, nor placebo was superior to baseline evaluations. A caregiver placebo effect may have biased the results.

2.2.4 — Introduction

Neuropathic pain (NeuP) is caused by a lesion or disease of the somatosensory system.¹ Its diagnosis relies on sensory examination of nerve fibers involved in nociception/proprioception for both loss (i.e. hypoesthesia and hypoalgesia) and gain of function (i.e. hyperalgesia and allodynia) via quantitative sensory testing (QST).² In brief, QST is a psychophysical method that evaluates the somatosensory function from receptor to cortex using calibrated innocuous or

noxious stimuli. It offers useful insight into the underlying pain mechanisms and the characterization of painful conditions.³ For example, it is possible to stratify human patients with peripheral NeuP by categories of phenotypes using cluster analysis of their mechanical and thermal sensory profiles instead of a disease etiology-based classification.⁴ Therefore, response to therapy can be predicted in precision or personalized medicine based on the specific patient sensory profile.⁵ Additionally, changes in QST before and after the application of a conditioning stimulus provide useful information about the diffuse noxious inhibitory control (DNIC) as a representation of central descending modulatory pain mechanisms. The latter could predict people's response to drugs acting on central pain modulation.⁶ It has been proposed that inflammatory cytokines play a role in the development and maintenance of NeuP and could be an avenue for future therapeutic options.⁷

The diagnosis of NeuP in veterinary and cognitively-impaired human patients is a challenge. In companion animal medicine, the disease is diagnosed after appropriate physical, neurological and magnetic resonance imaging (MRI) examination, and clinical signs of pain and allodynia.⁸ In dogs, NeuP can be caused by spinal cord disease, chronic musculoskeletal conditions and peripheral neuropathies, among others. Treatment recommendations for this disease in companion animals are mostly based on case-series, review articles, anecdotal reports and scientific evidence from humans. Gabapentinoids (e.g. gabapentin) and tricyclic antidepressants (e.g. amitriptyline) have been suggested as the first line of treatment of this disease.⁸ Non-steroidal (NSAIDs) or steroidal anti-inflammatory drugs and antagonists of N-methyl-D-aspartate receptors (e.g. amantadine) have been also recommended.⁸ Thus, a combination of a NSAID (e.g. meloxicam) and gabapentin are often anecdotally used in the treatment of NeuP conditions that are refractory to therapy with gabapentin alone. However, the efficacy of these treatments for NeuP has not been systematically studied in veterinary medicine.

The aims of this study were to evaluate the pain burden, sensory profile and inflammatory cytokines of dogs with NeuP before and after treatment with placebo, gabapentin alone or gabapentin-meloxicam. The sensory (QST) and inflammatory profiles of dogs with NeuP at presentation were compared with a population of healthy controls. Pain burden was determined using clinical pain assessment tools (pet owner and veterinary assessments). The hypotheses

were that NeuP presents different sensory profile (i.e. hypo- or hyperalgesia) when compared with healthy controls and that treatment with gabapentin alone or with meloxicam alters this profile. Pain scores are expected to improve after treatment with gabapentin or gabapentin-meloxicam when compared with baseline (initial presentation) and placebo using both owner and veterinary assessments. Pro-and anti-inflammatory cytokine concentrations would be higher and lower, respectively, in dogs with NeuP than in controls. The serum concentrations of gabapentin were measured as an indirect method to assess treatment compliance.

2.2.5 — Methods

Ethical statement

This study was approved by the local animal care committee of the Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal (16-Rech-1835 and 16-Rech-1848) and was conducted between October 2016 and July 2018. The study is reported according to the CONSORT guidelines for randomized, clinical trials.⁹ This was a prospective, partially masked, randomized crossover clinical trial.

Animals

Thirty-two client-owned dogs were admitted to the veterinary teaching hospital (Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire) of the Université de Montréal. Dogs were recruited after physical and neurological examinations by a board-certified veterinary neurologist (H.L.M.R.). Owner's written consent was obtained for each patient.

Sixteen client-owned healthy control dogs (4.8 ± 2.1 years; 32 ± 16.7 kg; six males and ten females) were recruited simultaneously and their data were used for comparison. They were considered healthy based on history, physical, orthopedic and neurological examinations and did not received any analgesic treatment at least 30 days prior to recruitment. Exclusion criteria were the same as those described below for dogs with NeuP. Data for these individuals were previously reported as part of the validation of our methodology.¹⁰

Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria were based on specific body weight (≥ 4 kg), age (> 6 months) and the owner's option for medical management of NeuP. Dogs were included if the duration of painful clinical signs was ≥ 4 weeks and if a neurological lesion was found in the MRI consistent with the previous neurological examination and clinical signs of pain. Exclusion criteria included pregnancy, lactation, aggressive behavior, anxiety, history of pacemaker placement, systemic disease including chronic renal and hepatic disease, suspected immune-mediated disorders or any clinically relevant comorbidity, and significant changes in hematology and serum biochemistry analysis. Patients receiving treatments were weaned off medications at least 7 days (steroidal anti-inflammatory drugs), 24 hours (gabapentin), 72 hours (NSAIDs) and at least 60 minutes (remifentanyl) before the clinical trial had begun.

Treatments

Each dog was randomly allocated to treatment groups 1 or 2 (Table 8). Randomization was performed using balanced permutations (www.randomization.com). Each treatment was divided into three blocks of 7 days to include gabapentin or gabapentin-meloxicam (either first or third block) or placebo (always during the second block allowing a "wash-out" period between the first and third blocks). The total duration of the study was 21 days. Resting was recommended for all dogs (Fig 1).

Tableau 8. – Treatment groups of a prospective, randomized, partially masked, placebo-controlled clinical trial in dogs with naturally-occurring presumptive neuropathic pain.

	1 st block	2 nd block	3 rd block
Treatment group 1 n = 16	gabapentin (10 mg/kg every 8h, PO) + placebo tablets (every 24h, PO)	placebo capsules (every 8h, PO) + placebo tablets (every 24h, PO)	gabapentin (10 mg/kg every 8h, PO) + meloxicam (0.2 mg/kg PO followed by 0.1 mg/kg every 24h, PO)
Treatment group 2 n = 16	gabapentin (10 mg/kg every 8h, PO) + meloxicam (0.2 mg/kg PO followed by 0.1 mg/kg every 24h, PO)	placebo capsules (every 8h, PO) + placebo tablets (every 24h, PO)	gabapentin (10 mg/kg every 8h, PO) + placebo tablets (every 24h, PO)

Oral administration (PO)

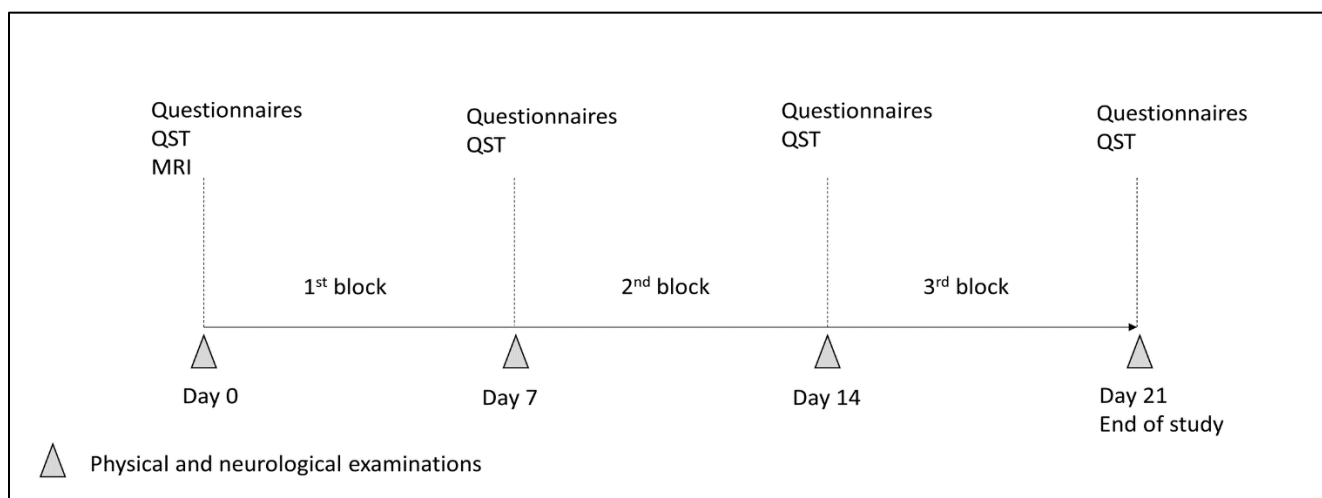


Figure 5. – Timeline of the study. Dogs were randomized to receive either treatment 1 or 2.

Pain assessment and Quantitative Sensory Testing (QST) were evaluated after each block of treatment (7 days).

Abbreviations: QST, quantitative sensory testing (including mechanical and electrical nociceptive thresholds and assessment of the descending noxious inhibitory controls); MRI, magnetic resonance imaging.

Treatments were placed in pill dispensers and given to owners one week at a time. The capsules of 50, 100, 300 mg and tablets of 600 mg of gabapentin, and tablets of 1 and 2.5 mg of meloxicam were used. Drugs were administered orally (PO) at a targeted dose of 10 mg/kg every 8 hours for gabapentin (Gabapentin, Apotex®, Canada) and 0.2 mg/kg once followed by 0.1 mg/kg every 24 hours for meloxicam (Metacam, Boehringer Ingelheim Inc) (nearest whole capsule or up to one fourth of a tablet). Placebo compounds of dextrose were administered in tablets and/or capsules so that owners were masked to the treatment. The board-certified veterinary neurologist who participated in the study design was masked to the first and third (active treatments), but not to the second block (placebo).

Quantitative sensory testing (QST)

QST was performed after physical and neurological examination and before the MRI at initial presentation (baseline, day 0) and following each treatment block (days 7, 14 and 21) (Fig 1).

Dogs were acclimated to the testing room for 10 minutes before the experimentation and had free access to water. For QST, they were positioned either in semi-sternal position or in lateral recumbency over a mat.¹⁰ Nociceptive stimulations were stopped as soon as behavioral changes in response to stimuli were observed (looking at the probe, voluntary movement away from the probe, attempts to bite, etc.).¹⁰

The feasibility, intra- and inter-observer reliability, test-retest and sham-testing of our QST methodology have been previously reported.¹⁰ Stimulation was applied to the dorsal aspect of the metacarpus and the plantar aspect of the metatarsus above the plantar pad bilaterally after clipping. The order of QST modality (electrical nociceptive thresholds, ENT; mechanical nociceptive thresholds, MNT), the limb and the side (right/left) of stimulation were randomized according to a random permutation generator (www.randomization.com). The observer graded each response to QST as poor (score 0), fair (score 1) or good (score 2).¹⁰ Replicates were obtained 60 seconds apart. If one of the responses received a score of 0 or 1, a third measurement was obtained 60 seconds later. Results with score 0 were not considered for statistical analysis. Outcome data for MNT and ENT were the mean of all measurements from all limbs, obtained with a score ≥ 1 .

Electrical nociceptive thresholds — The stimulation was provided using a transcutaneous electrical nerve stimulator (TENS unit; Intellect® Vet two channel combo unit, Chattanooga, Guildford, Surrey, UK) in the VMS™ mode (View, Tempe, AZ, USA). The stimulation was delivered via two adhesive electrodes and consisted in a symmetrical biphasic waveform with a 100 μ sec interphase. Settings were adjusted to a CC mode using a frequency of 200 Hz, phase duration of 20 μ sec and a ramp of 0 seconds. The current was increased gradually until a behavioral response was observed, or until the cut-off of 150 mA was reached after 2 minutes.

Mechanical nociceptive threshold (MNT) and diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) — For MNT, increasing pressure was applied perpendicular to the skin with an algometer (Bioseb, Vitrolles, France) with a flat tip of 3.5 mm diameter until a behavioral response was observed or the cut-off of 20 N reached.

The assessment of DNIC was based on the difference in MNT applied to one of the thoracic limbs before and after a conditioning stimulus. The conditioning stimulus was performed by placing an adult blood pressure cuff around the humerus and inflated it up to 200 mmHg for 60 seconds using a sphygmomanometer. After 3 minutes, the MNT was repeated on the same limb. The Δ MNT (after–before conditioning stimulus) was used as an outcome for the assessment of DNIC. When MNT was not obtained either pre- or post-conditioning stimulus for a dog, Δ MNT was not recorded. The percentage of positive and negative Δ MNT was calculated for each group. The DNIC was applied to the “least affected thoracic limb”. The latter was based on neurological examination and localization of the lesion on the MRI. Increases in MNT after the conditioning stimulus are expected in healthy individuals with functional DNIC (i.e. functional inhibitory conditioned pain modulation), based on the “pain-inhibits-pain” paradigm.¹¹

The board-certified veterinary neurologist had previous training in QST in dogs.¹⁰ This individual was responsible for identifying behavioral changes associated with nociceptive stimulation. This observer was not aware of stimuli intensity during testing. Two other individuals (M.C.E., R.W.) were involved in the QST: one was responsible for mild restraint of dogs during testing whereas the other controlled the electrical stimulation as previously reported.¹⁰ They were also both responsible for randomization, recording nociceptive thresholds, preparation of the pill dispensers and compilation of results.

Pain assessment tools (questionnaires)

At each visit (days 0, 7, 14 and 21), dog owners were asked to complete the client specific-outcome measures (CSOM)¹² and the French version of the Canine Brief Pain Inventory (CBPI).^{13,14} To complete the CSOM, owners listed three activities that were impaired due to pain or that elicited pain (e.g. getting up from lying down, jumping into the owner’s car). The degree of difficulty to perform each activity (no problem, mildly problematic, moderately problematic, severely problematic or impossible) was followed weekly. The CBPI assesses pain severity, interference of pain on function (locomotion) and the owner’s global impression about the dog’s quality of life (“overall impression”). For “interference”, questions regarding the dog’s ability to run and to climb stairs were excluded since resting was recommended during the study.

Therefore, the sections “pain” (CBPI pain) and “interference” (CBPI interference) contained each four questions scored on a 10-point scale (higher scores corresponding to greater difficulties/pain). The “overall impression” (CBPI overall impression) was graded as poor, fair, good, very good and excellent. Additionally, the short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale [CMPS-SF]¹⁵ was completed at each visit by the veterinarian.

During the study, inadequate analgesia could be reported by the owners if they felt that clinical signs of pain persisted and were similar to presentation. In that case, a re-evaluation was scheduled at the earliest convenience and physical/neurological examination, pain scoring and QST repeated. If analgesic failure was observed with gabapentin-meloxicam during the first block, the dog was excluded from the trial. If it happened during the second block (placebo), the third block would start immediately. If it occurred during the third block, the study was finalized, and the dog treated according to the clinician’s discretion. If owners reported pain during the withdrawal period (before entering the study), dogs were hospitalized to receive an intravenous infusion (CRI) of remifentanyl as needed to alleviate pain until the study could be started. Initial assessment would then be performed at least 60 minutes after the cessation of the administration of remifentanyl. The choice of this drug as rescue analgesia was based on recent evidence that remifentanyl was not associated with opioid-induced hyperalgesia in dogs and the convenience of its short half-life, allowing testing shortly after the cessation of the CRI and thus, minimizing the period without treatment of pain for the patient.¹⁶

Serum concentrations of gabapentin and inflammatory cytokines

Blood was collected by venipuncture into a sterile 3 mL anticoagulant-free glass tube (Monoject Blood Collection Tube; Covidien Canada, Saint-Laurent, QC, Canada) at each visit (day 0, 7, 14 and 21). Samples were allowed to clot at room temperature for at least 30 minutes before being centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. Subsequently, serum was aliquoted and stored at -70°C in cryovials. Gabapentin was extracted from dog serum using a protein precipitation technique, separated by chromatography and then identified by mass spectrometry. (S1 File).

Serum samples were analyzed for concentrations of GM-CSF, IFN- γ , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IP-10, KC-like, IL-10, IL-18, MCP-1, and TNF- α using a pre-mixed Milliplex 13-plex Canine Magnetic Bead Panel (Millipore, Burlington, USA) according to the manufacturer's instructions. Acquisition was performed on the MAGPIX platform (Luminex[®]) and data analyzed using the MILLIPLEX Analyst 5.1 software (Upstate Group/Millipore). Standard curves and quality control checking were performed. Analytes with more than 50% out of range concentrations were excluded from statistical analyses. Cytokines of dogs with visible inflammatory conditions (severe oral inflammatory disease, dermatological problems such as skin allergies and otitis) were excluded from the statistical analysis.

Statistical analysis

Data were analyzed using SAS (version 9.3; SAS Institute, Cary, NC, USA). A mixed linear model was used to analyze ENT, MNT and Δ MNT with treatment as the main effect and sex, age and body weight as covariates and dog ID as random effect. A mixed linear model was also used to assess the effects of treatment order with treatments and treatment order as main effects and age, sex and body weight as covariates. Additionally, a linear model was used to compare ENT, MNT and Δ MNT between healthy controls and NeuP using age, sex and body weight as covariates. The level of statistical significance was set at 5%. Incomplete questionnaires for pain assessment were excluded from the analysis. For the CSOM, responses were converted into a numerical scale ranging from 1 to 5, as previously described,¹² with 1 = no problem, 2 = mildly problematic, 3 = moderately problematic, 4 = severely problematic, and 5 = impossible. The total CSOM score represented the sum of scores for each of the three activities.

Each section of the CBPI (namely CBPI pain, CBPI interference and CBPI overall impression) was analyzed separately. Grades for CBPI overall impression (poor, fair, good, very good and excellent) were translated to rank scores from 1 to 5 (poor: 1 to excellent: 5). Data for CBPI overall impression were analyzed with the Mantel-Haenszel chi-square followed pairwise comparisons using the sequential Benjamini-Hochberg procedure to adjust alpha levels. Data from CSOM, CBPI pain and CBPI interference and CMPS-SF were analyzed using a mixed linear model with treatment as the main effect and age, sex and body weight as covariates followed by Tukey's post-hoc tests when appropriate.

