



Université de Montréal

**Étude Pharmacologique de la Douleur Neuropathique Centrale à la suite  
d'une Hémorragie Intrathalamique induite chez le Rat**

par AUDE CASTEL

Département de biomédecine vétérinaire

Faculté de médecine vétérinaire

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

Mars 2013

© Aude Castel, 2013

## RÉSUMÉ

La douleur neuropathique centrale post accident vasculaire cérébral est une condition débilitante dont le traitement s'avère souvent délicat et infructueux. Le but de ce projet était de reproduire cette condition chez le rat en injectant par stéréotaxie une solution de collagénase produisant une hémorragie localisée dans le noyau ventropostérolatéral du thalamus. Des tests comportementaux évaluant la coordination motrice, la sensibilité mécanique, au chaud et au froid étaient réalisés régulièrement afin d'établir la présence de douleur neuropathique puis les effets de l'administration de kétamine, d'amitriptyline, de gabapentine, et de carbamazépine étaient évalués. L'induction d'une hémorragie intrathalamique conduit à l'apparition d'allodynie mécanique bilatérale persistante ainsi que d'allodynie au froid transitoire chez certains sujets et ce sans modification de la coordination motrice. L'administration de kétamine à forte dose renverse l'allodynie mécanique mais est associée à une altération de la motricité. L'administration de gabapentine renverse également cette allodynie mécanique sans effet notable sur la coordination motrice. Les autres médicaments n'ont pas démontré d'effet significatif. L'évaluation histopathologique des cerveaux montre une lésion bien localisée dans la zone d'intérêt.

Ces résultats montrent que l'injection intrathalamique de collagénase peut être utilisée comme un modèle fiable de douleur neuropathique centrale. Si la kétamine semble capable de soulager ce type de douleur, elle est associée à des effets indésirables. En revanche, la gabapentine serait une molécule prometteuse pour le traitement de cette condition. Le rôle des récepteurs NMDA et des canaux calciques voltage dépendants, cibles respectives de la kétamine et de la gabapentine dans le maintien de cette douleur mérite d'être précisé.

*Mots-clés* : Douleur neuropathique centrale, accident vasculaire cérébral, kétamine, gabapentin, amitriptyline, carbamazépine, rat.

## ABSTRACT

Central post stroke pain is a debilitating condition for which treatment is often difficult and unsuccessful. The goal of this project was to reproduce an animal model of this condition by performing a stereotaxic injection of collagenase solution inducing a localized hemorrhage within the ventroposterolateral thalamic nuclei of rats. Behavioral tests to evaluate motor coordination, sensitivity to mechanical, hot and cold stimuli were performed regularly to establish if neuropathic pain was present. Then, the effects of ketamine, amitriptyline, gabapentin and carbamazepine on such pain were evaluated. Induction of an intrathalamic hemorrhage produced bilateral persistent mechanical allodynia as well as transient cold allodynia in some animals without notable changes in motor coordination. High doses of ketamine did reverse mechanical allodynia but with significant impairment in motor coordination. Similarly gabapentin also reversed mechanical allodynia without undesirable effect on coordination. The other two drugs failed to show any significant effect. Histopathological evaluation of the brain revealed a well localized lesion in the area of interest.

These results show that an intrathalamic collagenase injection produced a reliable model of central neuropathic pain. Ketamine was able to reverse mechanical allodynia but with significant side effects. Gabapentin appeared to be a promising drug for the treatment of this condition. The role of NMDA receptors and voltage dependent calcium channels, that target ketamine and gabapentin respectively in the maintenance of this pain, needs to be further defined.

*Keywords* : Central neuropathic pain, stroke, ketamine, gabapentin, amitriptyline, carbamazepine, rat.

## TABLE DES MATIÈRES

Résumé .....	ii
Abstract .....	iii
Liste des figures .....	ix
Liste des sigles et des abréviations .....	xii
Dédicaces .....	xv
Citations .....	xvi
Remerciements .....	xvii
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>

<b>RECENSION DE LA LITTÉRATURE</b>
------------------------------------

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>2</b>
<b>I. MÉCANISMES DE LA DOULEUR ET DE SA MODULATION</b> .....	<b>3</b>
<b>A. Physiologie et pharmacologie de la douleur</b> .....	<b>3</b>
1. Définition .....	3
2. Mécanismes physiopathologiques de la douleur .....	3
2.1. Les nocicepteurs .....	4
2.2. Caractéristiques des fibres nerveuses nociceptives .....	4
2.3. Voies nociceptives et intégration des informations relatives à la douleur au niveau des centres supérieurs .....	5
2.3.1. Voie spinothalamique de la douleur .....	6
2.3.2. Voie spinoréticulaire de la douleur .....	6
2.3.3. Thalamus et douleur .....	8
2.3.4. Cortex et douleur .....	9
<b>3. Modulation de la douleur</b> .....	<b>10</b>
3.1. Mécanismes de modulation périphérique .....	10
3.2. Mécanismes de modulation spinale .....	12
3.2.1. Modulation inhibitrice : la théorie du portillon .....	12
3.2.2. Modulation excitatrice ou sensibilisation centrale .....	13
3.3. Mécanismes supraspinaux de modulation de la douleur .....	13