Data for serum concentrations of inflammatory cytokines were normalized using log₁₀ transformation and compared afterwards. When measures obtained were out of range, they were replaced by the lowest value extrapolated by the software minus 0.01 in order to avoid missing data (and inherent bias). Cytokine analyses were performed using nonparametric test when the distribution of data remained asymmetrical after log₁₀ transformation (TNF- α). Otherwise, linear models were used (GM-CSF, IFN- γ , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IP-10, KC-like, IL-10, IL-18, MCP-1). Comparisons between treatments were performed using mixed linear models for all analytes, except for TNF- α , where Friedman test was used. The association between concentrations of cytokines and pain scores was assessed with Spearman correlation for CMPS-SF and CBPI overall impression which displayed a non-normal distribution and represented ordinal data. Furthermore, considering the absence of treatment effect on cytokine levels, data from NeuP and controls were pooled together to increase the sample size and avoid repeated measures for these parameters. Mixed linear models were used to analyze the association of all cytokine concentrations (except TNF- α) and CBPI pain, CBPI interference and CSOM, after log₁₀ transformation of the data. Friedman test was used to analyze these associations for TNF- α which followed a non-normal distribution. When linear models were used, age, sex, and weight were considered as co-factors. For the associations with CBPI pain, CBPI interference and CSOM, the control group was excluded because all data for CBPI were equal to zero and the CSOM was not part of the assessment of the control population.

2.2.6 — Results

Animals

Three dogs were excluded for the following reasons: suspected immune-mediated disease of the central nervous system, mast cell tumor diagnosed on day 21 and significant serum levels of gabapentin measured during the placebo period (treatment error; Fig 6), respectively.

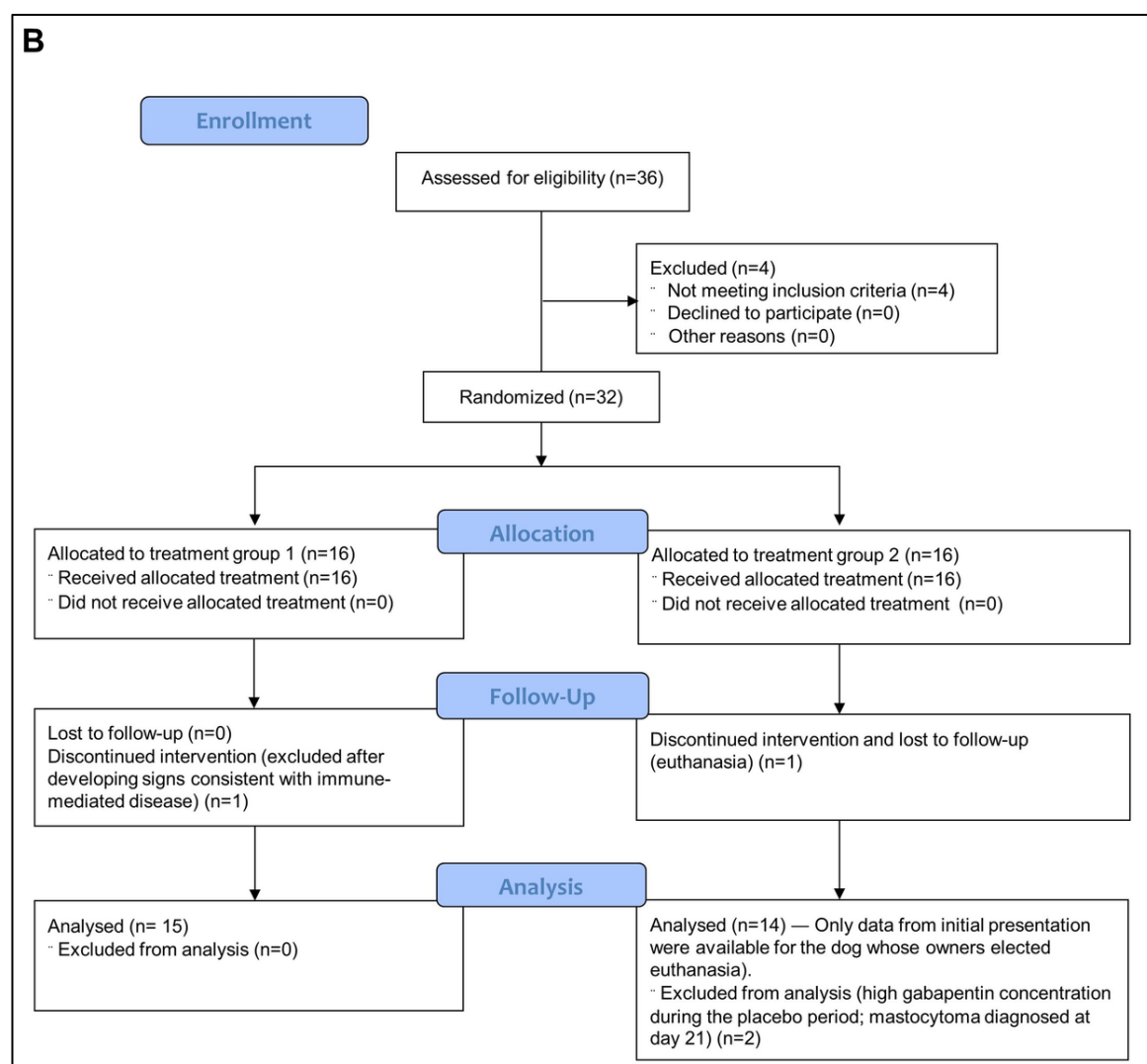
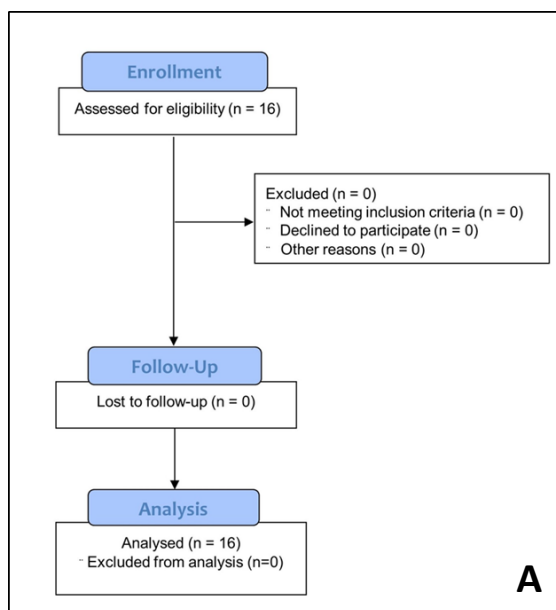


Figure 6. – CONSORT Flow Diagram showing the flow of a) healthy dogs and b) dogs with neuropathic pain through the study.

Twenty-nine dogs completed the study (mean age \pm SD: 6.6 \pm 3.0 years and mean body weight \pm SD: 27.0 \pm 18.5 kg; 21 males and 8 females) (Fig 2). Breeds included Bernese Mountain Dog (n = 6), Cavalier King Charles Spaniel (n = 5), Labrador Retriever (n = 4), Siberian Husky (n = 2), mixed-breed (n = 2), Poodle Toy (n = 1), Golden Retriever (n = 1), Polish Tatra Sheepdog (n = 1), Wire Fox Terrier (n = 1), Boxer (n = 1), Pug (n = 1), Longhaired Dachshund (n = 1), Basset Hound (n = 1), Beagle (n = 1) and Pomeranian (n = 1). Duration of pain prior to enrollment ranged from 1 to 60 months according to the owner's report with a median of 12 months. Pain-associated conditions diagnosed by MRI included spondylomyelopathies, lumbosacral syndromes, intervertebral disk disease with or without discospondylitis, Chiari malformations, congenital vertebral malformation, nerve sheath tumor and meningeal tumor. Dogs had at least one of the above lesions in the MRI. Dogs with NeuP were older than controls (P = .021) but there was no difference for body weight (P = .36). There were significantly more males in the NeuP group than in controls (72.4% versus 37.5%, P = .030).

Adverse reaction / Analgesic failure

One dog developed erythema associated with pruritus shortly after the treatment with gabapentin-meloxicam. Clinical signs subsided after meloxicam was stopped. Owners reported a history of food allergy and it was believed that the erythema could be associated with the palatable agent contained in chewable tablets of meloxicam. Results for this treatment (gabapentin-meloxicam) were excluded from data analyses, and the dog started its placebo treatment (2nd block) immediately after. Treatment with gabapentin was administered later (3rd block) and data for placebo and gabapentin were included in the analyses. Other adverse effects were not recorded with the other treatment blocks and the dog completed the study. Analgesic failure was observed in one patient with nerve sheath tumor receiving gabapentin-meloxicam in the first block. This dog was excluded from the study but data from its initial presentation were included in statistical analysis. Finally, recurrence of severe signs of pain prompted a re-evaluation in one individual with osseous-associated cervical spondylomyelopathy after 4 days into the placebo period.

Quantitative Sensory Testing

Mean \pm SEM MNT and ENT did not differ between healthy controls and NeuP at initial presentation (MNT: 10.4 ± 0.8 N and 10.6 ± 0.6 N; $P = .86$ and ENT: 49.5 ± 6.7 mA and 48.8 ± 5.2 mA; $P = .94$, respectively). There was an effect of body weight on both modalities (MNT: $P < .0001$; ENT: $P = .0055$) with higher thresholds observed in heavier dogs.

Mean \pm SEM Δ MNT was significantly larger in healthy controls than in NeuP (2.3 ± 0.9 N and -0.2 ± 0.7 N, respectively; $P = .045$). Body weight ($P = .47$), sex ($P = .88$) and age ($P = .076$) were not associated with Δ MNT.

Treatment order did not influence ENT and MNT ($P = .20$ and $P = .80$, respectively). In NeuP, ENT, MNT or Δ MNT were not affected by treatment ($P = .06$, $P = .94$ and $P = .21$, respectively), and there was no association between ENT, MNT, Δ MNT and sex ($P = .22$, $P = .90$ and $P = .99$) or age ($P = .12$, $P = .76$ and $P = .25$), respectively. Both ENT and MNT were positively associated with body weight ($p < .0001$) but not Δ MNT ($P = .50$) (Table 9).

Tableau 9. – Electrical and mechanical nociceptive thresholds (ENT and MNT, respectively) and changes in mechanical nociceptive thresholds after application of a conditioning stimulus (Δ MNT) in dogs with naturally-occurring presumptive neuropathic pain before and after each treatment period.

	ENT (mA)	MNT (N)	Δ MNT (N)
Baseline	49.5 ± 3.4 (n = 29)	10.2 ± 0.5 (n = 29)	$- 0.1 \pm 0.6$ (n = 27)
Placebo	42.3 ± 3.4 (n = 28)	10.3 ± 0.5 (n = 28)	$- 0.9 \pm 0.6$ (n = 26)
Gabapentin	38.3 ± 3.4 (n = 28)	10.1 ± 0.5 (n = 28)	0.8 ± 0.6 (n = 26)

Gabapentin-	39.7 ± 3.4	10.3 ± 0.5	0.5 ± 0.6
meloxicam	(n = 28)	(n = 28)	(n = 26)

Data shown as mean ± SEM after a mixed linear model to analyze ENT, MNT and ΔMNT with treatment as the main effect and sex, age and body weight as covariates.

The percentage of positive and negative ΔMNT was calculated for each group (healthy controls and NeuP) and after each treatment block. In healthy controls, 33.3% of the dogs had a negative ΔMNT (i.e. facilitatory profile) whereas 66.7% showed a positive ΔMNT (i.e. inhibitory profile) (Fig 3). The percentage of negative ΔMNT were as follows in NeuP: 61.5% of dogs had a negative ΔMNT at initial presentation, 34.6% after gabapentin, 53.8% after gabapentin-meloxicam and 63.0% after placebo; positive ΔMNT was recorded in 38.5% of NeuP at initial presentation, 65.4% after gabapentin, 46.2% after gabapentin-meloxicam and 37.0% after placebo (Fig 7).

Pain assessment tools

The cumulative score for the CBPI severity and interferences domains were 0 for all control dogs. The CBPI overall impression for these dogs ranged from very good (n = 2) to excellent (n = 14). The median (range) scores for CMPS-SF for control dogs were 0 (0–1) and were 5 (0–9) for NeuP. The treatment order for NeuP did not significantly change the scores of CSOM (P = .07), CBPI pain (P = .064), CBPI interference (P = .15) and CMPS-SF (P = .58). There was no association between sex and age for CSOM (P = .94 and P = .42, respectively), CBPI pain (P = .97 and P = .80, respectively) and CBPI interference (P = .81 and P = .28, respectively).

CSOM — Treatment influenced CSOM scores (P < .0001). Higher scores (more difficult to perform a given activity) were attributed by owners at presentation than after each treatment including placebo (Table 10).

CBPI_{pain} — Treatment influenced CBPI pain (P = .002). These scores were higher (more painful) at presentation than after gabapentin or gabapentin-meloxicam (Table 3).

CBPI_{interference} — Treatment influenced CBPI interference (P = .02). These scores were higher at presentation (locomotion more severely affected) than after gabapentin-meloxicam (Table 3).

CBPI overall impression — Treatment influenced CBPI overall impression (P = .0002). These scores were higher (improved overall impression) after gabapentin than at presentation (Table 3).

CMPS-SF — Treatment influenced CMPS-SF scores (P = .002). These scores were higher at presentation than after gabapentin and gabapentin-meloxicam and were higher after placebo than gabapentin-meloxicam (Table 3). Pain scores were higher in male than female dogs (P = .038).

Tableau 10. – Pain scores obtained in dogs with naturally-occurring neuropathic pain before and after each treatment period.

Data are presented as mean ± SEM for scores from Client Specific Outcome Measures (CSOM), Canine Brief Pain Inventory (CBPI_{pain} and CBPI_{interference}), and short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF). Data are presented as median (range) for scores from CBPI_{overall impression}.

	CSOM	CBPI pain	CBPI interference	CBPI overall impression	CMPS-SF
Baseline	10.4 ± 0.7 (n = 25)	20.2 ± 1.8 (n = 28)	21.2 ± 1.8 (n = 28)	2.0 (1.0 – 4.0) (n = 29)	4.4 ± 0.5 (n = 24)
Placebo	8.5 ± 0.7 (n = 24)	17.9 ± 1.8 (n = 27)	17.0 ± 1.8 (n = 27)	2.8 (1.0 – 5.0) (n = 28)	3.9 ± 0.5 (n = 19)
Gabapentin	7.7 ± 0.7 (n = 20)	15.7 ± 1.9 (n = 23)	16.4 ± 1.9 (n = 22)	3.0 (2.0 – 5.0) (n = 24)	2.9 ± 0.5 (n = 18)
Gabapentin- meloxicam	7.5 ± 0.7 (n = 24)	14.7 ± 1.9 (n = 24)	16.6 ± 1.9 (n = 24)	3.0 (1.0 – 5.0) (n = 24)	2.5 ± 0.5* (n = 18)

Data in bold are significantly different from results at initial presentation and the asterisk (*) marks significant difference compared with placebo.

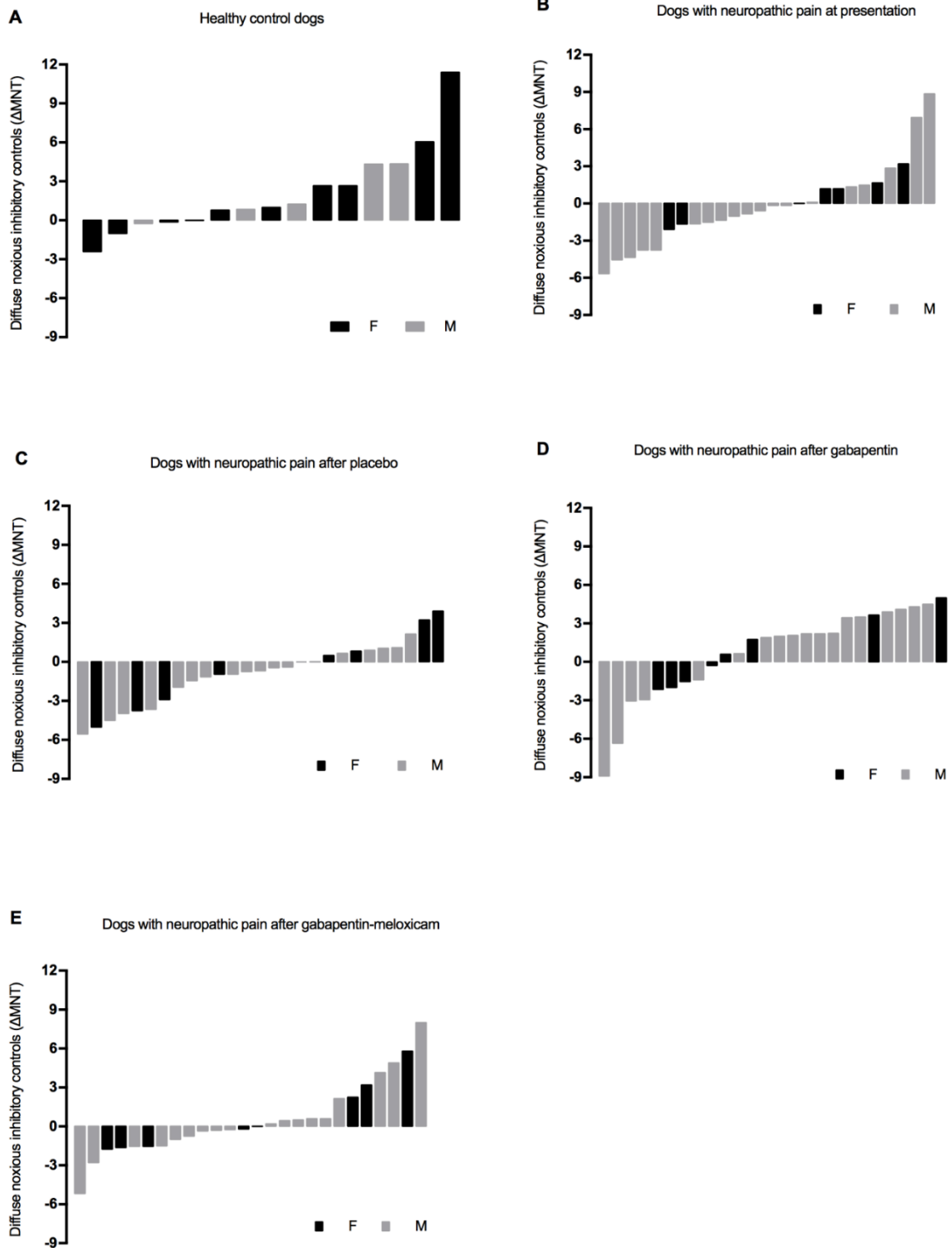


Figure 7. – Diffuse Noxious Inhibitory Control (DNIC) in the population of a) healthy dogs, b) dogs with neuropathic pain at initial presentation, c) after placebo, d) after gabapentin-meloxicam and e) after gabapentin alone. Negative values represent facilitatory while positive values represent inhibitory conditioned pain modulation.

Serum concentrations of gabapentin and inflammatory cytokines

Mean \pm SD dose of gabapentin was 11.05 ± 1.46 mg/kg (range: 8.62–14.49 mg/kg). Most of the dogs included in this study had undetectable concentrations of gabapentin at presentation and at day 14 (end of placebo period); minimal concentrations of gabapentin were found in the serum of 5 dogs at presentation (≤ 0.11 $\mu\text{g/mL}$; four had received a dose of gabapentin 24 to 48 hours before blood drawn) and 4 dogs at day 14 (< 0.26 $\mu\text{g/mL}$, except for one dog that had concentrations of approximately 9 $\mu\text{g/mL}$ and was excluded from analysis). Concentrations of gabapentin in the first and third blocks ranged from 0.36–18.47 $\mu\text{g/mL}$. Mean concentrations of gabapentin \pm SD were 8.53 ± 3.07 $\mu\text{g/mL}$ and 7.13 ± 5.09 $\mu\text{g/mL}$ after gabapentin alone or in combination with meloxicam, respectively.

Standard measure obtained for MCP-1 on one of the two plates used for the analysis was not included in the quality control range provided by the manufacturer therefore, corresponding data for MCP-1 were excluded. Two analytes (IFN- γ and IL-2) showed a proportion of results below detection level (out of range) superior to 50% and were therefore not analyzed. Among the population studied, 7 dogs were excluded from the cytokine analyses (chronic skin conditions: $n = 4$; oral inflammatory disease: $n = 2$; femoro-tibial effusion: $n = 1$). Concentrations of cytokines measured in controls and NeuP before treatment are summarized in Table 4. No differences were found between groups. Significant effects of sex and body weight were found for some analytes (Tables 11 and 12). A significant correlation was found between MCP-1 concentrations and the overall impression of the owners on their dogs' quality of life (Tables 13 and 14).

Tableau 11. – Cytokine concentrations (median and range) in pg/mL measured in healthy control dogs and in dogs with presumptive neuropathic pain (NeuP) using the Milliplex Canine Cytokine Panel.

	Controls	NeuP	p	Covariates effect		
	n = 13; MCP-1: n = 11	n = 23; MCP-1: n = 11		P _{sex}	P _{age}	P _{weight}
GM-CSF	15.02 (0.56 – 219.95)	30.12 (0.56 – 240.47)	0.53	0.17	0.90	0.18
KC-like	417.23 (203.88 – 1,391.12)	668.54 (67.69 – 1,381.57)	0.54	0.56	0.34	0.56
IP-10	7.00 (1.42 – 34.35)	7.79 (0.65 – 62.87)	0.16	0.51	0.14	0.49
IL-6	6.16 (2.02 – 80.89)	8.79 (1.89 – 78.55)	0.15	0.015	0.67	0.06
IL-7	34.34 (3.36 – 187.41)	21.50 (1.11 – 133.66)	0.07	0.10	0.85	0.18
IL-8	2,504.34 (966.25 – 3,768.76)	3,311.17 (690.87 – 13,131.05)	0.35	0.75	0.11	0.47
IL-10	0.94 (0.33 – 162.04)	1.53 (0.33 – 44.96)	0.42	0.10	0.36	0.61
IL-15	47.85 (7.24 – 2,381.73)	47.85 (4.98 – 1,251.31)	0.33	0.59	0.62	0.013
IL-18	25.32 (10.71 – 178.37)	24.15 (8.92 – 141.83)	0.06	0.17	0.49	0.19
MCP-1	205.98 (154.27 – 410.62)	259.17 (174.39 – 539.18)	0.52	0.41	0.07	0.10
TNFα	1.25 (0.05 – 59.87)	1.63 (0.05 – 43.02)	0.74	NA	NA	NA

NA = Data non available (nonparametric test). Data in bold are significant.

Tableau 12. – Cytokine concentrations (median and range) in pg/mL measured in dogs with presumptive neuropathic pain (NeuP) before and after treatments of placebo, gabapentin, gabapentin-meloxicam using the Milliplex Canine Cytokine Panel.

	Baseline	Placebo	Gabapentin	Gabapentin-meloxicam	p	Covariates effect		
	n = 23; MCP-1: n = 11	n =22; MCP-1: n = 11	n = 22; MCP-1: n = 11	n = 20; MCP-1: n = 11		p_{sex}	p_{age}	p_{weight}
GM-CSF	30.12 (0.56 – 240.47)	20.74 (0.56 – 265.78)	35.16 (0.56 – 336.65)	16.81 (0.56 – 262.01)	0.73	0.45	0.78	0.06
KC-like	668.54 (67.69 – 1,381.57)	589.36 (80.65 – 1,596.31)	492.40 (41.48 – 1,520.10)	564.58 (46.36 – 1,570.21)	0.38	0.96	0.31	0.29
IP-10	7.79 (0.65 – 62.87)	5.96 (0.65 – 34.60)	6.27 (0.65 – 37.67)	7.32 (0.65 – 43.69)	0.73	0.96	0.17	0.25
IL-6	8.79 (1.89 – 78.55)	6.58 (2.02 – 86.76)	12.16 (2.35 – 100.41)	7.39 (2.35 – 79.68)	0.57	0.06	0.56	0.035
IL-7	21.50 (1.11 – 133.66)	16.03 (1.11 – 149.90)	18.66 (1.98 – 172.46)	13.98 (1.11 – 141.01)	0.25	0.048	0.99	0.10
IL-8	3311.17 (690.87 – 13,131.05)	3,462.72 (450.80 – 9,539.46)	3,335.68 (1,080.60 – 19,188.58)	3,276.29 (889.47 – 10,406.34)	0.99	0.78	0.06	0.99
IL-10	1.53 (0.33 – 44.96)	2.53 (0.33 – 44.96)	2.09 (0.33 – 75.93)	0.95 (0.33 – 51.84)	0.49	0.08	0.15	0.015
IL-15	47.85 (4.98 – 1,251.31)	21.05 (4.98 – 1,255.93)	48.06 (4.98 – 1,431.35)	32.11 (4.98 – 1,302.06)	0.52	0.72	0.64	0.001
IL-18	21.15 (8.92 – 141.83)	20.96 (9.49 – 158.79)	22.23 (8.92 – 186.90)	20.69 (7.71 – 149.13)	0.17	0.032	0.33	0.006
MCP-1	259.17 (174.39 – 539.18)	261.84 (176.16 - 409.52)	253.67 (159.41 - 401.28)	250.84 (163.47 – 492.68)	0.91	0.08	0.048	0.40
TNF α	1.63 (0.05 – 43.02)	0.92 (0.05 – 48.27)	2.30 (0.05 – 57.41)	0.29 (0.05 – 44.18)	0.23	NA	NA	NA

A nonparametric test was used to analyze TNF α , therefore it was not possible to test for the effect of sex, age and weight on the concentration of this analyte (NA = non applicable). Data in bold are significant.

Tableau 13. – Results of the statistical analysis evaluating the association between cytokines concentrations and a) owners' perception of their dog's quality of life b) CMPS-SF.

	CBPI overall impression (n = 36)		CMPS-SF (n = 32)	
	Spearman's rho correlation coefficient	Significance (P value)	Spearman's rho correlation coefficient	Significance (P value)
GM-CSF	0.056	0.74	-0.027	0.87
KC-like	-0.092	0.59	-0.015	0.94
IP-10	0.091	0.59	-0.21	0.24
IL-6	-0.037	0.83	0.047	0.79
IL-7	0.15	0.37	-0.22	0.22
IL-8	-0.21	0.22	0.13	0.47
IL-10	-0.175	0.30	0.086	0.63
IL-15	0.27	0.11	-0.19	0.29
IL-18	0.18	0.29	-0.12	0.50
MCP-1	-0.38	0.024	0.31	0.08
TNF- α	0.118	0.48	-0.125	0.49

Data in bold are significant.

Tableau 14. – Results of the statistical analysis evaluating the association between cytokines concentrations and a) Client Specific Outcome Measures scores b) Canine Brief Pain Inventory (section pain) scores c) Canine Brief Pain Inventory (section interference, locomotion) scores.

	CSOM		CBPI _{pain}		CBPI _{interference}	
	Slope (SEM)	p value	Slope (SEM)	p value	Slope (SEM)	p value
GM-CSF	0.000489 (0.00915)	0.96	-0.00143 (0.00389)	0.71	0.00155 (0.00322)	0.63
KC-like	-0.00072 (0.00644)	0.91	0.00232 (0.00297)	0.44	-0.00069 (0.00242)	0.78
IP-10	-0.00248 (0.00546)	0.65	0.00087 (0.00281)	0.76	0.000294 (0.0023)	0.90
IL-6	-0.0102 (0.00973)	0.30	-0.00125 (0.00417)	0.76	0.000642 (0.00353)	0.86
IL-7	0.00218 (0.00649)	0.74	-0.00116 (0.00321)	0.72	0.000762 (0.00267)	0.78
IL-8	0.000556 (0.00998)	0.96	-0.00207 (0.00416)	0.62	0.000965 (0.00356)	0.79
IL-10	0.000524 (0.0133)	0.97	0.0028 (0.00585)	0.63	-0.00248 (0.00488)	0.61
IL-15	-0.0151 (0.0131)	0.25	-0.00844 (0.00525)	0.11	-0.00454 (0.00445)	0.31
IL-18	-0.00225 (0.00499)	0.65	-0.00159 (0.00221)	0.47	0.00082 (0.00186)	0.66
MCP-1	-0.00367 (0.00418)	0.39	0.000263 (0.00203)	0.90	-0.00082 (0.00171)	0.63
TNF-α	0.0202 (0.03)	0.50	0.00252 (0.0107)	0.82	0.00385 (0.01)	0.70

2.2.7 — Discussion

This study provides novel insights on the sensory profile and pain burden of dogs with naturally-occurring NeuP undergoing medical treatment. The functional assessment of DNIC in dogs with NeuP showed that Δ MNT remained mostly unchanged or even decreased (i.e. negative values, indicating a facilitatory profile) after the application of a conditioning stimulus. These values were significantly different than healthy controls that presented mean positive values for Δ MNT (i.e. inhibitory profile).¹⁰ This result suggests a dysfunctional DNIC in dogs with NeuP, which is consistent with previous results obtained by different methods of DNIC assessment in dogs suffering from osteoarthritis,¹⁷ osteosarcoma¹⁸ and in rodent models of NeuP.¹⁹ Therefore, NeuP may present changes in the descending modulatory mechanisms of pain (facilitatory over inhibitory input) reinforcing the need for disease-modifying therapies that produce changes in central pain modulation (e.g. gabapentinoids). The assessment of DNIC using the percentage of positive and negative Δ MNT has been described in humans with fibromyalgia.¹¹ Following the activation of spinal cord neurons conveying nociceptive input, supraspinal descending controls are normally activated to produce an inhibitory effect at the level of the dorsal horn of the spinal cord. In healthy conditions, the expected outcome would be the attenuation of subsequent painful input.²⁰ Therefore, animals with a functional DNIC should show positive values of Δ MNT (i.e. inhibitory profile) after the application of a conditioning stimulus. Indeed, most of the healthy individuals showed an inhibitory profile. However, approximately a third of this population had Δ MNT negative values (i.e. facilitatory profile). Similar findings have been reported in healthy dogs and humans.^{11,18} In this study, approximately 60% of dogs with NeuP had a facilitatory profile at presentation and after the administration of placebo, with an approximate 2-fold increase when compared with the percentage of healthy dogs with the same sensory profile. On the other hand, the percentage of dogs with facilitatory profile after gabapentin was comparable with healthy controls. A similar effect has been found with pregabalin in human patients with fibromyalgia.²¹ This finding is consistent with recent research showing an activation of the inhibitory system by increased activity of noradrenergic neurons located in the locus coeruleus after the administration of gabapentin.²² In our study, the DNIC function of NeuP was regained after gabapentin. It is not clear why the same effect was not observed after the administration of

gabapentin-meloxicam where approximately 50% of NeuP continued to show a facilitatory profile. In humans, neuropathic pain is known to show a low response to conventional therapies, including non-steroidal anti-inflammatory drugs.²³ However, despite being not statistically significant, there was a trend for Δ MNT values to be negative at presentation and after placebo, and positive after gabapentin and gabapentin-meloxicam. While DNIC and stress-induced analgesia are two endogenous analgesic mechanisms that can be triggered by a noxious stimulus,²⁴ the authors used a fear-free approach to minimize stress-induced analgesia and we believe the results are indeed a reflection of DNIC profile of these patients.

Central sensitization has been observed in patients with NeuP.²⁵ In animal models of NeuP based on peripheral nerve injury, this phenomenon is commonly studied by measuring nociceptive thresholds in a remote area from the injury.²⁶ For this reason, it was deemed that using the 'less affected limb' for the assessment of the DNIC would provide a more accurate value than using the 'most affected limb'. Also, ENT and MNT measured at the affected, but also other limbs were averaged for each individual. Thresholds were expected to be overall lower in NeuP than in controls due to potential for central sensitization. However, MNT and ENT were not significantly different between the two populations and did not change after treatments in NeuP. This could be explained by the great individual variability of both QST modalities in dogs from different breeds, ages and body weight.¹⁰ On the other hand, a recent study investigating NeuP in Cavalier King Charles Spaniels dogs reported higher MNT after the administration of pregabalin when compared with baseline or placebo treatment.²⁷ The different findings could rely on the homogeneity of the population studied (same breed and same underlying disease), different testing sites, technique or nociceptive threshold device. Finally, both ENT and MNT were influenced by body weight. A positive correlation between body weight and MNT has been described in healthy dogs.²⁸ Since our two populations (controls and NeuP) had similar body weight, this was not considered as a confounding factor in the present study.

The pain burden caused by NeuP in dogs was evaluated at presentation and after therapy using different pain scoring systems. The CBPI allowed the evaluation of NeuP in terms of comfort (CBPI pain), function (CBPI interference) and quality of life (CBPI overall impression). The function was further assessed using the CSOM. These two methods of pain assessment (CBPI and CSOM) were

used to investigate the pain burden in a familiar environment as perceived by owners who were masked to the treatment. A method of acute pain assessment (CMPS-SF) was used for the veterinarian's evaluation due to the possibility of an acute episode of pain related to the chronic underlying condition and the lack of valid pain assessment instruments to evaluate NeuP in dogs. Gabapentin alone or in combination with meloxicam reduced pain scores when compared with presentation, but not placebo, using the CSOM, CBPI pain and CMPS-SF. Gabapentin exerts its analgesic effect through its action on supraspinal region to promote descending inhibition of nociceptive stimuli,²² and it binds to the $\alpha 2\text{-}\delta$ subunit of the voltage-gated calcium channels involved in the maintenance of mechanical hypersensitivity in rodent models of NeuP.²⁹ The CBPI overall impression showed an improved quality of life after the administration of gabapentin when compared with presentation. The same results were not observed for gabapentin-meloxicam. However, less than one third of dogs were classified with a "poor" or "fair" quality of life after gabapentin or gabapentin-meloxicam, whereas at least 50% of dogs were classified within these categories after placebo and at presentation. The combination of gabapentin and meloxicam was associated with improved activity using CBPI interference when compared with presentation, and when using CMPS-SF compared with placebo. However, mean values for CBPI interference between gabapentin and gabapentin-meloxicam groups were similar, and it is difficult to know the clinical relevance of these findings. This study could not determine in which patients the administration of meloxicam would be beneficial in combination with gabapentin. Meloxicam is a non-steroidal anti-inflammatory drug, a preferential cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitor, used for the treatment of osteoarthritis in dogs.³⁰ An overexpression of COX-2 has been observed with peripheral NeuP and one of the reasons meloxicam was used in this study.³¹

Resting was recommended as part of treatment and could have contributed to pain relief in this study. Additionally, a carry-over effect after the first week of treatments (gabapentin or gabapentin-meloxicam) cannot be ruled out especially considering the low concentrations of gabapentin detected on day 14 at the end of placebo administration. However, a significant effect was not observed for treatment order and it is unlikely that these small serum concentrations of gabapentin would produce an analgesic effect in dogs with NeuP. A significant improvement was found after placebo treatment using the CSOM. Additionally, CBPI and CMPS-SF pain scores after

treatment with gabapentin or gabapentin-meloxicam were significantly improved when compared with baseline, but not after placebo. Therefore, the analgesic effects of gabapentin or gabapentin-meloxicam could be debatable, if one considers only a positive outcome when treatments are superior than placebo. However, CBPI scores (where owners were masked to treatment) were not significantly different between initial presentation and placebo; these findings could suggest a beneficial effect of the active treatments. Gabapentin or gabapentin-meloxicam may have an effect in the clinical setting, even if it may have been biased by a placebo effect in this study. The latter has been reported in veterinary clinical trials including chronic painful conditions. Indeed, the CSOM and the CBPI could have been biased by the so-called “caregiver placebo effect”, since these instruments involve proxy measures of pain.³² It is believed that time spent with the patient, better care (compliance with treatment administration), empathy, optimism and desire for the treatment to work could improve caregiver evaluations after placebo and make it difficult to show superiority of an efficacious medication to placebo.³³ The caregiver placebo effect is related to improved ratings of subjective outcomes (pain scores) in the absence of improvement in objective measures.³³ On the other hand, when using DNIC facilitatory profiles as means of objective assessment, placebo and at initial presentation had similar Δ MNT profiles which is approximately twice more than dogs with NeuP treated with gabapentin. These results highlight how difficult chronic pain assessment in companion animals can be especially when validated tools specific for the assessment of NeuP are not available. Finally, the veterinarian performing evaluations was masked to the first and third blocks (gabapentin or gabapentin-meloxicam), but not the second (placebo) block of treatments. Thus, the evaluation of the dogs after placebo treatment relied mostly on the unbiased owners’ evaluation.

In the present study, serum concentrations of gabapentin were evaluated as an indirect assessment of owners’ compliance to treatment administration and to report these concentrations for posteriori studies potentially correlating therapeutic levels with dosage regimens, sex, breed, age and the analgesic efficacy of gabapentin. The concentrations of gabapentin required to alleviate NeuP remain unknown. Based on pharmacologic modelling, the potency of gabapentin (EC 50) in rats for its anti-allodynic effect was reported between 1.4 to

16.4 µg/mL^{34,35} and 5.35 µg/mL for the treatment of neuropathic pain in man.³⁶ In our study, dogs had concentrations ranging between 0.36 and 18.5 µg/mL but timing of blood collection could not be standardized due to owners' constraints for scheduling re-evaluations and time of drug administration. Given both veterinarian's and owners' positive outcomes, the dosage regimens for gabapentin were considered effective in the treatment of NeuP in dogs. However, there was a large range of concentrations showing significant individual variability that could impact the pharmacokinetics and potentially the pharmacodynamics of the drug in the clinical setting.