<b>B. La douleur pathologique</b> .....	14
1. La sensibilisation centrale, support de l'apparition de douleur chronique .....	15
2. Mécanismes de la sensibilisation centrale .....	15
3. La neuroplasticité produit des changements irréversibles des voies de la douleur .....	17
3.1. Présentation du phénomène .....	17
3.2. Mécanismes de la neuroplasticité .....	17
 <b>II. EMPHASE SUR LA DOULEUR NEUROPATHIQUE CENTRALE</b> .....	 20
 <b>A. Présentation de la douleur neuropathique centrale</b> .....	 20
1. Définition .....	20
2. Caractéristiques de la douleur neuropathique centrale .....	20
3. Les causes de douleur neuropathique centrale .....	20
 <b>B. Mécanismes d'apparition de la douleur neuropathique centrale</b> .....	 21
1. Une implication de la voie spinothalamique .....	21
2. Un rôle clef du thalamus .....	21
3. Mécanismes suspectés .....	22
4. Traitements possibles de la douleur neuropathique centrale .....	22
 <b>III. UNE CONDITION PARTICULIÈRE : LA DOULEUR NEUROPATHIQUE CENTRALE À LA SUITE D'UN ACCIDENT VASCULAIRE CÉRÉBRAL</b> .....	 23
 <b>A. Quelques données sur les accidents vasculaires cérébraux</b> .....	 23
1. Définition de l'accident vasculaire cérébral .....	23
2. Les différents types d'AVC .....	23
3. Les signes cliniques chez l'homme .....	24
4. L'AVC chez l'animal .....	24
 <b>B. Présentation de la douleur centrale post AVC</b> .....	 25
1. Historique .....	25
2. Définition .....	25
3. Épidémiologie et caractéristiques de ce type de douleur .....	25

	vi
3.1. Prévalence et épidémiologie .....	25
3.2. Caractéristiques et modalités .....	26
3.2.1. Localisation de la douleur et de la lésion responsable .....	26
3.2.2. Délai d'apparition .....	26
3.2.3. Intensité de la douleur .....	27
3.2.4. Facteurs favorisant de la douleur .....	27
3.3. Signes cliniques .....	27
4. Diagnostic de la DCPA .....	28
<b>C. Mécanismes suspectés .....</b>	<b>28</b>
1. Une implication de la voie spinothalamique .....	28
2. Mécanismes cellulaires .....	29
2.1. La sensibilisation .....	29
2.2. La désinhibition .....	30
2.3. La plasticité .....	30
3. Mécanismes moléculaires .....	31
<b>D. Traitements de la douleur neuropathique centrale post accident vasculaire cérébral .....</b>	<b>31</b>
1. L'amitriptyline : un antidépresseur aux propriétés analgésiques .....	32
1.1. Efficacité clinique de l'amitriptyline .....	32
1.2. Effets indésirables de l'amitriptyline .....	33
1.3. Mécanismes d'action de l'amitriptyline .....	33
2. Des anticonvulsivants aux propriétés antihyperalgésiques .....	35
2.1 La gabapentine .....	35
2.1.1. Etudes cliniques .....	35
2.1.2. Les effets indésirables de la gabapentine .....	36
2.1.3. Mécanismes d'action de la gabapentine .....	36
2.2. La carbamazépine .....	36
2.2.1. Efficacité clinique de la carbamazépine .....	36
2.2.2. Effets indésirables de la carbamazépine .....	37
2.2.3. Le mécanisme d'action antihyperalgésique .....	37
3. La kétamine, un antagoniste des récepteurs NMDA aux indications multiples .....	37
3.1. Efficacité clinique de la kétamine .....	37

3.2. Effets indésirables de la kétamine .....	38
3.3. Mécanismes d'action de la kétamine .....	38
4. Les techniques de neurostimulation .....	39
<b>E. Modèles animaux de la douleur centrale associée à un accident vasculaire cérébral .....</b>	<b>40</b>
1. Intérêt d'un modèle animal .....	40
2. Différents types de modèles animaux .....	40
2.1. Modèles animaux des AVC .....	40
2.2. Présentation d'un modèle animal d'hémorragie cérébrale par injection de collagénase ..	41
2.3. Le modèle de Wasserman et Koeberle pour reproduire la DCPA .....	41
3. Limitations des modèles animaux .....	42
4. Quelques techniques d'évaluation de la douleur chez les rongeurs .....	43
4.1. Test de Von Frey pour évaluer la sensibilité tactile .....	43
4.2. Méthode de Hargreaves pour l'évaluation de l'hyperalgésie thermique .....	44
4.3. Test de la goutte d'acétone pour évaluer l'hypersensibilité au froid .....	45
4.4. Le Rotarod, un appareil pour évaluer la coordination motrice .....	45

## HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

### ARTICLE 1

BILATERAL CENTRAL PAIN SENSITIZATION IN RATS FOLLOWING A  
UNILATERAL THALAMIC LESION COULD BE TREATED WITH KETAMINE

<b>ABSTRACT</b> .....	50
<b>Background</b> .....	51
<b>Results</b> .....	52
<b>Discussion</b> .....	54
<b>Conclusions</b> .....	56
<b>Material and Methods</b> .....	57
Acknowledgements .....	62

Abbreviations .....	62
Author's contributions .....	62
Competing interest .....	62
References .....	62
<b>Figures</b> .....	69

## **ARTICLE 2**

### **GABAPENTIN REVERSES BILATERAL PAIN SENSITIZATION IN A RODENT MODEL OF CENTRAL PAIN INDUCED BY INTRATHALAMIC HEMORRHAGE**

<b>ABSTRACT</b> .....	77
<b>Background</b> .....	78
<b>Results</b> .....	79
<b>Discussion</b> .....	81
<b>Conclusions</b> .....	85
<b>Material and Methods</b> .....	85
Acknowledgements .....	91
Abbreviations .....	91
Author's contributions .....	91
Competing interest .....	91
References .....	91
<b>Figures</b> .....	97

## **DISCUSSION ET CONCLUSION**

<b>DISCUSSION</b> .....	104
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE</b> .....	116
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	117

# LISTE DES FIGURES

## RECENSION DE LA LITTÉRATURE

<b>Figure 1</b> : Voies ascendantes majeures impliquées dans la transmission de l'information nociceptive de la moelle épinière vers les centres supérieurs du système nerveux central : la voie spinothalamique et la voie spinoréticulaire .....	7
<b>Figure 2</b> : Les noyaux thalamiques .....	8
<b>Figure 3</b> : Structures cérébrales impliquées dans la perception de la douleur .....	10
<b>Figure 4</b> : La théorie du portillon .....	12
<b>Figure 5</b> : Boucle de rétroaction négative spinobulbospinale .....	14
<b>Figure 6</b> : Mécanismes moléculaires participant à la sensibilisation centrale à l'origine d'hyperalgésie secondaire .....	16
<b>Figure 7</b> : Voies de la douleur et substances modulatrices .....	19
<b>Figure 8</b> : Mécanisme d'action des antidépresseurs tricycliques tels que l'amitriptyline au niveau des fibres noradrénergiques et sérotoninergique .....	34
<b>Figure 9</b> : Cible d'action de la gabapentine, de la carbamazépine et de la kétamine à l'échelle de la synapse .....	39
<b>Figure 10</b> : Appareillage du test de Von Frey .....	44

<b>Figure 11</b> : Equipement pour le test de Hargreave .....	44
<b>Figure 12</b> : Le Rotarod .....	46
<b>Figure 13</b> . Chronologie de l'étude comportementale .....	48

## ARTICLE 1

<b>Figure 1</b> : Motor coordination evaluated with the rotarod test in animals receiving stereotaxically either saline (n=8) or a collagenase solution (n=7) in the ventroposterolateral nucleus of the thalamus and evaluation of the effect of ketamine at different doses on motor coordination .....	69
<b>Figure 2</b> : Heat sensitivity evaluated with Hargreave's test in animals receiving stereotaxically either saline or a collagenase solution in the ventroposterolateral nucleus of the thalamus and evaluation of ketamine effect at different doses on thermal sensitivity .....	70
<b>Figure 3</b> : Evaluation of mechanical allodynia using Von Frey filament in animals receiving stereotaxically either saline or a collagenase solution in the ventroposterolateral nucleus of the thalamus and evaluation of the effect of ketamine at different doses on mechanical allodynia .....	71
<b>Figure 4</b> : Percentage of Sprague Dawley rats reacting to acetone to determine cold allodynia .....	72
<b>Figure 5</b> : Localization and size of the collagenase lesion. Photomicrograph of a tranverse rat brain section (4µm) showing a well circumscribed lesion injection in VPL nucleus of the thalamus following a collagenase solution (H&E stain, x12.5) .....	73
<b>Figure 6</b> : Photomicrograph of the collagenase lesion in VPL nucleus of the thalamus stained with cresyl violet (x100) .....	74
<b>Figure 7</b> : Photomicrograph of the collagenase lesion after GFAP immunohistochemistry in a brain section following a collagenase solution injection in VPL nucleus of the thalamus (x60) .....	75