The concentrations of inflammatory cytokines measured in this study are consistent with previously published data in healthy dogs,³⁷ with large individual concentration variability, especially considering individuals of different breeds and suffering from different neurological pathologies. Therefore, the lack of significant differences between control and NeuP groups, or between treatments in this study may reflect a type 2 error, more than an actual homogeneity of these populations. A higher concentration of MCP-1 was associated with a worse appreciation of the quality of life of their dog by the owner. These results corroborate previous findings in humans where MCP-1 concentrations were positively associated with more severe fibromyalgia-related pain when evaluated with the brief pain inventory.³⁸ Our results also suggest that future investigations on inflammatory cytokines in canine NeuP should divide the population into subgroups based on sex and body weight to better understand the disease.

The limitations of our study design including a partially masked evaluator and a bias towards a caregiver placebo effect have been discussed. Due to ethical considerations in clinical pain research, dogs experiencing pain were immediately treated either before (administration of remifentanyl) or during the study (rescue analgesia), therefore introducing a potential bias in the results. However, in the present study, these interventions were minimal (exclusion during the first block with gabapentin-meloxicam, n = 1; four days of placebo period instead of 7, n = 1) but it may have contributed to a mild overall improvement observed after placebo or gabapentin. The initial assessment may also have been altered by the administration of remifentanyl in two dogs before the withdrawal period of 60 minutes. The drug may have provided sustained analgesia reducing clinical signs of central sensitization in dogs with NeuP before QST at initial presentation. Also, there is no definitive test to diagnose NeuP. Therefore, inclusion criteria were

determined to meet the most recent definition of NeuP by the International Association for the Study of Pain: “pain arising as a direct consequence of a lesion or disease affecting the somatosensory system”. All dogs included had a long-term history of pain and a confirmed neurological lesion found at MRI. Additionally, most dogs had delayed paw placements or ataxia which indicated an involvement of the somatosensory system. Recognition of NeuP remains a challenge in veterinary medicine and in non-verbal human patients since it is characterized by the combination of sensory qualities that can only be self-reported.³⁹

2.2.8 — Conclusion

In conclusion, dogs with NeuP have changes in sensory profile characterized by a dysfunctional (deficient) DNIC compared with healthy controls. These results could be the expression of maladaptive changes in favor of pain facilitation over inhibition in the central pain processing. The percentage of dogs with facilitatory sensory profile was similar at baseline and after placebo, and between controls and after gabapentin, but not gabapentin-meloxicam, suggesting that gabapentin alone may have improved DNIC. According to CBPI (masked owners’ assessment) and CMPS-SF (non-masked veterinarian’s assessment), pain burden was reduced after gabapentin and/or gabapentin-meloxicam when compared with initial presentation. However, these scores were not significantly different than placebo, nor placebo was superior to baseline evaluations, with the exception of CSOM scores. Resting as part of treatment may have helped with decreased pain scores during the study. Results may have been biased by a caregiver placebo effect and other study limitations including the low number of animals enrolled, population heterogeneity including a variety of diseases, and the lack of a validated pain assessment tool for canine NeuP. Inflammatory cytokines were not different between groups or treatments. More studies on canine NeuP are warranted to determine best therapeutic regimens for the disease.

2.2.9 — Conflict of interest statement and Acknowledgements

This study was supported by Boehringer Ingelheim (Canada) Ltd and MITACS through the Mitacs Accelerate Program, and the American Kennel Club Canine Health Foundation (#CHF: 02353-A ; Paulo V Steagall, Hélène LM Ruel). The funders had no role in data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

The authors would like to thank Fleur Gaudette from the Pharmacokinetics core facility of the Centre de Recherche, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM) for carrying out LC-MS/MS method development, validation, and sample analysis and the dedicated pet owners who participated to this study.

2.2.10 — Supporting information

All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files

S1 File (DOCX): Serum concentrations of gabapentin in dogs

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237121.s001>

S1 (XLSX): Database

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237121.s002>

2.2.11 — References

1. Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice ASC, et al. A new definition of neuropathic pain. *Pain*. 2011 Oct 152(10):2204-5.
2. Gilron I, Baron R, Jensen T. Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2015 Apr;90(4): 532-45.
3. Backonja MM, Attal N, Baron R, Bouhassira D, Drangholt M, Dyck PJ, et al. Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus. *Pain*. 2013 Sep;154(9):1807-19.
4. Vollert J, Maier C, Attal N, Bennett DHL, Bouhassira D, Enax-Krumova E, et al. Stratifying patients with peripheral neuropathic pain based on sensory profiles: algorithm and sample size recommendations. *Pain*. 2017 Aug;158(8):1446-5.
5. Forstenpointner J, Rehm S, Gierthmühlen J, Baron R, Stratification of neuropathic pain patients: the road to mechanism-based therapy? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2018

Oct;31(5):562-8.

6. Yarnitsky D, Granot M, Nahman-Averbuch H, Khamaisi M, Granovsky Y. Conditioned pain modulation predicts duloxetine efficacy in painful diabetic neuropathy. *Pain*. 2012 Jun;153(6):1193-8.
7. Malcangio M, Role of the immune system in neuropathic pain. *Scand J Pain*. 2019 Dec 18;20(1):33-7.
8. Mathews K, Kronen PW, Lascelles D, Nolan A, Robertson S, Steagall PVM; WSAVA Global Pain Council. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *J Small Anim Pract*. 2014 Jun;55(6):E10-68.
9. Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg*. 2011;9(8):672-7.
10. Ruel HLM, Watanabe R, Evangelista MC, Beauchamp G, Steagall PV. Feasibility and reliability of electrical, mechanical and thermal nociceptive testing and assessment of diffuse noxious inhibitory control in dogs. *J Pain Res*. 2018 Oct 23;11:2491-6.
11. Potvin S, Marchand S. Pain facilitation and pain inhibition during conditioned pain modulation in fibromyalgia and in healthy controls. *Pain*. 2016 Aug;157(8):1704-10.
12. Cozzi EM, Spensley MS. Multicenter randomized prospective clinical evaluation of meloxicam administered via transmucosal oral spray in client-owned dogs. *J Vet Pharmacol Ther*. 2013 Dec;36(6):609-16.
13. 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.
14. Ragetly GR, Massey L, Brown DC. Initial psychometric testing and validation of the French version of the Canine Brief Pain Inventory. *Vet Anaesth Analg*. 2019 Sep;46(5):667-672.
15. Reid J, Nolan AM, Hughes JML, Lascelles D, Pawson P, Scott EM. Development of the short-form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS-SF) and derivation of an analgesic

- intervention score. *Anim Welf.* 2007;16(S), 97-104.
16. Ruíz-López P, Navarrete-Calvo R, Morgaz J, Domínguez JM, Quirós-Carmona S, Muñoz-Rascón P, et al. Determination of acute tolerance and hyperalgesia to remifentanyl constant rate infusion in dogs undergoing sevoflurane anaesthesia. *Vet Anaesth Analg.* 2020 Mar;47(2):183-90.
 17. Hunt JH, Goff M, Jenkins H, Harris J, Knowles TG, Lascelles BDX, et al. Electrophysiological characterisation of central sensitisation in canine spontaneous osteoarthritis. *Pain.* 2018 Nov;159(11):2318-30.
 18. Monteiro BP, de Lorimier L-P, Moreau M, Beauchamp G, Blair J, Lussier B, et al. Pain characterization and response to palliative care in dogs with naturally-occurring appendicular osteosarcoma: An open label clinical trial. *PLoS One.* 2018 Dec 6;13(12):e0207200.
 19. Bannister K, Patel R, Goncalves L, Townson L, Dickenson AH. Diffuse noxious inhibitory controls and nerve injury: restoring an imbalance between descending monoamine inhibitions and facilitations. *Pain.* 2015 Sep;156(9):1803-11.
 20. Le Bars D, Villanueva L, Bouhassira D, Willer JC. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in animals and in man. *Patol Fiziol Eksp Ter.* 1992 Jul-Aug;(4):55-65.
 21. Wodehouse T, Poply K, Ramaswamy S, Snidvongs S, Bourke J, Tahir H, et al. A pilot study investigating whether quantitative sensory testing alters after treatment in patients with fibromyalgia. *Br J Pain.* 2018 Nov;12(4):250-6.
 22. Hayashida KI, Eisenach JC. Descending Noradrenergic Inhibition: An Important Mechanism of Gabapentin Analgesia in Neuropathic Pain. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1099:93-100.
 23. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D et al. *Nat Rev Dis Primers.* 2017
 24. Butler RK, Finn DP. Stress-induced analgesia. *Prog Neurobiol.* 2009 Jul;88(3):184-202.
 25. Woolf CJ, Salter MW. Neuronal Plasticity: Increasing the Gain in Pain. *Science.* 2000 Jun

9;288(5472):1765-9.

26. Pitcher GM, Ritchie J, Henry JL. Paw withdrawal threshold in the von Frey hair test is influenced by the surface on which the rat stands. *J Neurosci Methods*. 1999 Mar 1;87(2):185-93.
27. Sanchis-Mora S, Chang YM, Abeyesinghe SM, Fisher A, Upton N, Volk HA, et al. Pregabalin for the treatment of syringomyelia-associated neuropathic pain in dogs: A randomised, placebo-controlled, double-masked clinical trial. *Vet J*. 2019 Aug;250:55-62.
28. Briley J, Williams MD, Freire M, Griffith EH, Lascelles BD. Feasibility and repeatability of cold and mechanical quantitative sensory testing in normal dogs. *Vet J*. 2014 Feb;199(2):245-50.
29. Field MJ, Hughes J, Singh L. Further evidence for the role of the alpha(2)delta subunit of voltage dependent calcium channels in models of neuropathic pain. *Br J Pharmacol*. 2000 Sep;131(2):282-6.
30. Sanderson RO, Beata C, Flipo RM, Genevois JP, Macias C, Tacke S. et al. Systematic review of the management of canine osteoarthritis. *Vet Rec*. 2009 Apr 4;164(14):418-24.
31. Durrenberger PF, Facer P, Casula MA, Yiangou Y, Gray RA, Chessell IP, et al. Prostanoid receptor EP1 and Cox-2 in injured human nerves and a rat model of nerve injury: a time-course study. *BMC Neurol*. 2006 Jan 4;6:1.
32. 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.
33. Gruen ME, Dorman DC, Lascelles BD. Caregiver placebo effect in analgesic clinical trials for cats with naturally occurring degenerative joint disease-associated pain. *Vet Rec*. 2017 May 13;180(19):473.
34. Taneja A, Nyberg J, de Lange ECM, Danhof M, Della Pasqua O. Application of ED-optimality to screening experiments for analgesic compounds in an experimental model of neuropathic pain. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2012 Dec;39(6):673-81.

35. Larsen MS, Keizer R, Munro G, Mork A, Holm R, Savic R, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of gabapentin in a CFA-induced inflammatory hyperalgesia rat model. *Pharm Res.* 2016 May;33(5):1133-43.
36. Lockwood PA, Cook JA., Ewy WE, Mandema JW. The use of clinical trial simulation to support dose selection: application to development of a new treatment for chronic neuropathic pain. *Pharm Res.* 2003 Nov;20(11):1752-9.
37. Richter KR, Nasr AN, Mexas AM. Cytokine concentrations measured by multiplex assay in peripheral blood samples. *Vet Path.* 2018 Jan;55(1):53-67.
38. Ang DC, Moore MN, Hilligoss J, Tabbey R. MCP-1 and IL-8 as pain biomarkers in fibromyalgia: a pilot study. *Pain Med.* 2011 Aug;12(8):1154-61.
39. Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, Baron R, Bennett DL, Bouhassira D, et al. Neuropathic pain : an updated grading system for research and clinical practice. *Pain.* 2016 Aug;157(8):1599-606.

3 — Discussion

L'objectif principal de mon programme au PhD était de caractériser la douleur neuropathique canine en évaluant le fardeau de la douleur, et les différences entre les profils somatosensoriels et cytokiniques des chiens naturellement affectés par la douleur neuropathique et ceux des contrôles sains. Par ailleurs, cette étude visait à obtenir les premières données de l'effet du gabapentin en monothérapie dans le contexte du traitement des douleurs neurologiques chroniques à composante neuropathique chez le chien, et à déterminer l'impact du traitement combiné de gabapentin-méloxicam et celui du placebo sur les scores de la douleur et la qualité de vie de ces patients.

Notre caractérisation de la douleur neuropathique passait par l'évaluation plus particulièrement des composantes nociceptives et émotionnelles de la douleur.

3.1 — Évaluation du système endogène de modulation de la douleur

L'évaluation du système inhibiteur étant cruciale pour investiguer la douleur neuropathique en médecine humaine, il était nécessaire de développer une méthode efficace chez le chien pour rechercher les influences supra-spinales sur la moelle épinière afin de compléter le spectre d'investigation somatosensorielle et de caractériser au mieux la pathologie. La première partie du projet a permis de vérifier la faisabilité et la fiabilité des tests quantitatifs sensoriels (QST) dans nos conditions d'études, sur des chiens naïfs à ce type de procédures. Finalement, la mise en place d'un protocole permettant l'évaluation facile et fiable du système modulateur de la douleur est incontestablement l'une des contributions majeures de nos travaux.

3.1.1 — Méthode expérimentale d'évaluation du DNIC

Dans l'article intitulé « Feasibility and reliability of electrical, mechanical and thermal nociceptive testing and assessment of diffuse noxious inhibitory control in dogs », nous rapportons pour la première fois une méthode clinique simple, permettant d'évaluer la réponse du système nerveux à l'application d'un stimulus conditionnant chez des chiens conscients. Dans notre étude, le

stimulus conditionnant était administré via un brassard gonflé à 200 mmHg, une valeur excédant la pression artérielle normale d'un chien. Le principe était d'exercer une compression qui entrainerait une suppression transitoire de la perfusion des tissus dans l'extrémité du membre. Cette douleur ischémique a été bien étudiée, puisqu'elle correspond à la « douleur de tourniquet » qui est une problématique rencontrée pendant les chirurgies, par les anesthésistes. Le maintien du tourniquet a été associé à une augmentation de l'activité électrique des cellules « ON » du RVM.²⁶¹ Cela suggère que ce stimulus active bien la transmission nociceptive. Une autre technique reposant également sur l'utilisation d'un brassard a été publiée postérieurement pour une utilisation chez le chien.¹⁷⁴ Celle-ci correspond à l'application d'une pression de 200 mmHg pendant 2 minutes sur l'avant-bras de l'animal avec une mise en mouvement active concomitante pour potentialiser l'ischémie. Cette technique n'est pas sans rappeler celle utilisée en médecine humaine au cours de laquelle l'individu testé doit réaliser des contractions musculaires répétées pour amplifier la douleur. Il n'y a actuellement pas de consensus sur l'intensité de la douleur qui devrait être causée par la stimulation conditionnante. En effet, les études rapportent des résultats discordants sur la corrélation entre la magnitude de l'effet obtenu et son intensité. Il a également été montré que des stimulations conditionnantes peu ou pas douloureuses pouvaient induire une analgésie endogène. Dans notre étude, le brassard gonflé pendant une minute était bien toléré dans la majorité des cas. Une réaction minimale et transitoire de l'animal a été notée à de rares occasions (en général, au moment du gonflement du brassard ou tardivement, proche de la fin du temps d'application. Il n'est pas clair dans ce cas si c'est la surprise ou l'immobilisation, respectivement, qui était en cause ou s'il s'agissait véritablement de la gêne engendrée par le brassard). Il est possible qu'avec l'application d'un stimulus plus intense, une inhibition endogène ait été remarquée dans une proportion plus importante de notre population « normale ». Nous constatons toutefois que la distribution des profils facilitateurs/inhibiteurs obtenus avec notre méthode reflète celle qui est observée en médecine humaine²⁶² et pourrait de ce fait, témoigner de la variation normale au sein de la population.

3.1.2 — Réponse à la stimulation conditionnante chez les chiens en bonne santé

Notre étude a montré qu'il est possible d'apprécier les changements des seuils mécaniques avant et après l'application du stimulus conditionnant. Comme chez les humains sains,²⁶² les chiens contrôles ont majoritairement présenté une augmentation de leur seuil mécanique après la stimulation conditionnante, reflétant une inhibition de la douleur). Cette réponse suggère une activation efficace du DNIC dans cette population. Nos observations ont été corroborées ultérieurement par un groupe indépendant de chercheurs de la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.¹⁷⁴ Cette possibilité inédite d'investiguer les paramètres dynamiques de la douleur offre de nouvelles perspectives de recherche sur les mécanismes pathologiques liées à la douleur chronique canine qui pourraient ouvrir sur de nouvelles avenues thérapeutiques.

3.1.3 — Réponse à la stimulation conditionnante chez les chiens souffrant de douleur chronique à composante neuropathique

En médecine humaine, il a été montré que les symptômes présentés, la nature de la lésion primaire et les mécanismes physiopathologiques ne corrélaient pas nécessairement. L'idée de cette deuxième partie de projet était donc d'investiguer la douleur neuropathique sans se restreindre à un type de lésion neurologique ou à une pathologie particulière, pour avoir ainsi un meilleur reflet de la douleur neuropathique canine.

Puisqu'il n'existe pas de test diagnostique pour confirmer la présence de douleur neuropathique, constituer une population d'étude pour investiguer cette maladie représentait un défi de taille. Comme dans toutes les études publiées sur la douleur neuropathique chez le chien, nous nous sommes fiés au fait que certaines pathologies sont très souvent associées à des douleurs neuropathiques chez l'homme (ex. malformation de Chiari, syndrome lombo-sacré, compressions radiculaires, etc.). Par ailleurs, l'examen neurologique confirmait l'atteinte du système somatosensoriel (par exemple, la présence d'ataxie proprioceptive et/ou de déficits dans les placements proprioceptifs) et permettait de localiser la lésion neurologique primaire. Dans tous les cas, l'examen d'imagerie par résonance magnétique a permis d'établir un lien entre la région

douloureuse et l'hyperesthésie et/ou l'allodynie notée à l'examen physique. La douleur était chronique dans tous les cas, avec une médiane de durée de 12 mois. Ces critères d'inclusion étaient en accord avec la définition de la douleur neuropathique fournie par l'IASP et intégraient les éléments transposables en médecine vétérinaire, du système de gradation révisé permettant d'augmenter la probabilité d'avoir affaire à des douleurs à composante neuropathique.

L'évaluation du DNIC a permis de constater que la population canine ainsi constituée présentait une capacité endogène de freinage de la douleur moindre que la population contrôle saine. Cette mise en évidence suggère que le DNIC des patients neuropathiques est dysfonctionnel. Cette observation corrobore les données expérimentales obtenues sur les modèles animaux de douleur neuropathique et chez qui sont décrits des changements neuroplastiques centraux impliquant les voies nociceptives.²⁶³ Monteiro et al. ont également noté une altération du mécanisme de modulation endogène de la douleur chez des chiens atteints de cancer (ostéosarcome).¹⁷⁴ Les observations sur le DNIC chez le chien confirment l'association observée en médecine humaine entre un état de douleur chronique neuropathique et une capacité endogène moindre à moduler la douleur.^{264,265} Toutefois, le test réalisé pour évaluer le DNIC est le reflet net de la somme de l'activité inhibitrice et facilitatrice centrale sur les interneurons médullaires. Cette méthodologie ne permet donc pas de savoir si ce profil est le résultat d'une altération en faveur d'une facilitation de la douleur, d'une perte d'inhibition ou d'une combinaison de ces deux facteurs.

Les autres QST, quant à eux, n'ont pas permis de déceler des différences entre les groupes. Il est à noter que les mesures « statiques » en médecine humaine (seuils sensitif ou de douleur) sont principalement utilisés pour prouver l'existence de signes d'hypoalgésie.⁷³ Notre protocole fixait les régions testées (les mêmes pour tous les patients), ce qui a contribué à rater ces zones si elles étaient présentes. Rétrospectivement, nous aurions probablement dû inclure au protocole des tests de sommation temporelle pour démontrer la sensibilisation centrale chez nos patients, toutefois cet équipement n'était pas disponible dans notre laboratoire.

Un autre aspect important de notre recherche était d'évaluer la réponse au traitement dans la population de chiens neuropathiques. Le choix de la thérapie était basé sur les recommandations du WSAVA Global Pain Council et les données pharmacologiques. Bien qu'aucune différence

significative n'ait été trouvée sur base des mesures de QST, une tendance vers une « normalisation », i.e. restauration de la capacité à inhiber la douleur suite à la stimulation conditionnante a été observée après l'administration de gabapentin et dans une moindre mesure, après l'administration combinée de gabapentin-meloxicam et n'était pas constatée après la période de placebo. Cette observation semble renforcer l'idée suggérée par d'autres travaux,²⁶⁶ que les changements du DNIC observés dans les conditions neuropathiques sont réversibles et qu'il s'agirait davantage d'une inhibition par des mécanismes neurobiologiques que d'une destruction pathologique des voies de la douleur. Par ailleurs, ce changement vers une restauration des profils inhibiteurs suite à l'administration de gabapentin est en faveur de l'hypothèse selon laquelle le gabapentin exercerait son action par stimulation du système descendant noradrénergique (promotion de l'inhibition) en agissant directement sur le tronc cérébral,¹⁵⁴ et non par action locale spinale. Pour prolonger cette étude et permettre de mieux apprécier l'influence des différents traitements sur le DNIC, une étude croisée contrôlée par placebo effectuée sur des chiens sains pourrait s'avérer intéressante.

3.1.4 — Réflexions et perspectives sur l'utilisation du DNIC chez le chien

L'utilisation du DNIC semble prometteuse dans l'évaluation des maladies douloureuses et de leur traitement chez le chien. Toutefois, l'utilisation de stimulus douloureux sur des patients qui ne peuvent pas directement consentir, a des implications éthiques.²⁶⁷ Nous proposons ici une technique bien tolérée et qui s'est avérée efficace pour évaluer les mécanismes de modulation de la douleur. En outre, elle pourrait être facilement transposée en clinique pour évaluer les variations du DNIC en fonction du temps ou pour suivre une thérapie. La méthode proposée par Monteiro et al. pourrait permettre de générer une magnitude plus grande du DNIC, cependant, cette méthode présente des limitations techniques à considérer (glissement du brassard et variation de pression lors de la mise en mouvement de l'animal).²⁶⁸

Bien que nos analyses statistiques n'aient pas mis en évidence d'effet de l'âge ou du poids dans la capacité des chiens à moduler la douleur, nous recommandons de poursuivre les investigations sur l'influence de ces paramètres sur le DNIC, sur une plus large cohorte. En effet, chez les humains l'âge, le sexe et les émotions par exemple, sont des facteurs connus pour affecter les

CPM.²⁶⁹ En outre, il serait intéressant de vérifier si, comme chez les humains, les disparités entre l'étendue des lésions et la douleur ressentie peut être partiellement expliquée par des différences face à cette capacité à moduler la douleur,²⁷⁰ et si la façon dont la réponse est modulée au niveau du système nerveux central est, comme chez l'homme,⁴⁰ possiblement lié à la réponse au traitement.

Pour conclure, la détection des seuils nociceptifs en médecine vétérinaire est obligatoirement liée à une part de subjectivité de l'observateur qui doit déceler les signes, parfois subtiles, d'une réponse à la stimulation. Nous avons observé au travers de notre première étude sur l'évaluation des différentes modalités de QST que, plus les tests requéraient une concentration du regard sur la zone testée (à cause de l'application de la sonde), moins la répétabilité intra et inter-observateurs était bonne. À ce titre, la nouvelle modalité intégrée à notre protocole, la stimulation électrique délivrée par le TENS, présentait un avantage sur les tests thermique et mécanique. Pour s'affranchir de ce problème de détection dans l'évaluation du DNIC, une piste pourrait être apportée par l'étude de Chalaye et al.²⁷¹ qui montre qu'il existe, chez l'homme, un lien entre la réponse à la stimulation conditionnante et la réactivité cardiovasculaire. Les noyaux impliqués dans la modulation de la douleur contribuent également à la régulation autonome cardiovasculaire et leur activité pourrait être mesurée par ce biais. L'évaluation des systèmes inhibiteurs descendants n'en est qu'à ses balbutiements en médecine vétérinaire mais semble être une voie prometteuse.

3.2 — Le fardeau de la douleur chez les chiens neuropathiques

Dans notre étude, la caractérisation de la douleur ne passait pas seulement par l'évaluation de la composante sensori-discriminative, nous cherchions également à comprendre comment la maladie affectait nos patients dans leur comportement et leurs activités quotidiennes, et à quel point le traitement administré influait sur ces plans.

3.2.1 — Évaluation du fardeau de la douleur

L'évaluation de la douleur requiert de s'intéresser non seulement à son intensité, mais aussi aux différentes facettes qui la composent. Elle est reconnue comme étant multi-dimensionnelle et

dès 1968, Melzack et Casey suggéraient que son évaluation, chez l'homme, devait passer par l'étude de trois dimensions : sensori-discriminative, motivationnelle-affective et cognitive-évaluative, simplifiée maintenant le plus souvent en composantes « sensorielle » et « réactive ».

Développé par Charles Cleeland, le questionnaire Brief Pain Inventory (BPI) a été initialement conçu pour être rempli par des patients atteints de cancers. Puisque cet outil s'est avéré fiable pour évaluer la sévérité et l'impact de la douleur neuropathique²⁷² et a prouvé sa validité,^{273,274} il est désormais largement utilisé dans ce contexte.²⁷⁵ Le Canine Brief Pain Inventory est une adaptation du questionnaire humain, dont la version française a été validée récemment pour évaluer des chiens souffrant d'ostéoarthrose.⁶⁷ Au moment de la conception de la présente étude, il n'existait pas d'outil permettant l'évaluation de la douleur neuropathique chez le chien (« Health-Related Quality of Life »), c'est pourquoi il a été décidé d'utiliser le CBPI. Par ailleurs, nous souhaitons inclure une évaluation tenant compte de la mixité de la douleur (« épisode aigu sur chronique »), c'est pourquoi le CMPS-SF a été utilisé.

La dernière question du CBPI (appréciation globale) constituait une évaluation de la qualité de vie du patient. Cette notion est extrêmement importante dans le cadre de la recherche pour déterminer le succès ou non, d'une thérapie. En clinique, la décision de fin de vie, pour les patients atteints de maladies chroniques, repose également sur cette perception du propriétaire que son animal a perdu « toute qualité de vie ». Cependant, il n'existe pas de définition satisfaisante de la qualité de vie chez les animaux,²⁷⁶ donc cette notion est très différente et subjective pour chaque famille.

Ces outils ont permis de montrer que le gabapentin permettait de contrôler la douleur (diminution des scores par rapport à l'évaluation à la présentation) et que l'ajout du méloxicam en outre, jouait significativement sur la composante affective-émotionnelle-fonctionnelle, telle qu'évaluée par la partie « interférence » du questionnaire. Cette section comprenait : les activités générales, la joie de vivre, la capacité à se lever et à marcher. Il est surprenant de constater que cet aspect n'a pas influencé la perception des propriétaires sur la qualité de vie globale de leur animal puisque le questionnaire a montré que la période correspondant au gabapentin seul s'accompagnait d'une meilleure appréciation en général. Si l'appréciation globale de la qualité de

vie du patient par le propriétaire est importante sur base individuelle, c'est un paramètre difficile à comparer.

Brown considère qu'une diminution de 2 dans la partie interférence et de 1 dans la partie sévérité pour un patient donné correspond à un succès de la thérapie. Si l'on compare les moyennes obtenues pour chaque traitement, on s'aperçoit que le placebo conduit à une réduction du score d'environ 2 pour l'intensité de la douleur (contre 4,5 et 5,5 pour le gabapentin et le gabapentin-méloxicam, respectivement) et 4 pour la section interférence (similaire à G et GM). Ceci signifie que dans cette étude, selon l'évaluation des propriétaires (qui ignoraient les traitements pendant tout l'essai clinique), non seulement le placebo a eu une influence positive, mais il a eu un même effet similaire sur la mobilité des chiens que les traitements actifs. Il est important de rappeler toutefois que le repos était également recommandé, en tout temps, en plus des traitements. Il est donc possible que ce soit l'influence de la restriction de mobilité que l'on retrouve dans cette période, qui correspondait toujours à 2 semaines de repos (période non randomisée). L'effet placebo sur le propriétaire peut également avoir contribué à améliorer les scores. En effet, il y existe un biais inhérent à la participation à des études cliniques pour des maladies chroniques, vers la sélection de propriétaires plus motivés et avec davantage d'attentes envers le traitement; ce qui les rend plus enclins à répondre favorablement à toute administration de drogues (actives ou non).²⁷⁷

L'évaluation vétérinaire allait dans le même sens, avec une amélioration des scores lorsque les traitements actifs étaient administrés. En revanche, pour la première fois, une différence significative s'est dessinée entre GM et placebo. Cette trouvaille peut être expliquée par le fait qu'un professionnel de la santé est plus apte que le propriétaire, à déceler la douleur chez un patient qui en souffre. Cette observation pourrait également être le reflet d'un effet bénéfique du méloxicam sur des épisodes de douleur aiguë, en lien avec le profil souvent mixte de la douleur neuropathique,¹⁷⁸ qui n'était pas évalués par le CBPI. En outre, même si les patients étaient testés pour des problèmes orthopédiques (et exclus si la pathologie était cliniquement significative), il est possible que le traitement antiinflammatoire ait contribué à améliorer les scores tenant en compte la mobilité chez des patients présentant une lésion orthopédique subclinique. Cependant, l'analyse des cytokines pro-inflammatoires dans notre étude n'a pas permis de

confirmer une diminution concomitante en raison de la très grande variabilité inter-individuelle. Une analyse des concentrations en cytokines dans le liquide céphalorachidien, près du siège de l'inflammation, augmenterait les chances de déceler des changements. Cependant, le risque/bénéfice de la procédure de collection de l'échantillon pour les patients devrait également être pondéré. Enfin, la vétérinaire attribuant les scores était également impliquée dans la conception de l'étude et de ce fait, n'était pas aveugle au traitement dans la 2^e semaine du protocole, ce qui peut avoir influencé son évaluation.

L'effet positif du gabapentin, à une dose de 10 mg/kg administré trois fois par jour, sur les chiens présentant une douleur chronique à composante neuropathique abonde dans le sens de nos observations cliniques,²⁷⁸ et corrobore les données obtenues récemment par Giudice et al.¹⁶⁹ Cette étude constitue la première étude prospective démontrant les effets du gabapentin en monothérapie chez des patients atteints de douleurs neuropathiques.

3.2.3 — Perspectives sur l'évaluation du fardeau de la douleur neuropathique

La présente étude s'est intéressée au fardeau de la douleur chez les chiens neuropathiques et à l'évolution de ce paramètre au cours des différents traitements. La douleur chronique à composante neuropathique a assurément un impact sur la vie du patient. Le CBPI a permis de constater que la mobilité (marcher, se lever) et la joie de vivre étaient affectées par ce type de douleur. Chez les humains atteints, le sommeil est compromis en raison des dysfonctions liées au système réticulaire.⁸⁸ L'investigation de l'activité nocturne par actimétrie pourrait être une indication indirecte de la qualité du sommeil chez le chien.^{174,279} Par ailleurs, nos observations personnelles à travers l'étude amènent à considérer la motivation à jouer comme un paramètre reflétant une meilleure qualité de vie. Certains propriétaires l'avaient sélectionné dans les activités du questionnaire CSOM. Il est à noter que dans notre étude, l'analyse des CSOM n'a pas permis de constater de changement significatif entre les traitements, bien que les moyennes aient évolué dans le même sens que les autres questionnaires (amélioration plus grande et comparable avec les traitements actifs et dans une moindre mesure avec le placebo). Dans le cas des CSOM, il est possible que le choix des items n'ait pas été optimal. En effet, des activités

comme « monter en voiture » ou « donner la patte » étaient parfois trop difficiles à réaliser pour un individu et permettait difficilement d'apprécier une amélioration partielle.

Finalement, comme alternative à la quantification des mouvements, par actimétrie, nous proposons d'observer le comportement alimentaire pour compléter le tableau sur la qualité de vie. Subjectivement, les patients en douleur semblent présenter une fréquence d'abreuvement et de prise de nourriture inférieure à celles observée chez les animaux sains, sans nécessairement que la quantité ingérée varie (observation personnelle). S'il s'avère que cette observation est réelle et qu'il existe une association entre la douleur neuropathique et les changements de patrons de déplacements, ceci pourrait faire partie des paramètres de suivi, à la maison, par le propriétaire.

4 — Conclusion

Grâce à une méthodologie incluant l'évaluation de la capacité endogène de modulation de la douleur, il a été possible de déceler une anomalie fonctionnelle largement répandue dans notre population de chiens affectés de douleur neurologique chronique à composante neuropathique. En effet, sur la base de la réponse à ce test, il a été possible de déterminer qu'un plus grand pourcentage de chiens neuropathiques présentait un profil facilitateur comparé aux contrôles, traduisant une apparente déficience du système modulateur endogène de la douleur. Le traitement de gabapentin a eu pour effet de rétablir les profils inhibiteurs pour la plupart de ces patients, en renforçant le système inhibiteur descendant.

L'évaluation de la qualité de vie des patients neuropathiques indique que le gabapentin convient pour le traitement des douleurs neurologiques chroniques à composante neuropathique chez le chien. L'ajout du méloxicam s'est également accompagné d'une amélioration clinique dans notre étude (diminution des scores de sévérité et amélioration de la fonction), cependant son bénéfice par rapport au gabapentin seul, s'est avéré relativement modeste aux yeux du propriétaire, lorsque le repos était également imposé.

Il s'agit du premier aperçu sur les mécanismes impliqués dans la douleur neuropathique canine. Cette découverte ouvre sur de nombreuses possibilités pour rechercher des éléments permettant un diagnostic plus facile, un suivi plus objectif et un traitement adapté pour ces patients. Il s'agit en outre d'un nouveau pont translationnel entre les médecines vétérinaire et humaine, puisque des changements similaires sont rapportés chez l'homme.²⁶⁴

5 — Références bibliographiques

1. Rey R. La douleur au siècle des lumières. In: *Histoire de La Douleur*. 2011:107-155.
2. Raja SN, Carr DB, Cohen M, et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*. 2020 Sep 1;161(9):1976-1982.
3. Loeser JD, Melzack R. Pain: an overview. *Lancet*. 1999;353(9164):1607-1609.
4. Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiol Rev*. 2021 Jan 1;101(1):259-301.
5. Boadas-Vaello P, Castany S, Homs J, et al. Neuroplasticity of ascending and descending pathways after somatosensory system injury: reviewing knowledge to identify neuropathic pain therapeutic targets. *Spinal Cord*. 2016;54(5):330-340.
6. Bouhassira D. Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology. *Rev Neurol (Paris)*. 2019;175(1-2):16-25.
7. VanDenKerkhof EG, Mann EG, Torrance N, et al. An epidemiological study of neuropathic pain symptoms in Canadian adults. *Pain Res Manag*. 2016;2016:9815750.
8. Bennett MI, Smith BH, Torrance N, et al. Can pain can be more or less neuropathic? Comparison of symptom assessment tools with ratings of certainty by clinicians. *Pain*. 2006;122(3):289-294.
9. McQuay HJ. Neuropathic pain: evidence matters. *Eur J Pain*. 2002;6(SUPPL. 1):11-18.
10. Liedgens H, Obradovic M, De Courcy J, et al. A burden of illness study for neuropathic pain in Europe. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2016;8:113-126.
11. Freire M, Knazovicky D, Case B, et al. Comparison of thermal and mechanical quantitative sensory testing in client-owned dogs with chronic naturally occurring pain and normal dogs. *Vet J*. 2016;210:95-97.

12. Treede RD, Rief W, Barke A, et al. A classification of chronic pain for ICD-11. *Pain*. 2015;156(6):1003-1007.
13. Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain Res*. 2004;1000(1-2):40-56.
14. Dubin AE, Patapoutian A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest*. 2010;120(11):3760-3772.
15. Wood JN. Recent advances in understanding molecular mechanisms of primary afferent activation. *Gut*. 2004;53:ii9-ii12.
16. Sneddon LU. Comparative physiology of nociception and pain. *Physiology*. 2018;33(1):63-73.
17. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*. 2001;413(6852):203-210.
18. Barrett KF, Barman SM, Boitano S, et al. *Ganong's Review of medical physiology*. 23rd ed. McGraw-Hill Medical; 2009.
19. McMahon SB, Koltzenburg M, Tracey I, et al. *Wall & Melzack's Textbook of pain*. 6th ed. Saunders; 2013.
20. Rexed B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol*. 1952;96(3):415-495.
21. 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;38(6):1365-1414.
22. Bourne S, Machado AG, Nagel SJ. Basic anatomy and physiology of pain pathways. *Neurosurg Clin N Am*. 2014;25(4):629-638.
23. Kanji G. Convergent referred pain mechanisms : The research and implications for clinical practice. *Austr Musc Med*. 2005;10(2):124-126.
24. Melzack R, Haugen FP. Responses evoked at the cortex by tooth stimulation. *Am J Physiol*.