**ARTICLE 2**

- Figure 1** : Motor coordination evaluated with the rotarod test in Sprague Dawley rats from either the sham, control, amitriptyline, gabapentin or carbamazepine groups ..... 97
- Figure 2** : Evaluation of mechanical allodynia using Von Frey filaments in rats from either the sham, control, amitriptyline , gabapentin or carbamazepine groups ..... 98
- Figure 3** : Percentage of Sprague Dawley rats reacting to acetone from either the sham, control, amitriptyline, gabapentin or carbamazepine groups ..... 100
- Figure 4** : Heat sensitivity evaluated with Hargreave’s test in rats from either the sham, control, amitriptyline, gabapentin or carbamazepine groups ..... 102
- Figure 5** : Photomicrograph of a transverse rat brain section (4µm) showing a well circumscribed small lesion following a collagenase solution injection in VPL nucleus of the thalamus (H&E stain, x12,5) ....  
..... 103

# LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ad libitum : A volonté

per os : par voie orale

A $\beta$  : A-beta

A $\delta$  : A-delta

AMI : Amitriptyline group

ATP : Adenosine-tri-phosphate

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

CARB : Carbamazepine group

CCA : Cortex Cingulé Antérieur

CI : Cortex Insulaire

CGRP : Calcitonin-Gen-Related-Peptide

COMT : enzyme Cathéchol-O-Méthyl-Transferase

CPSP : Central Post Stroke Pain

CTL : Control group

DNC : Douleur Neuropathique Centrale

D CPA : Douleur Centrale Post Accident vasculaire cérébral

GABA : Acide  $\gamma$ -Aminobutyrique

GBP : Gabapentin group

GFAP : glial fibrillary acidic protein

H : hippocampus

H&E : Hematoxylin and eosin

HIC : Hémorragie Intracérébrale

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance (High Performance Liquid Chromatography)

IP : Voie Intra-Péritonéale

LV : Lateral Ventricle

MAO : Monoamine Oxydase

MS : Spectrometrie de Masse (Mass Spectrometry)

NA : Noradrénaline

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NPS : Neurone nociceptif Post Synaptique

NRM : Noyau du Raphe Médian

SGPA : Substance Grise Périaqueductale

SHAM : Sham group

SNC : Système Nerveux Central

S1 : Cortex somatosensoriel primaire

S2 : Cortex somatosensoriel secondaire

T : Thalamus

V : Ventricle

VPM : Noyau thalamique Ventropostéromédial

VPL : Noyau thalamique Ventroposterolatéral

5-HT : Serotonine

\* : valeur de p statistiquement significative

ns : valeur de p non statistiquement significative

Unités :

µg : microgramme

µg/mL : microgramme par millilitre

µL : microlitre

µm : micromètre

g : gramme

h: heure

J : jour

mm : millimètre

mL : millilitre

mg/kg : milligramme par kilogramme

mg/mL : milligramme par millilitre

min : minute

n : nombre de sujets dans un groupe

ng : nanogramme

ng/mL : nanogramme par millilitre

pH : mesure de l'acidité d'une solution

s: seconde

UI : Unité Internationale

V : Volt

W : Watt

x12,5 : grossissement microscopique fois 12,5

x60 : grossissement microscopique fois 60

x100 : grossissement microscopique fois 100

°C : degrés Celcius

*A ceux qui m'aiment et qui croient en moi,*

*A ceux qui souffrent chaque jour de leur vie, puisse leur souffrance être un jour  
soulagée.*

*«Soyez- réalistes, exigez l'impossible». Ernesto Che Guevara.*

*«Ce n'est pas parce que les choses sont difficiles que nous n'osons pas, c'est parce que nous n'osons pas qu'elles sont difficiles». Sénèque*

## REMERCIEMENTS

Je remercie chaleureusement Pascal Vachon qui a été un directeur de recherche exceptionnel. Merci de m'avoir transmis votre passion pour la neurologie et la recherche. Ce fût un honneur d'être votre élève et j'ai eu la chance de bénéficier d'un encadrement et d'une écoute exceptionnelle de la part d'un professeur patient, intègre, juste, attentionné et avec une joie de vivre communicative et une volonté incroyable de transmettre ses connaissances. Vous avez su si bien me guider pour me permettre de donner le meilleur de moi-même, vous avez cru en moi et m'avez fait confiance. Ce travail est ainsi le produit d'une merveilleuse collaboration et je veux ainsi vous exprimer toute ma gratitude.

Merci à Francis Beaudry pour ses conseils, ses remarques, son soutien et la relecture du mémoire et des articles.

Merci à Patrick Burns pour la relecture de ce mémoire.