1957;190(3):570-574.

25. Skerritt G. *King's applied anatomy of the central nervous system of domestic mammals, 2nd Edition*. 2nd ed. (Wiley Blackwell, ed.); 2018.
26. Kajander KC, Giesler Jr GJ. Responses of neurons in the lateral cervical nucleus of the cat to noxious cutaneous stimulation. *J Neurophysiol*. 1987;57(6):1686-1704.
27. Hellyer PW, Robertson S, Fails A. Lumb & Jones' Veterinary anesthesia and analgesia. In: William J. Tranquilli., ed. Blackwell Publishing Ltd; 2007:31-55.
28. Barik A, Thompson JH, Seltzer M, et al. A brainstem-spinal circuit controlling nocifensive behavior. *Neuron*. 2018;100(6):1491-1503.e3.
29. Yam MF, Loh YC, Tan CS, et al. General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2164.
30. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965;150(3699):971- 979.
31. Melzack R, Katz J. *Pain: psychological perspectives*. Hadjistavropoulos T, Craig KD, eds. New York: Psychology press; 2012.
32. Le Bars D, Cadden SW. What is a wide-dynamic-range cell? In « *The senses: a comprehensive reference* » vol 5: Pain, Bushnell C, Basbaum AI (eds), Elsevier Academic Press, Amsterdam:763-773.
33. Le Bars D. The whole body receptive field of dorsal horn multireceptive neurones. *Brain Res Rev*. 2002;40(1-3):29-44.
34. Bouhassira D, Calvino B. *Douleurs : physiologie, physiopathologie et pharmacologie*. Arnette; 2009.
35. Ramaswamy S, Wodehouse T. Conditioned pain modulation—a comprehensive review. *Neurophysiol Clin*. 2020;S0987-7053(20)30146-5
36. Le Bars D, Villanueva L, Bouhassira D, et al. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in animals and in man. *Patol Fiziol Eksp Ter*. 1992;(4):55-65.

37. Villaneuva L, Le Bars D. The activation of bulbo-spinal controls by peripheral nociceptive inputs: diffuse noxious inhibitory controls. *Biol Res.* 1995;28(1):113-125.
38. Pud D, Sprecher E, Yarnitsky D. Homotopic and heterotopic effects of endogenous analgesia in healthy volunteers. *Neurosci Lett.* 2005;380(3):209-213.
39. Yarnitsky D, Granot M, Granovsky Y. Pain modulation profile and pain therapy: between pro- and antinociception. *Pain.* 2014;155(4):663-665.
40. Yarnitsky D, Granot M, Nahman-Averbuch H, et al. Conditioned pain modulation predicts duloxetine efficacy in painful diabetic neuropathy. *Pain.* 2012;153(6):1193-1198.
41. Fields HL, Heinricher MM. Anatomy and physiology of a nociceptive modulatory system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1985;308(1136):361-374.
42. Heinricher MM, Tavares I, Leith JL, et al. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res Rev.* 2009;60(1):214-225.
43. Heinricher MM. Pain modulation and the transition from acute to chronic pain. *Adv Exp Med Biol.* 2016;904:105-115.
44. Radhakrishnan R, Sluka KA. Increased glutamate and decreased glycine release in the rostral ventromedial medulla during induction of a pre-clinical model of chronic widespread muscle pain. *Neurosci Lett.* 2009;457(3):141-145.
45. Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system. *Neurology.* 2009;73(20):1699-1704.
46. Szabadi E. Modulation of physiological reflexes by pain: role of the locus coeruleus. *Front Integr Neurosci.* 2012;6:94.
47. Bannister K, Dickenson AH. What do monoamines do in pain modulation ? *Curr Opin Palliat Care.* 2016;10(2):143-148.
48. Sajedianfard J, Khatami S, Semnianian S, et al. In vivo measurement of noradrenaline in the locus coeruleus of rats during the formalin test: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol.*

2005;512(2-3):153-156.

49. Raver C., Uddin O., Ji Y., et al. An amygdalo-parabrachial pathway regulates pain perception and chronic pain. *J Neurosci.* 2020;40(17):3424-3442.
50. Amit Z, Galina ZH. Stress induced analgesia plays an adaptive role in the organization of behavioral responding. 1988;21(6):955-958.
51. Foo H, Mason P. Sensory suppression during feeding. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(46):16865-16869.
52. Willer JC, Boureau F, Albe-Fessard D. Supraspinal influences on nociceptive flexion reflex and pain sensation in man. *Brain Res.* 1979;179(1):61-68.
53. Ong W-Y, Stohler CS, Herr DR. Role of the prefrontal cortex in pain processing. *Mol Neurobiol.* 2019;56(2):1137-1166.
54. Cramer SC, Sur M, Dobkin BH et al. Harnessing neuroplasticity for clinical applications. *Brain.* 2011;134(6):1591-1609.
55. Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science.* 2000;288(5472):1765-1769.
56. Bellieni CV. Pain assessment in human fetus and infants. *AAPS J.* 2012;14(3):456-461.
57. Dalla Costa E, Minero M, Lebelt D, et al. Development of the horse grimace scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS One.* 2014;9(3):e92281.
58. Langford DJ, Bailey AL, Chanda ML, et al. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nat Methods.* 2010;7(6):447-449.
59. Navarro E, Mainau E, Manteca X. Development of a facial expression scale using farrowing as a model of pain in sows. *Anim (Basel).* 2020;10(11):2113.
60. Orth EK, Navas González FJ, Iglesias Pastrana C, et al. Development of a donkey grimace scale to recognize pain in donkeys (*Equus asinus*) post castration. *Anim (Basel).*

2020;10(8):1411.

61. Evangelista MC, Watanabe R, Leung VSY, et al. Facial expressions of pain in cats: the development and validation of a feline grimace scale. *Sci Rep.* 2019;9(1):19128.
62. Gaynor JS, Muir WW. *Handbook of Veterinary Pain Management.* 3rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2015.
63. Hielm-Björkman AK, Rita H, Tulamo R-M. Psychometric testing of the Helsinki chronic pain index by completion of a questionnaire in Finnish by owners of dogs with chronic signs of pain caused by osteoarthritis. *Am J Vet Res.* 2009;70(6):727-734.
64. Brown DC, Boston RC, Coyne JC, et al. Development and psychometric testing of an instrument designed to measure chronic pain in dogs with osteoarthritis. *Am J Vet Res.* 2007;68(6):631-637.
65. Hercock CA, Pinchbeck G, Giejda A, et al. Validation of a client-based clinical metrology instrument for the evaluation of canine elbow osteoarthritis. *J Small Anim Pract.* 2009;50(6):266-271.
66. Walton MB, Cowderoy E, Lascelles D, et al. Evaluation of construct and criterion validity for the “Liverpool Osteoarthritis in Dogs” (LOAD) clinical metrology instrument and comparison to two other instruments. *PLoS One.* 2013;8(3):e58125.
67. Ragetly GR, Massey L, Brown DC. Initial psychometric testing and validation of the French version of the canine brief pain inventory. *Vet Anaesth Analg.* 2019;46(5):667-672.
68. Cozzi EM, Spensley MS. Multicenter randomized prospective clinical evaluation of meloxicam administered via transmucosal oral spray in client-owned dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2013;36(6):609-616.
69. Sparks CR, Cerda-Gonzalez S, Griffith EH, et al. Questionnaire-based analysis of owner-reported scratching and pain signs in Cavalier King Charles Spaniels screened for Chiari-like malformation and syringomyelia. *J Vet Intern Med.* 2018;32(1):331-339.
70. Hielm-Björkman AK, Kuusela E, Liman A, et al. Evaluation of methods for assessment of

- pain associated with chronic osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2003;222(11):1552-1558.
71. Markovszky AK, Weber C, Biksi O, et al. Is ECLIA serum cortisol concentration measurement, an accurate indicator of pain severity in dogs with locomotor pain? *Animals (Basel).* 2020;10(11):2036.
 72. Monchaux M, Forterre S, Spreng D, et al. Inflammatory processes associated with canine intervertebral disc herniation. *Front Immunol.* 2017;8:1681.
 73. Mücke M, Cuhls H, Radbruch L, et al. Quantitative sensory testing (QST). *Schmerz.* 2016.
 74. Rolke R, Baron R, Maier C, et al. Quantitative sensory testing in the German research network on neuropathic pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. *Pain.* 2006;123(3):231-243.
 75. Briley JD, Williams MD, Freire M, et al. Feasibility and repeatability of cold and mechanical quantitative sensory testing in normal dogs. *Vet J.* 2014;199(2):245-250.
 76. Sanchis-Mora S, Chang Y-M, Abeyesinghe S, et al. Development and initial validation of a sensory threshold examination protocol (STEP) for phenotyping canine pain syndromes. *Vet Anaesth Analg.* 2017;44(3):600-614.
 77. Williams MD, Kirkpatrick AE, Griffith E, et al. Feasibility and repeatability of thermal quantitative sensory testing in normal dogs and dogs with hind limb osteoarthritis-associated pain. *Vet J.* 2014;199(1):63-67.
 78. Gorney AM, Blau SR, Dohse CS, et al. Mechanical and thermal sensory testing in normal chondrodystrophoid dogs and dogs with spinal cord injury caused by thoracolumbar intervertebral disc herniations. *J Vet Intern Med.* 2016;30(2):627-635.
 79. Rolke R, Magerl W, Andrews Campbell K, et al. Quantitative sensory testing: a comprehensive protocol for clinical trials. *Eur J Pain.* 2006;10(1):77-88.
 80. Backonja MM, Attal N, Baron R, et al. Value of quantitative sensory testing in neurological and pain disorders: NeuPSIG consensus. *Pain.* 2013;154(9):1807-1819.

81. Zaslansky R, Yarnitsky D. Clinical applications of quantitative sensory testing (QST). *J Neurol Sci.* 1998;153(2):215-238.
82. Guillot M, Moreau M, Heit M, et al. Characterization of osteoarthritis in cats and meloxicam efficacy using objective chronic pain evaluation tools. *Vet J.* 2013;196(3):360-367.
83. Knazovicky D, Helgeson ES, Case B, et al. Replicate effects and teste-retest reliability of quantitative sensory threshold testing in dogs with and without chronic pain. *Vet Anaesth Analg.* 2017;44(3):615-624.
84. Rialland P, Otis C, Moreau M, et al. Association between sensitisation and pain-related behaviours in an experimental canine model of osteoarthritis. *Pain.* 2014;155(10):2071-2079.
85. Monteiro BP, Klinck MP, Moreau M, et al. Analgesic efficacy of an oral transmucosal spray formulation of meloxicam alone or in combination with tramadol in cats with naturally occurring osteoarthritis. *Vet Anaesth Analg.* 2016;43(6):643-651.
86. Monteiro BP, Otis C, Del Castillo JRE, et al. Quantitative sensory testing in feline osteoarthritic pain — a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2020;28(7):885-896.
87. Monteiro BP, Klinck MP, Moreau M, et al. Analgesic efficacy of tramadol in cats with naturally occurring osteoarthritis. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175565.
88. Gilron I, Baron R, Jensen T. Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(4):532-545.
89. Baron R, Binder A, Wasner G. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol.* 2010;9(8):807-819.
90. Boureau F, Doubrère JF, Luu M. Study of verbal description in neuropathic pain. *Pain.* 1990;42(2):145-152.
91. De Vries NJ, Sloot PH, Achterberg WP. Pain and pain assessment in stroke patients with aphasia : a systematic review. *Aphasiology.* 2017;31(6):703-719.

92. Stumpf A, Ständer S. Neuropathic itch: Diagnosis and management. *Dermatol Ther.* 2013;26(2):104-109.
93. Freeman R, Baron R, Bouhassira D, et al. Sensory profiles of patients with neuropathic pain based on the neuropathic pain symptoms and signs. *Pain.* 2014;155(2):367-376.
94. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioural model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain.* 1990;43(2):205-218.
95. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain.* 1992;50(3):355-363.
96. Decostered I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain.* 2000;87(2):149-158.
97. Lee BH, Won R, Baik EJ et al. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. *Neuroreport.* 2000;11(4):657-661.
98. Vos BP, Strassman AM, Maciewicz RJ. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *J Neurosci.* 1994;14 (5 Pt 1):2708-2723.
99. Mosconi T, Kruger L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations. *Pain.* 1996;64(1):37-57.
100. Jaggi AS, Jain V, Singh N. Animal models of neuropathic pain. *Fundam Clin Pharmacol.* 2011;25(1):1-28.
101. Bennett GJ, Xie Y-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain.* 1988;33(1):87-107.
102. Schaeppi U, Krinke G. Pyridoxine neuropathy: correlation of functional tests and neuropathology in beagle dogs treated with large doses of vitamin B 6. *Agents Actions.* 1982;12(4):575-582.

103. Krinke G, Schaumburg HH, Spencer PS, et al. Pyridoxine megavitaminosis produces degeneration of peripheral sensory neurons (sensory neuronopathy) in the dog. *Neurotoxicology*. 1981;2(1):13-24.
104. Hoover DM, Carlton WW, Henrikson CK. Ultrastructural lesions of pyridoxine toxicity in beagle dogs. *Vet Pathol*. 1981;18(6):769-777.
105. Yarnitsky D. Conditioned pain modulation (the diffuse noxious inhibitory control-like effect): its relevance for acute and chronic pain states. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2010;23(5):611-615.
106. Calvino B. Les cellules gliales: Leur rôle dans la douleur chronique. *Douleurs*. 2011;12(6):299-303.
107. Klinck MP, Mogil JS, Moreau M, et al. Translational pain assessment: could natural animal models be the missing link? *Pain*. 2017;158(9):1633-1646.
108. Clark AK, Old EA, Malcangio M. Neuropathic pain and cytokines: Current perspectives. *J Pain Res*. 2013;6:803-814.
109. Austin PJ, Moalem-Taylor G. Pathophysiology of neuropathic pain: inflammatory mediators. In: Toth C, Moulin DE, eds. *Neuropathic Pain: Causes, Management, and Understanding*. Cambridge university press; 2013:77-89.
110. Coraggio V, Guida F, Boccella S, et al. Neuroimmune-driven neuropathic pain establishment : a focus on gender differences. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1):281.
111. Fang N, Li Y, Xu Y-S, et al. Serum concentrations of IL-2 and TNF- α in patients with painful bone metastases: correlation with responses to $^{89}\text{SrCl}_2$ therapy. *J Nucl Med*. 2006;47(2):242-246.
112. Warner SC, Nair A, Marpadga R, et al. IL-15 and IL15RA in osteoarthritis: association with symptoms and protease production, but not structural severity. *Front Immunol*. 2020;11:1385.
113. Li S, Wu Y, Zhang J, et al. Spinal IP-10 participates in antinociception of electroacupuncture

- in osteoarthritis pain. *Int J Clin Exp Med*. 2017;10(7):10565-10576.
114. Allen PI, Conzemius MG, Evans RB, et al. Correlation between synovial fluid cytokine concentrations and limb function in normal dogs and in dogs with lameness from spontaneous osteoarthritis. *Vet Surg*. 2019;48(5):770-779.
 115. Chung JY, Choi JH, Hwang CY, et al. Pyridoxine induced neuropathy by subcutaneous administration in dogs. *J Vet Sci*. 2008;9(2):127-131.
 116. Kang J-Y, Yoo DY, Lee K-Y, et al. SP, CGRP changes in pyridoxine induced neuropathic dogs with nerve growth factor gene therapy. *BMC Neurosci*. 2016;17:1.
 117. Murphy M, Bartges JW, Zemel MB, et al. Effect of a leucine/pyridoxine nutraceutical on caloric intake and body composition of obese dogs losing weight. *Front Vet Sci*. 2020;7:555.
 118. Seki T, Hamauchi S, Yamazaki M, et al. Investigation of the neuropathic pain caused by syringomyelia associated with Chiari I malformation. *Asian Spine J*. 2019;13(4):648-653.
 119. Grubb T. Chronic neuropathic pain in veterinary patients. *Top Companion Anim Med*. 2010;25(1):45-52.
 120. Jiménez-Yedra A, Garcia-Herrera RA, Rivera-Notario M, et al. Neuropathic pain in dogs and cats: current evaluation and treatment perspectives: review. *Int J Anim Vet Adv*. 2014;6(1):8-14.
 121. Dolgikh VG, Reshetniak VK. Behavioral signs of neuropathic pain in cats due to compression of the infraorbital nerve. *Patol Fiziol Eksp Ter*. 1994;3:13-14.
 122. Menchetti M, Gandini G, Gallucci A, et al. Approaching phantom complex after limb amputation in the canine species. *J Vet Behav*. 2017;22:24-28.
 123. O'Hagan BJ. Neuropathic pain in a cat post-amputation. *Aust Vet J*. 2006;84(3):83-86.
 124. Menchetti M, Gandini G, Bravaccini B, et al. Clinical, electrodiagnostic findings and quality of life of dogs and cats with brachial plexus injury. *Vet Sci*. 2020;7(3):101.
 125. Rutherford L, Wessmann A, Rusbridge C, et al. Questionnaire-based behaviour analysis of

- Cavalier King Charles spaniels with neuropathic pain due to Chiari-like malformation and syringomyelia. *Vet J.* 2012;194(3):294-298.
126. Rusbridge C, McFadyen AK, Knowler SP. Behavioral and clinical signs of Chiari-like malformation-associated pain and syringomyelia in Cavalier King Charles spaniels. *J Vet Intern Med.* 2019;33(5):2138-2150.
 127. Holland CT, Charles JA, Smith SH, et al. Hemihyperaesthesia and hyperresponsiveness resembling central pain syndrome in a dog with a forebrain oligodendroglioma. *Aust Vet J.* 2000;78(10):676-680.
 128. Cummings JF, de Lahunta A, Simpson ST, et al. Reduced substance P-like immunoreactivity in hereditary sensory neuropathy of pointer dogs. *Acta Neuropathol.* 1984;63(1):33-40.
 129. Paradis M, De Jaham C, Pagé N, et al. Acral mutilation and analgesia in 13 French spaniels. *Vet Dermatol.* 2005;16(2):87-93.
 130. Forman OP, Hitti RJ, Pettitt L, et al. An inversion disrupting FAM134B is associated with sensory neuropathy in the Border Collie dog breed. *G3 (Bethesda).* 2016;6(9):2687-2692.
 131. Correard S, Plassais J, Lagoutte L, et al. Canine neuropathies: powerful spontaneous models for human hereditary sensory neuropathies. *Hum Genet.* 2019;138(5):455-466.
 132. Kachramanoglou C, Carlstedt T, Koltzenburg M, et al. Self-mutilation in patients after nerve injury may not be due to deafferentation pain: A case report. *Pain Med.* 2011;12(11):1644-1648.
 133. Rodin BE, Kruger L. Deafferentation in animals as a model for the study of pain: an alternative hypothesis. *Brain Res.* 1984;319(3):213-228.
 134. Blumenkopf B, Lipman JJ. Studies in autotomy: its pathophysiology and usefulness as a model of chronic pain. *Pain.* 1991;45(2):203-209.
 135. Gross TL, Carr SH. Amputation neuroma of docked tails in dogs. *Vet Pathol.* 1990;27(1):61-62.

136. Moore SA. Managing neuropathic pain in dogs. *Front Vet Sci.* 2016;3:12.
137. Knazovicky D, Tomas A, Motsinger-Reif A, et al. Initial evaluation of nighttime restlessness in a naturally occurring canine model of osteoarthritis pain. *PeerJ.* 2015;3:e772.
138. Gruen ME, Samson DR, Lascelles BDX. Functional linear modeling of activity data shows analgesic-mediated improved sleep in dogs with spontaneous osteoarthritis pain. *Sci Rep.* 2019;9(1):14192.
139. Kuntzer T, Decosterd I. Douleurs neuropathiques : contexte, nouveaux outils, nouveaux médicaments. *Rev Med Suisse.* 2005;1(43):2812-1816.
140. Schlereth T. Guideline “diagnosis and non interventional therapy of neuropathic pain” of the German Society of Neurology (deutsche Gesellschaft für Neurologie). *Neurol Res Pract.* 2020;2:16.
141. Bennett M. The LANSS pain scale: the Leeds assessment of neuropathic symptoms and signs. *Pain.* 2001;92(1-2):147-157.
142. Krause SJ, Backonja M-M. Development of a neuropathic pain questionnaire. *Clin J Pain.* 2003;19(5):306-314.
143. Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, et al. Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4). *Pain.* 2005;114(1-2):29-36.
144. Freynhagen R, Baron R, Gockel U, et al. painDETECT: A new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. *Curr Med Res Opin.* 2006;22(10):1911-1920.
145. Portenoy R. Development and testing of a neuropathic pain screening questionnaire: ID Pain. *Curr Med Res Opin.* 2006;22(8):1555-1565.
146. Cruccu G, Truini A. Tools for assessing neuropathic pain. *PLoS Med.* 2009;6(4):e1000045.
147. Finnerup NB, Haroutounian S, Kamerman P, et al. Neuropathic pain: an updated grading

- system for research and clinical practice. *Pain*. 2016;157(8):1599-1606.
148. Mathews K, Kronen PW, Lascelles D, et al. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *J Small Anim Pract*. 2014;55(6):E10-68.
 149. Farrar JT, Young Jr JP, LaMoreaux L, et al. Clinical importance of changes in chronic pain intensity measured on an 11-point numerical pain rating scale. *Pain*. 2001;94(2):149-158.
 150. Finnerup NB, Attal N, Haroutounian S, et al. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2015;14(2):162-173.
 151. Bates D, Schultheis CB, Hanes MC, et al. A comprehensive algorithm for management of neuropathic pain. *Pain Med*. 2019;20(Suppl 1):S2-S12.
 152. Sindrup SH, Otto M, Finnerup NB, et al. Antidepressants in the treatment of neuropathic pain. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005;96(6):399-409.
 153. Smith HS, Argoff C, Kaur M, et al. Gabapentinoids and other anticonvulsivants. In: *Neuropathic Pain: Causes, Management, and Understanding*. 2013:225-239.
 154. Hayashida K-I, Eisenach JC. Descending noradrenergic inhibition: an important mechanism of gabapentin analgesia in neuropathic pain. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1099:93-100.
 155. Micó JA, Ardid D, Berrocoso E, et al. Antidepressants and pain. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(7):348-354.
 156. Haanpää M. Antidepressants: TCA and SNRIs. In: Toth C, Moulin DE, eds. *Neuropathic Pain: Causes, Management, and Understanding*. New York: Cambridge university press; 2013:217-224.
 157. Leffler A, Lattrell A, Kronewald S, et al. Activation of TRPA1 by membrane permeable local anesthetics. *Mol Pain*. 2011;7:62.
 158. Casale R, Symeonidou Z, Bartolo M. Topical treatments for localized neuropathic pain. *Curr Pain Headache Rep*. 2017;21(3):15.
 159. Tsagareli N, Tsiklauri N, Kvachadze I, et al. Endogenous opioid and cannabinoid systems

- contribute to antinociception produced by administration of NSAIDs into the insular cortex of rats. *Biomed Pharmacother.* 2020;131:110722.
160. Takahashi M, Kawaguchi M, Shimada K, et al. Systemic meloxicam reduces tactile allodynia development after L5 single spinal nerve injury in rats. *Reg Anesth Pain Med.* 2005;30(4):351-355.
 161. Vo T, Rice ASC, Dworkin RH. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for neuropathic pain: how do we explain continued widespread use? *Pain.* 2009;143(3):169-171.
 162. Quessy SN, Rowbotham MC. Placebo response in neuropathic pain trials. *Pain.* 2008;138(3):479-483.
 163. Vase L, Skyt I, Hall KT. Placebo, nocebo, and neuropathic pain. *Pain.* 2016;157(Suppl 1):S98-S105.
 164. Rusbridge C, Jeffery ND. Pathophysiology and treatment of neuropathic pain associated with syringomyelia. *Vet J.* 2008;175(2):164-172.
 165. Lee M, Silverman SM, Hansen H, et al. A comprehensive review of opioid-induced hyperalgesia. *Pain Physician.* 2011;14(2):145-161.
 166. Mizoguchi H, Watanabe C, Yonezawa A, et al. Chapter 19 New Therapy for Neuropathic Pain. In: Vol 85. Academic Press; 2009:249-260.
 167. McNicol ED, Midbari A, Eisenberg E. Opioids for neuropathic pain. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013(8):CD006146.
 168. Zulch HE, Mills DS, Lambert R, et al. The use of tramadol in a Labrador retriever presenting with self-mutilation of the tail. *J Vet Behav.* 2012;7(4):252-258.
 169. Giudice E, Crinò C, Barillaro G, et al. Clinical findings in degenerative lumbosacral stenosis in ten dogs—a pilot study on the analgesic activity of tramadol and gabapentin. *J Vet Behav.* 2019;33:7-15.
 170. Lascelles BDX, Gaynor JS, Smith ES, et al. Amantadine in a multimodal analgesic regimen

- for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs. *J Vet Intern Med.* 2008;22(1):53-59.
171. Madden M, Gurney M, Bright S. Amantadine, an N-Methyl-D-Aspartate antagonist, for treatment of chronic neuropathic pain in a dog. *Vet Anaesth Analg.* 2014;41(4):440-441.
 172. Amengual Batle P, Rusbridge C, Nuttal T, et al. Feline hyperaesthesia syndrome with self-trauma to the tail: retrospective study of seven cases and proposal for an integrated multidisciplinary diagnostic approach. *J Feline Med Surg.* 2019;21(2):178-185.
 173. Cashmore RG, Harcourt-Brown TR, Freeman PM, et al. Clinical diagnosis and treatment of suspected neuropathic pain in three dogs. *Aust Vet J.* 2009;87(1-2):45-50.
 174. Monteiro BP, de Lorimier L-P, Moreau M, et al. Pain characterization and response to palliative care in dogs with naturally-occurring appendicular osteosarcoma: an open label clinical trial. *PLoS One.* 2018;13(12):e0207200.
 175. Sanchis-Mora S, Chang YM, Abeyesinghe SM, et al. Pregabalin for the treatment of syringomyelia-associated neuropathic pain in dogs: a randomised, placebo-controlled, double-masked clinical trial. *Vet J.* 2019;250:55-62.
 176. Thoefner MS, Skovgaard LT, McEvoy FJ, et al. Pregabalin alleviates clinical signs of syringomyelia-related central neuropathic pain in Cavalier King Charles Spaniel dogs: a randomized controlled trial. *Vet Anaesth Analg.* 2020;47(2):238-248.
 177. Plessas IN, Volk HA, Rusbridge C, et al. Comparison of gabapentin versus topiramate on clinically affected dogs with Chiari-like malformation and syringomyelia. *Vet Rec.* 2015;177(11):288.
 178. Freynhagen R, Parada HA, Calderon-Ospina CA, et al. Current understanding of the mixed pain concept : a brief narrative review. *Curr Med Res Opin.* 2019;35(6):1011-1018.
 179. Cheng J-K, Chiou L-C. Mechanisms of the antinociceptive action of gabapentin. *J Pharmacol Sci.* 2006;100(5):471-486.
 180. Hayashida K-I, Obata H. Strategies to treat chronic pain and strengthen impaired descending noradrenergic inhibitory system. *Int J Mol Sci.* 2019;20(4):822.

181. Radulovic LL, Türck D, Von Hodenberg A, et al. Disposition of gabapentin (neurotin) in mice, rats, dogs and monkeys. *Drug Metab Dispos.* 1995;23(4):441-448.
182. Adrian D, Papich MG, Baynes R, et al. Pharmacokinetics of gabapentin in cats. *J Vet Intern Med.* 2018;32(6):1996-2002.
183. Siao KT, Pypendop BH, Ilkiw JE. Pharmacokinetics of gabapentin in cats. *Am J Vet Res.* 2010;71(7):817-821.
184. Kukanich B, Cohen RL. Pharmacokinetics of oral gabapentin in greyhound dogs. *Vet J.* 2011;187(1):133-135.
185. Vollmer KO, von Hodenberg A, Kölle EU. Pharmacokinetics and metabolism of gabapentin in rat, dog and man. *Arzneimittelforschung.* 1986;36(5):830-839.
186. Aghighi SA, Tipold A, Piechotta M, et al. Assessment of the effects of adjunctive gabapentin on postoperative pain after intervertebral disc surgery in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2012;39(6):636-646.
187. Crociolli GC, Cassu RN, Barbero RC, et al. Gabapentin as an adjuvant for postoperative pain management in dogs undergoing mastectomy. *J Vet Med Sci.* 2015;77(8):1011-1015.
188. Steagall PV, Benito J, Monteiro BP, et al. Analgesic effects of gabapentin and buprenorphine in cats undergoing ovariohysterectomy using two pain-scoring systems: a randomized clinical trial. *J Feline Med Surg.* 2018;20(8):741-748.
189. Wagner AE, Mich PM, Uhrig SR, et al. Clinical evaluation of perioperative administration of gabapentin as an adjunct for postoperative analgesia in dogs undergoing amputation of a forelimb. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;236(7):751-756.
190. Pankratz KE, Ferris KK, Griffith EH, et al. Use of single-dose oral gabapentin to attenuate fear responses in cage-trap confined community cats : a double- blind , placebo-controlled field trial. *J Feline Med Surg.* 2018;20(6):535-543.
191. van Haften KA, Eichstadt Forsythe LR, Stelow EA, et al. Effects of a single preappointment dose of gabapentin on signs of stress in cats during transportation and veterinary

- examination. *J Am Vet Med Assoc.* 2017;251(10):1175-1181.
192. Hu J, Huang D, Li M, et al. Effects of a single dose of preoperative pregabalin and gabapentin for acute postoperative pain : a network meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pain Res.* 2018;11:2633-2643.
193. Felder L, Saccone G, Scutto S, et al. Perioperative gabapentin and post cesarean pain control : a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;233:98-106.
194. Zeng M, Dong J, Lin N, et al. Preoperative gabapentin administration improves acute postoperative analgesia in patients undergoing craniotomy : a randomized controlled trial. *J Neurosurg Anesth.* 2019;31(4):392-398.
195. Li X-D, Han C, Yu W-L. Is gabapentin effective and safe in open hysterectomy? A PRISMA compliant meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Anesth.* 2017;41:76-83.
196. Moskowitz EE, Garabedian L, Hardin K, et al. A double-blind, randomized controlled trial of gabapentin vs. placebo for acute pain management in critically ill patients with rib fractures. *Injury.* 2018;49(9):1693-1698.
197. Tulandi T, Krishnamurthy S, Mansour F, et al. A triple-blind randomized trial of preemptive use of gabapentin before laparoscopic hysterectomy for benign gynaecologic conditions. *J Obstet Gynaecol Can.* 2019;41(9):1282-1288.
198. Verret M, Lauzier F, Zarychanski R, et al. Perioperative use of gabapentinoids for the management of postoperative acute pain : a systematic review and meta-analysis. *Anesthesiology.* 2020;133(2):265-279.
199. Chou R, Gordon DB, De Leon-casasola OA, et al. Management of postoperative pain: a clinical practice guideline from the American Pain Society, the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists' Committee on Regional Anesthesia, Executive Committee, and Administrative Council. *J Pain.* 2016;17(2):131-157.

200. KuKanich B. Outpatient oral analgesics in dogs and cats beyond nonsteroidal antiinflammatory drugs: an evidence-based approach. *Vet Clin North Am- Small Anim Pract.* 2013;43(5):1109-1125.
201. Steagall PVM, Monteiro-Steagall BP. Multimodal analgesia for perioperative pain in three cats. *J Feline Med Surg.* 2013;15(8):737-743.
202. Vettorato E, Corletto F. Gabapentin as part of multi-modal analgesia in two cats suffering multiple injuries. *Vet Anaesth Analg.* 2011;38(5):518-520.
203. Lorenz ND, Comerford EJ, Iff I. Long-term use of gabapentin for musculoskeletal disease and trauma in three cats. *J Feline Med Surg.* 2013;15(6):507-512.
204. Reid P, Pypendop BH, Ilkiw JE. The effects of intravenous gabapentin administration on the minimum alveolar concentration of isoflurane in cats. *J Anesth Analg.* 2010;111(3):633-637.
205. Pypendop BH, Siao KT, Ilkiw JE. Thermal antinociceptive effect of orally administered gabapentin in healthy cats. *Am J Vet Res.* 2010;71(9):1027-1032.
206. Ebert B, Mikkelsen S, Thorkildsen C, et al. Norketamine, the main metabolite of ketamine, is a non-competitive NMDA receptor antagonist in the rat cortex and spinal cord. *Eur J Pharmacol.* 1997;333(1):99-104.
207. Pozzi A, Muir WW, Traverso F. Prevention of central sensitization and pain by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *J Am Vet Med Assoc.* 2006;228(1):53-60.
208. McNicol ED, Schumann R, Haroutounian S. A systematic review and meta-analysis of ketamine for the prevention of persistent post-surgical pain. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2014;58(10):1199-1213.
209. Bell RF, Dahl JB, Moore RA, et al. Peri-operative ketamine for acute post-operative pain: a quantitative and qualitative systematic review (Cochrane review). *Acta Anaesthesiol Scand.* 2005;49(10):1405-1428.
210. Shapiro J, Jersky J, Katzav S, et al. Anesthetic drugs accelerate the progression of

- postoperative metastases of mouse tumors. *J Clin Invest*. 1981;68(3):678-685.
211. Kim R. Effects of surgery and anesthetic choice on immunosuppression and cancer recurrence. *J Transl Med*. 2018;16(1):8.
212. Melamed R, Bar-Yosef S, Shakhar G, et al. Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumor metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg*. 2003;97(5):1331-1339.
213. Beilin B, Bessler H, Mayburd E, et al. Effects of preemptive analgesia on pain and cytokine production in the postoperative period. *Anesthesiology*. 2003;98(1):151-155.
214. Zhou N, Fu Z, Li H, et al. Ketamine, as adjuvant analgesics for patients with refractory cancer pain, does affect IL-2/IFN-gamma expression of T cells in vitro?: A prospective, randomized, double-blind study. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(16):e6639.
215. Kawasaki C, Kawasaki T, Ogata M, et al. Ketamine isomers suppress superantigen-induced proinflammatory cytokine production in human whole blood. *Can J Anaesth*. 2001;48(8):819-823.
216. Kehlet H, Dahl JB. The value of "multimodal" or "balanced analgesia" in postoperative pain treatment. *Anesth Analg*. 1993;77(5):1048-1056.
217. Sarrau S, Jourdan J, Dupuis-Soyris F, et al. Effects of postoperative ketamine infusion on pain control and feeding behaviour in bitches undergoing mastectomy. *J Small Anim Pract*. 2007;48(12):670-676.
218. Wagner AE, Walton JA, Hellyer PW, et al. Use of low doses of ketamine administered by constant rate infusion as an adjunct for postoperative analgesia in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 2002;221(1):72-75.
219. Gutierrez-Blanco E, Victoria-Mora JM, Ibanovichi-Camarillo JA, et al. Postoperative analgesic effects of either a constant rate infusion of fentanyl, lidocaine, ketamine, dexmedetomidine, or the combination lidocaine-ketamine-dexmedetomidine after

- ovariohysterectomy in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2015;42(3):309-318.
220. Boscan P, Pypendop BH, Solano AM, et al. Cardiovascular and respiratory effects of ketamine infusions in isoflurane-anesthetized dogs before and during noxious stimulation. *Am J Vet Res*. 2005;66(12):2122-2129.
221. Gutierrez-Blanco E, Victoria-Mora JM, Ibancovich-Camarillo JA, et al. Evaluation of the isoflurane-sparing effects of fentanyl, lidocaine, ketamine, dexmedetomidine, or the combination lidocaine-ketamine-dexmedetomidine during ovariohysterectomy in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2013;40(6):599-609.
222. Pypendop BH, Solano A, Boscan P, et al. Characteristics of the relationship between plasma ketamine concentration and its effect on the minimum alveolar concentration of isoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2007;34(3):209-212.
223. Cohen SP, Bhatia A, Buvanendran A, et al. Consensus guidelines on the use of intravenous ketamine infusions for chronic pain from the American Society of Regional Anesthesia and Pain Medicine, the American Academy of Pain Medicine, and the American Society of Anesthesiologists. *Reg Anesth Pain Med*. 2018;43(5):521-546.
224. Slingsby LS, Waterman-Pearson AE. The post-operative analgesic effects of ketamine after canine ovariohysterectomy—a comparison between pre- or post-operative administration. *Res Vet Sci*. 2000;69(2):147-152.
225. Love L, Egger C, Rohrbach B, et al. The effect of ketamine on the MACBAR of sevoflurane in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2011;38(4):292-300.
226. Muir WW 3rd, Wiese AJ, March PA. Effects of morphine, lidocaine, ketamine, and morphine-lidocaine-ketamine drug combination on minimum alveolar concentration in dogs anesthetized with isoflurane. *Am J Vet Res*. 2003;64(9):1155-1160.
227. Pascoe PJ, Ilkiw JE, Craig C, et al. The effects of ketamine on the minimum alveolar concentration of isoflurane in cats. *Vet Anaesth Analg*. 2007;34(1):31-39.
228. Solano AM, Pypendop BH, Boscan PL, et al. Effect of intravenous administration of

- ketamine on the minimum alveolar concentration of isoflurane in anesthetized dogs. *Am J Vet Res.* 2006;67(1):21-25.
229. Steagall PVM, Aucoin M, Monteiro BP, et al. Clinical effects of a constant rate infusion of remifentanyl, alone or in combination with ketamine, in cats anesthetized with isoflurane. *J Am Vet Med Assoc.* 2015;246(9):976-981.
230. Grond S, Sablotzki A. Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(13):879-923.
231. Perez Jimenez TE, Mealey KL, Schneider D, et al. Identification of canine cytochrome P-450s (CYPs) metabolizing the tramadol (+)-M1 and (+)-M2 metabolites to the tramadol (+)-M5 metabolite in dog liver microsomes. *J Vet Pharmacol Ther.* 2018;41(6):815-824.
232. Benitez ME, Roush JK, Kukanich B, et al. Pharmacokinetics of hydrocodone and tramadol administered for control of postoperative pain in dogs following tibial plateau leveling osteotomy. *Am J Vet Res.* 2015;76(9):763-770.
233. Kögel B, Terlinden R, Schneider J. Characterisation of tramadol, morphine and tapentadol in an acute pain model in Beagle dogs. *Vet Anaesth Analg.* 2014;41(3):297-304.
234. Kukanich B, Papich MG. Pharmacokinetics and antinociceptive effects of oral tramadol hydrochloride administration in Greyhounds. *Am J Vet Res.* 2011;72(2):256-262.
235. Vettorato E, Zonca A, Isola M, et al. Pharmacokinetics and efficacy of intravenous and extradural tramadol in dogs. *Vet J.* 2010;183(3):310-315.
236. Cagnardi P, Villa R, Zonca A, et al. Pharmacokinetics, intraoperative effect and postoperative analgesia of tramadol in cats. *Res Vet Sci.* 2011;90(3):503-509.
237. Pypendop BH, Ilkiw JE. Pharmacokinetics of tramadol, and its metabolite O-desmethyl-tramadol, in cats. *J Vet Pharmacol Ther.* 2008;31(1):52-59.
238. Perez Jimenez TE, Mealey KL, Grubb TL, et al. Tramadol metabolism to O-desmethyl tramadol (M1) and N-desmethyl tramadol (M2) by dog liver microsomes: Species comparison and identification of responsible canine cytochrome P-450s (CYPs). *Drug*

Metab Dispos. 2016;44(12):1963-1972.