Merci à Joane Parent pour son soutien et ses encouragements et pour son amour de la neurologie qu'elle transmet si bien.

Je remercie également mes parents sans qui bien sûr tout cela n'aurait pas été possible. J'ai eu la chance d'avoir un soutien infaillible et de bénéficier de leur amour, de leur écoute et de leurs conseils et c'est grâce à eux et à la force qu'ils m'ont transmise que j'ai pu surmonter tous les obstacles que la vie a mis sur mon chemin et en arriver là. Les mots ne sont pas assez forts pour vous dire à quel point je vous en suis reconnaissante.

Merci à ma soeur pour être ce qu'elle est, pour sa joie de vivre, son honnêteté, sa générosité et ses idées loufoques qui conduisent parfois à des situations inoubliables!

Merci à ma grand mère Hélène, pour ton soutien, ta fierté, ta générosité et pour tout les manteaux tricotés pour que Courgette survive à l'hiver québécois!

Merci à ma petite Courgette pour ta gaieté et ton enthousiasme incroyable. Merci pour t'être assurée que je faisais suffisamment de «pauses» pendant la rédaction de ce mémoire et que mon visage était bien nettoyé chaque matin! Tu es un amour de petit chien!

Merci à mes deux minous, Potiron et Gouda pour leur affection et leur aide toute particulière pour la rédaction de ce mémoire et surtout merci Gouda pour n'avoir arraché que la lettre «D» de mon clavier d'ordinateur!

Merci à tout mes amis d'ici et d'ailleurs et notamment merci à David, Zora, Béa, Amandine, Lucie, Marion, Steven et Marie-Ève.

Et enfin, Merci à toi Vincent, mon amour, mon chéri, mon ami, parce que sans toi, je n'y serais pas arrivée. Ton amour me ferait gravir des montagnes et la vie est si douce à tes côtés. Le ciel m'a envoyé un ange pour me protéger et veiller sur moi, c'est toi ! Je t'aime.

# INTRODUCTION

L'accident vasculaire cérébral (AVC) est le problème neurologique le plus fréquent chez l'homme. En Europe, en 2000, l'incidence des AVC était de 1,1 millions par année et cette valeur devrait atteindre 1,5 millions par année en 2025 due à l'augmentation de la proportion de personnes âgées (Truelsen et al., 2006). Au Canada, on estime la prévalence à environ 40 000 AVC par an (Canadian Stroke Network, 2011).

Chez certains patients, une douleur de type neuropathique centrale se développerait à la suite d'un AVC c'est à dire suite à une lésion vasculaire du système nerveux central. La reconnaissance de cette condition peut s'avérer délicate pour le corps médical. Cette douleur est dans tout les cas invalidante car elle diminue la qualité de vie du patient, peut interférer avec sa récupération et son sommeil et même le pousser jusqu'au suicide (Appelros, 2006; Gonzales, 1995; Klit et al., 2009).

Malgré de multiples publications sur la douleur centrale post AVC, la compréhension claire de sa pathophysiologie nous manque toujours et il n'existe pas de modalité de traitement efficace de manière universelle pour soulager les patients atteints de cette condition.

Or, c'est notamment par la compréhension approfondie des mécanismes d'apparition et de maintien de ce type de douleur qu'il sera par la suite possible de proposer des axes de recherche thérapeutique pour la traiter. L'utilisation d'un modèle animal de cette condition offre l'opportunité de valider ou de réfuter certaines hypothèses concernant ces mécanismes mais également d'expérimenter des options thérapeutiques qui pourront éventuellement être transposées à la médecine humaine.

Ainsi, en utilisant un modèle hémorragique d'AVC préalablement décrit par Wasserman et Koeberle (2009) pour évaluer la douleur neuropathique centrale, ce projet de maîtrise visait à caractériser plus précisément les modifications comportementales à long terme et notamment le développement d'allodynie et d'hyperalgésie à la suite d'une hémorragie intrathalamique induite chez le rat. Dans un second temps, l'évaluation de l'efficacité de certains médicaments communément utilisés pour le traitement de douleurs neuropathiques à savoir la kétamine, l'amitriptyline, la gabapentine et la carbamazépine, nous permettait de préciser un peu plus les mécanismes d'action pouvant intervenir dans la genèse et le maintien de cette condition douloureuse. En effet, ces médicaments peuvent nous aider à identifier certains acteurs clés à la fois cellulaires et moléculaires, caractéristiques de ce type de douleur, offrant ainsi la possibilité d'en déduire de nouvelles cibles thérapeutiques précises et efficace pour soulager les patients atteints et ce, avec un minimum d'effets secondaires.

# RECENSION DE LA LITTÉRATURE

## INTRODUCTION

La douleur fait partie intégrante de la vie, et toute tentative pour la soulager est aussi vieille que l'espèce humaine.

Virtuellement tout le monde a un jour fait l'expérience de la douleur d'une forme ou d'une autre, et c'est le symptôme lié à une lésion ou une maladie qui pousse le plus fréquemment à consulter pour des conseils médicaux ou un traitement.

La douleur aiguë est transitoire - elle dure de quelques minutes à quelques heures ou jours. Elle a une valeur protectrice puisqu'elle nous prévient qu'un dommage tissulaire a eu lieu (ou qu'un dommage potentiel va arriver). En revanche, la douleur chronique, persistante, soit d'une durée supérieure à 3 mois ou plus, ne sert aucune fonction biologique. Au contraire elle engendre du stress émotionnel, physique et social (Sessle, 2007). On la qualifie alors de douleur pathologique.

La douleur neuropathique centrale est un type de douleur chronique qui fait suite à une atteinte du système nerveux central. Parmi les causes de douleur neuropathique centrale on rapporte, la sclérose en plaque, la maladie de Parkinson mais également les accidents vasculaires cérébraux (Panju, 2007). La douleur centrale post AVC (DCPA) est une condition particulière qui bien que relativement fréquente, possède des mécanismes encore méconnus ce qui rend son traitement très empirique et avec une efficacité limitée (Kumar and Soni, 2009).

La compréhension des mécanismes généraux de la douleur et de sa modulation peut tout de même nous offrir des pistes d'investigation pour mieux comprendre la DCPA. Cependant il semble que c'est surtout par des études plus ciblées et notamment à l'aide de modèle animaux adaptés, que la découverte de mécanismes intrinsèques spécifiques de cette condition devient possible. L'utilisation de différents tests comportementaux permet en effet de tester la présence d'anomalies sensorielles pouvant s'apparenter à de la douleur neuropathique chez l'animal et d'évaluer l'efficacité de certaines approches thérapeutiques.

# **I. MÉCANISMES DE LA DOULEUR ET DE SA MODULATION**

## **A. Physiopathologie et pharmacologie de la douleur**

### **1. Définition**

L'Association Internationale d'Etude de la Douleur (International Association for Study of Pain, IASP) définit la douleur comme étant : « une expérience sensorielle ou émotionnelle déplaisante associée à des dommages tissulaires réels ou potentiels ou décrite comme faisant suite à de tels dommages » (Sessle, 2007).

Cette définition souligne les multiples composantes de la douleur. Une composante sensorielle dite sensori-discriminative (permettant de détecter le stimulus et d'en analyser l'intensité), une composante affective/émotionnelle (exprimant le caractère pénible), une composante cognitive (affectant d'autres systèmes tels que l'attention, l'anticipation, la mémoire) et enfin une composante comportementale de mise en jeu de réactions motrices, verbales, végétatives - interviennent dans la genèse d'un processus douloureux (Chauvin, 2006). Les composantes de nature psychogène (affective, émotionnelle, cognitive) présentent une forte variabilité individuelle et la douleur peut donc être qualifiée d'expérience subjective (Giniès, 1999; Sessle, 2007).

La capacité à ressentir la douleur a un rôle protecteur puisqu'elle nous met en garde contre des dégâts tissulaires imminents ou réels et provoque des réflexes coordonnés et des réponses comportementales pour maintenir ces dommages à un seuil minimal (Woolf and Mannion, 1999). En revanche, lorsque la douleur persiste, elle devient pathologique et ne présente plus de propriétés protectrices de l'organisme, au contraire, elle lui est délétère (Woolf and Mannion, 1999).

La douleur est une expérience complexe qui implique non seulement la transduction de stimuli douloureux de la périphérie au système nerveux central (SNC) mais aussi le traitement de ces données par les centres supérieurs du SNC (Marchand, 2005).

### **2. Mécanismes physiopathologiques de la douleur**

Avant de détailler les mécanismes physiopathologiques de la douleur, il convient de définir le terme de nociception. Il s'agit de la réception, de la conduction et du cheminement dans le système nerveux de signaux dont l'origine se trouve au niveau de récepteurs sensoriels périphériques particuliers, les noci-

cepteurs (Hellyer et al., 2007). La nociception est un phénomène sensori-discriminatif qui permet à l'individu de percevoir des stimuli préjudiciables pour l'organisme et d'y répondre. C'est donc un mécanisme de protection de l'intégrité de l'organisme (Chauvin, 2006).

La douleur, quant à elle, est la sensation désagréable issue de la nociception et qui, en se prolongeant, peut être à l'origine d'un processus pathologique au niveau du système nerveux (Chauvin, 2006).

La douleur apparaît à la suite de l'activation, par des stimuli douloureux, d'une série de nocicepteurs et de trajets neurologiques associés, le tout étant intégré au niveau cortical.