239. KuKanich B, Papich MG. Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004;27(4):239-246.
240. Wu WN, McKown LA, Gauthier AD, et al. Metabolism of the analgesic drug, tramadol hydrochloride, in rat and dog. *Xenobiotica.* 2001;31(7):423-441.
241. Miotto K, Cho AK, Khalil MA, et al. Trends in tramadol: pharmacology, metabolism, and misuse. *Anesth Analg.* 2017;124(1):44-51.
242. Flôr PB, Yazbek KVB, Ida KK, et al. Tramadol plus metamizole combined or not with anti-inflammatory drugs is clinically effective for moderate to severe chronic pain treatment in cancer patients. *Vet Anaesth Analg.* 2013;40(3):316-327.
243. Guedes AGP, Meadows JM, Pypendop BH, et al. Evaluation of tramadol for treatment of osteoarthritis in geriatric cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2018;252(5):565-571.
244. Indrawirawan Y, McAlees T. Tramadol toxicity in a cat: case report and literature review of serotonin syndrome. *J Feline Med Surg.* 2014;16(7):572-578.
245. Cepeda MS, Camargo F, Zea C, et al. Tramadol for osteoarthritis. *Cochrane database Syst Rev.* 2006;(3):CD005522.
246. Duehmke RM, Derry S, Wiffen PJ, et al. Tramadol for neuropathic pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;6(6):CD003726.
247. Chaparro LE, Furlan AD, Deshpande A, et al. Opioids compared to placebo or other treatments for chronic low-back pain. *Cochrane database Syst Rev.* 2013;(8):CD004959.
248. Sonis J. Tramadol for acute pain: a review of the evidence. *Am Fam Physician.* 2005;72(10):1964; author reply 1964, 1966.
249. Budsberg SC, Torres BT, Kleine SA, et al. Lack of effectiveness of tramadol hydrochloride for the treatment of pain and joint dysfunction in dogs with chronic osteoarthritis. *J Am Vet Med Assoc.* 2018;252(4):427-432.

250. Davila D, Keeshen TP, Evans RB, et al. Comparison of the analgesic efficacy of perioperative firocoxib and tramadol administration in dogs undergoing tibial plateau leveling osteotomy. *J Am Vet Med Assoc.* 2013;243(2):225-231.
251. Benitez ME, Roush JK, McMurphy R, et al. Clinical efficacy of hydrocodone-acetaminophen and tramadol for control of postoperative pain in dogs following tibial plateau leveling osteotomy. *Am J Vet Res.* 2015;76(9):755-762.
252. Cardozo LB, Cotes LC, Kahvegian MAP, et al. Evaluation of the effects of methadone and tramadol on postoperative analgesia and serum interleukin-6 in dogs undergoing orthopaedic surgery. *BMC Vet Res.* 2014;10:194.
253. Delgado C, Bentley E, Hetzel S, et al. Comparison of carprofen and tramadol for postoperative analgesia in dogs undergoing enucleation. *J Am Vet Med Assoc.* 2014;245(12):1375-1381.
254. Kongara K, Chambers JP, Johnson CB. Effects of tramadol, morphine or their combination in dogs undergoing ovariohysterectomy on peri-operative electroencephalographic responses and post-operative pain. *N Z Vet J.* 2012;60(2):129-135.
255. Kongara K, Chambers JP, Johnson CB, et al. Effects of tramadol or morphine in dogs undergoing castration on intra-operative electroencephalogram responses and post-operative pain. *N Z Vet J.* 2013;61(6):349-353.
256. Teixeira RC, Monteiro ER, Campagnol D, et al. Effects of tramadol alone, in combination with meloxicam or dipyrone, on postoperative pain and the analgesic requirement in dogs undergoing unilateral mastectomy with or without ovariohysterectomy. *Vet Anaesth Analg.* 2013;40(6):641-649.
257. Brondani JT, Loureiro Luna SP, Beier SL, et al. Analgesic efficacy of perioperative use of vedaprofen, tramadol or their combination in cats undergoing ovariohysterectomy. *J Feline Med Surg.* 2009;11(6):420-429.
258. Evangelista MC, Silva RA, Cardozo LB, et al. Comparison of preoperative tramadol and pethidine on postoperative pain in cats undergoing ovariohysterectomy. *BMC Vet Res.*

2014;10:252.

259. Pypendop BH, Siao KT, Ilkiw JE. Effects of tramadol hydrochloride on the thermal threshold in cats. *Am J Vet Res.* 2009;70(12):1465-1470.
260. Steagall PVM, Taylor PM, Brondani JT, et al. Antinociceptive effects of tramadol and acepromazine in cats. *J Feline Med Surg.* 2008;10(1):24-31.
261. Crews JC, Cahall M, Behbehani MM. The neurophysiologic mechanisms of tourniquet pain: the activity of neurons in the rostrocentral medulla in the rat. *Anesthesiology.* 1994;81:730-736.
262. Potvin S, Marchand S. Pain facilitation and pain inhibition during conditioned pain modulation in fibromyalgia and in healthy controls. *Pain.* 2016;157(8):1704-1710.
263. Granovsky Y. Conditioned pain modulation: a predictor for development and treatment of neuropathic pain. *Curr Pain Headache Rep.* 2013;17(9):361.
264. Albu S, Gómez-Soriano J, Avila-Martin G, et al. Deficient conditioned pain modulation after spinal cord injury correlates with clinical spontaneous pain measures. *Pain.* 2015;156(2):260-272.
265. Gruener H, Zeilig G, Laufer Y, et al. Differential pain modulation properties in central neuropathic pain after spinal cord injury. *Pain.* 2016;157(7):1415-1424.
266. Perrotta A, Serrao M, Ambrosini A, et al. Facilitated temporal processing of pain and defective supraspinal control of pain in cluster headache. *Pain.* 2013;154(8):1325-1332.
267. Hunt J, Knazovicky D, Lascelles BDX, et al. Quantitative sensory testing in dogs with painful disease: a window to pain mechanisms? *Vet J.* 2019;243:33-41.
268. Chiu KW, Hash J, Meyers R, et al. The effect of spontaneous osteoarthritis on conditioned pain modulation in the canine model. *Sci Rep.* 2020;10(1):1694.
269. Mertens MG, Hermans L, Crombez G, et al. Comparison of five conditioned pain modulation paradigms and influencing personal factors in healthy adults. *Eur J Pain.*

2020;25(1):243-256.

270. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, et al. Neuropathic Pain. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17002.
271. Chalaye P, Lafrenaye S, Goffaux P, et al. The role of cardiovascular activity in fibromyalgia and conditioned pain modulation. *Pain*. 2014;155(6):1064-1069.
272. Erdemoglu AK, Koc R. Brief Pain Inventory score identifying and discriminating neuropathic and nociceptive pain. *Acta Neurol Scand*. 2013;128(5):351-358.
273. Tan G, Jensen MP, Thornby JI, et al. Validation of the Brief Pain Inventory for chronic nonmalignant pain. *J pain*. 2004;5(2):133-137.
274. Lapane KL, Quilliam BJ, Benson C, et al. One, two, or three? Constructs of the brief pain inventory among patients with non-cancer pain in the outpatient setting. *J Pain Symptom Manage*. 2014;47(2):325-333.
275. Smith BH, Torrance N, Bennett MI, et al. Health and quality of life associated with chronic pain of predominantly neuropathic origin in the community. *Clin J Pain*. 2007;23(2):143-149.
276. Belshaw Z, Asher L, Harvey ND, et al. Quality of life assessment in domestic dogs: an evidence-based rapid review. *Vet J*. 2015;206(2):203-212.
277. Serras AR, Berlato D, Murphy S. Owners' perception of their dogs' quality of life during and after radiotherapy for cancer. *J Small Anim Pract*. 2019;60(5):268-273.
278. Ruel HLM, Steagall PV. Pruritus and neuropathic pain in a dog. *Clin Brief*. 2018;(October):39-41.
279. Hansen BD, Lascelles BDX, Keene BW, et al. Evaluation of an accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *Am J Vet Res*. 2007;68(5):468-475.

Annexe

Cette annexe réfère à une publication dont l'objectif était de contribuer à la sensibilisation des praticiens en médecine des animaux de compagnie, aux défis diagnostic et thérapeutique que représentent la douleur chronique et particulièrement la douleur neuropathique.

Cet article a été écrit en collaboration avec Pr Paulo Steagall et publié dans le journal Clinicians' Brief (journal révisé par les pairs et destinés aux praticiens généralistes). En s'appuyant sur un cas réel, cette chronique ouvre le lecteur sur la complexité du diagnostic de douleur neuropathique et l'amène à considérer la nécessité d'une intervention multidisciplinaire pour progresser vers la remédiation du problème. Cet article se veut concis et pratique.

Pruritus & Neuropathic Pain in a Dog

Hélène Ruel & Paulo V. Steagall

Université de Montréal, Quebec, Canada

History

A 4-year-old, 55-lb (25-kg), neutered male Portuguese water dog was presented for a 1-year history of intractable pruritus and excessive licking of the lateral aspect of the 5th digit of the left pelvic limb. BCS was 5/9. The pruritus began concomitantly with the growth of an erythematous cutaneous mass localized between the 4th and 5th digit on the same paw, which was later diagnosed as an abscess. The patient received an injectable course of antibiotics and corticosteroids followed by 2 oral antibiotic and corticosteroid courses over a 5-month period. There was no treatment response, so surgical excision of the mass was performed.

After the surgery, pruritus became almost continuous (10/10 using a canine pruritus severity scale¹) and persisted even after the wound had healed. A second surgical procedure was performed 3 months after the first surgery to debride the wound, and the skin over the 4th and 5th digits was fused. The patient continued to exhibit compulsive licking and biting of the pelvic limb postoperatively, so the owners were instructed to use an Elizabethan collar or a sock over the affected paw to prevent self-mutilation.

Because pruritus persisted, radiography and ultrasonography of the distal limb were performed; no abnormalities were present. Prednisone (0.5 mg/kg PO q24h) and diphenhydramine (2.2 mg/kg PO q8h) were administered, and the degree of pruritus decreased to 3/10. The patient was referred to a dermatologist, who administered amoxicillin–clavulanic acid for treatment of suspected pyoderma. Pruritus was diminished but not resolved (2/10). Localized biting and licking in absence of an obvious local underlying cause was suggestive of a neurologic etiology, and the dog was referred to a board-certified neurologist for further diagnostic investigation.

Physical Examination

Physical examination was unremarkable except for a 4-cm area of alopecia over the distal and dorsolateral aspect of the left pelvic limb and compulsive licking induced by a light touch and pin prick over the sensory distribution of the tibial nerve from the tibiofemoral joint to the extremity of the limb. The patient's responses to the light touch and pin prick were thought to represent allodynia and hyperalgesia, respectively. Neurologic examination revealed the following changes:

- Stiffness of the left pelvic limb characterized by weak flexion of the stifle and short strides
- The patient favored a resting position in semi-sternal recumbency (ie, patient lying on his chest and left pelvic limb).
- Decreased postural reactions on the left pelvic limb as compared with the ipsilateral side, which was normal
- Normal spinal reflexes except for an incomplete left pelvic limb withdrawal reflex as compared with the ipsilateral side, which was normal
- Pain elicited (ie, the patient flinched) on palpation of the lumbosacral junction

Diagnosis

CBC and serum chemistry profile results were within normal limits. CT of the left pelvic limb and lumbosacral junction revealed a mild protrusion of the intervertebral disk at the lumbosacral junction, without evidence of compression of the cauda equina or L7 spinal root. Left iliac medial and popliteal lymphadenopathy were reported. MRI of the lumbosacral junction confirmed the protrusion at L7-S1 and showed another protrusive but apparently noncompressive disk at L6-L7. Bone remodeling of the cranial facet of S1 was noted protruding into the vertebral canal. Dynamic impingement could not be ruled out.

Concomitant allodynia and hyperalgesia localized over the area of the tibial nerve were suggestive of neuropathic pain.

DIAGNOSIS: INTERVERTEBRAL DISK DISEASE

Discussion

In this case, spontaneous pruritus and excessive licking resulting in secondary abscess formation were thought to represent a sign of abnormal sensation in the affected limb (ie, dysesthesia). Neuropathic pain has no physiologic purpose and involves a lesion of the somatosensory system. Concomitant allodynia and hyperalgesia constitute a component of neuropathic pain. According to the International Association for the Study of Pain, allodynia refers to pain caused by a stimulus that does not normally provoke pain, whereas hyperalgesia corresponds to an increased sensitivity to noxious stimulation.² Limb nerve entrapment and lumbosacral lesions have been described as potential causes for neuropathic pain in dogs.^{3,4} Diagnosis of neuropathic pain may be challenging due to the lack of validated tools for its assessment.

Treatment & Long-Term Management

The owners declined surgery and opted for medical management. The patient was successfully treated with gabapentin (10 mg/kg PO q8h), meloxicam (0.1 mg/kg PO q24h), and amantadine (3 mg/kg PO q24h). Pruritus decreased with therapy (2/10). The patient itched occasionally. Gabapentinoids (eg, gabapentin) bind to $\alpha\delta$ -subunits of voltage-dependent calcium channels and block calcium currents involved in the maintenance of spinal cord central sensitization. Nerve injury causes increased glutamate activity. Glutamate binds to N-methyl-D-aspartate receptors, which contribute to spinal central sensitization.⁵

Transcutaneous electrical nerve stimulation—a technique used in physiotherapy to alleviate pain via inhibition of presynaptic transmission in the dorsal horn of the spinal cord and increased release of enkephalins, endorphins, and dynorphins—was used as an adjuvant therapy and as

part of this patient's multimodal analgesic approach. Transcutaneous electrical nerve stimulation has been used in humans with neuropathic pain as adjunct therapy.^{6,7}

Treatment at a Glance

- Gabapentinoids (eg, gabapentin) to block calcium currents involved in the maintenance of spinal cord central sensitization
- N-methyl-D-aspartate antagonists (eg, amantadine, ketamine) to prevent or treat central sensitization
- NSAIDs to reduce peripheral inflammation and hyperalgesia
- Transcutaneous electrical nerve stimulation used as an adjuvant therapy and as part of a multimodal analgesic approach

Prognosis & Outcome

After 2 months of treatment, meloxicam was decreased to 0.1 mg/kg q48h and amantadine was decreased to approximately 1-2 mg/kg q48h for 2 weeks, when treatment with both drugs was discontinued. Gabapentin (5 mg/kg PO q8h) was used as maintenance therapy, as the dog was mostly comfortable and only occasionally exhibited shaking of the left pelvic limb. Follow-up consultations every 3 months were suggested.

Take-Home Messages

Neuropathic pain is pain caused by a lesion or disease of the somatosensory system and should be suspected in the presence of central sensitization resulting in allodynia and hyperalgesia.² Clinical signs of neuropathic pain are nonspecific and often require multidisciplinary collaboration to reach diagnosis. Surgery, primary neurologic disease, diabetes, and osteoarthritis are potential causes of neuropathic pain. The underlying mechanism of neuropathic pain is not fully understood but likely involves hyperexcitability of afferent neurons, peripheral and central

sensitization, and activation of the microglia.³ Neuropathic pain is commonly refractory to conventional analgesia and requires a multimodal approach.⁴

References

1. Rybníček J, Lau-Gillard PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *Vet Dermatol*. 2009;20(2):115-122.
2. International Association for the Study of Pain. IASP terminology. <http://www.iasp-pain.org/terminology?navItemNumber=576>. Accessed August 13, 2018.
3. Mathews K, Kronen P, Lascelles D, et al. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *J Small Anim Pract*. 2014;55(6):E10-E68.
4. Moore SA. Managing neuropathic pain in dogs. *Front Vet Sci*. 2016;3(3):12.
5. Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011;152(3 Suppl):S2-S15.
6. Jin DM, Xu Y, Geng DF, Yan TB. Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on symptomatic diabetic peripheral neuropathy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;89(1):10-15.
7. Norrbrink C. Transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of spinal cord injury neuropathic pain. *J Rehabil Res Dev*. 2009;46(1):85-93.