### 2.1. Les nocicepteurs

Les nocicepteurs ne sont pas réellement des récepteurs de la douleur mais plutôt des terminaisons nerveuses nues ou libres (car non encapsulées) de fibres nociceptives afférentes (de type A $\delta$  et C) dont le corps cellulaire est situé au niveau des ganglions de la racine dorsale (Hellyer et al., 2007). Ils représentent les organes des sens répondant aux stimuli nociceptifs au niveau des tissus périphériques (Sessle, 2007). Les nocicepteurs peuvent être activés par des stimuli nociceptifs mécaniques, thermiques ou chimiques. Certains ne répondent qu'à un seul type de stimulation mais d'autres sont sensibles à plusieurs types, on parle alors de nocicepteurs multimodaux (Marchand, 2005).

Les nocicepteurs sont des zones réceptrices sensorielles permettant la transformation d'une énergie physique ou chimique en un influx nerveux. En effet, leur activation conduit à la formation de potentiels d'action qui remontent le long des fibres nociceptives vers le SNC, lui transmettant ainsi les caractéristiques sensori-discriminatives sur la localisation, la qualité, l'intensité et la durée du stimulus nociceptif (Sessle, 2007). Le codage pour l'intensité et la durée du stimulus s'appuie sur la durée et l'intensité des potentiels d'actions engendrés par ce stimulus (Gardner et al., 2000). En effet, la fréquence des potentiels d'action peut augmenter notamment avec la capacité de destruction tissulaire du stimulus (Gardner et al., 2000). La qualité du stimulus dépend quant à elle, du réseau spécifique des afférences nociceptives qu'il active et de leurs connections au SNC (Sessle, 2007).

### 2.2. Caractéristiques des fibres nerveuses nociceptives

On distingue 3 classes de fibres nerveuses somatiques.

Les fibres A- $\beta$  sont des fibres myélinisées de diamètre important (6 à 12  $\mu\text{m}$ ) et de conduction rapide (35 à 75 m/s). Dans les conditions physiologiques, ces fibres transmettent les informations sensorielles non nociceptives et sont à l'origine de la sensation tactile. Cependant, elles participent également à la modulation de la douleur (Marchand, 2005).

L'activation de fibres nerveuses A- $\delta$  peu myélinisées (1 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre) de vitesse de conduction moyenne (5 à 30 m/s) est associée à la perception de douleur aiguë (Marchand, 2005). Ces fibres sont sensibles aux stimulations mécaniques ou thermiques (Basbaum and Jessell, 2000).

Des fibres non myélinisées de type C de petit diamètre (0.2 à 1.5  $\mu\text{m}$ ) et de conduction lente (0.5 à 2 m/s), sont associées à la perception de douleur plutôt diffuse (Marchand, 2005). Les fibres C sont en général multimodales (Basbaum and Jessell, 2000). Ces fibres nociceptives innervent notamment la peau et sont responsables de la douleur superficielle. Elles innervent aussi les structures somatiques et viscérales profondes et sont alors à l'origine de douleurs dites profondes ou sourdes dont l'origine est plus difficile à déterminer (Hellyer et al., 2007).

Suite à une stimulation nociceptive, les fibres A- $\delta$  qui conduisent relativement rapidement l'influx nerveux sont à l'origine de la première douleur telle une piqûre, perçue à l'endroit même de la lésion tissulaire. Cette transmission rapide et précise est à la base du réflexe de retrait permettant de se soustraire à la source de cette stimulation nociceptive (douleur protectrice). Immédiatement après, une douleur d'apparition retardée et plus diffuse telle une brûlure, provient de l'activation des fibres C qui transmettent à leur tour l'information nociceptive mais dont la conduction est plus lente (Marchand, 2005).

### 2.3. Voies nociceptives et intégration des informations relatives à la douleur au niveau des centres supérieurs

La stimulation nociceptive recrute des nocicepteurs qui conduisent l'information par le 1er neurone ou neurone primaire, jusqu'aux cornes postérieures de la moelle épinière. Dans cette zone, ce neurone primaire, établit un contact avec le 2ème neurone ou neurone secondaire, ou neurone de projection supraspinale. Le neurone secondaire décusse ( c'est-à-dire croise le plan médian) immédiatement dans la moelle en passant sous le canal de l'épendyme pour former la voie antérolatérale dont la subdivision majeure, la voie spinothalamique, conduit l'information jusqu'à différentes régions du thalamus somato-sensoriel. A ce niveau, il établit un contact synaptique avec le troisième neurone ou neurone tertiaire

qui, lui, conduit les informations nociceptives vers le cortex et le système limbique (Basbaum and Jessell, 2000; Marchand, 2005).

### 2.3.1 Voie spinothalamique de la douleur

Le faisceau spinothalamique latéral projette directement vers les noyaux thalamiques latéraux du complexe ventro-basal (noyaux ventroposterolatéral (VPL) et ventroposteromédial (VPM) dont les neurones tertiaires projettent à leur tour vers le cortex somatosensoriel (primaire et secondaire) (Chauvin, 2006; Marchand, 2005).

Ce faisceau et les aires corticales associées sont principalement impliqués dans la composante sensorio-discriminative de la douleur, c'est à dire qu'elle permet une localisation précise du stimulus douloureux (Marchand, 2005).

Une lésion de la voie spinothalamique ou de ses régions cibles peut conduire à une douleur sévère qualifiée de **douleur centrale** (Basbaum and Jessell, 2000).

### 2.3.2 Voie spinoréticulaire de la douleur

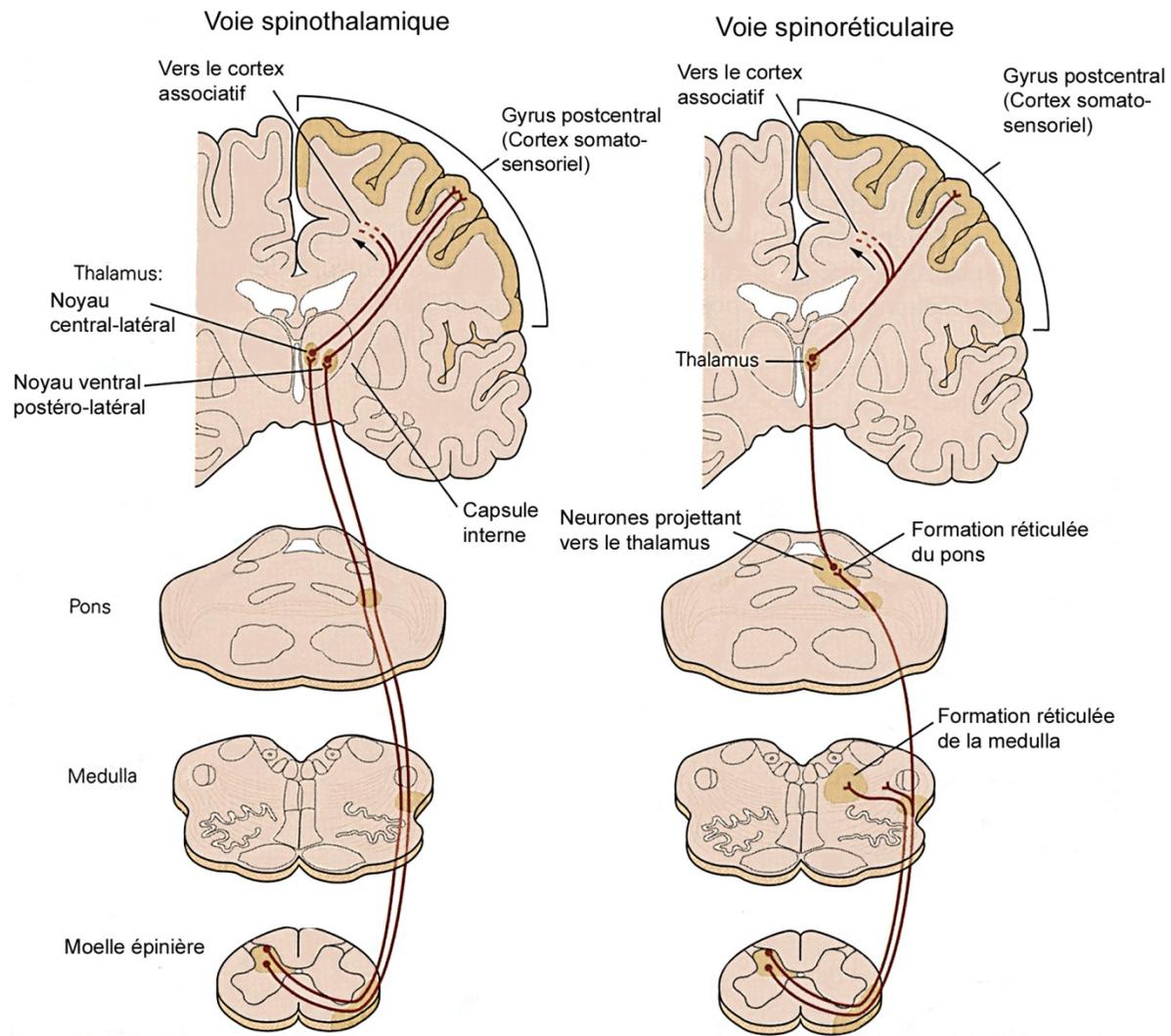
Une autre subdivision importante de la voie antérolatérale est le faisceau spinoréticulaire en position médiane (ou faisceau spinothalamique médian) (Chauvin, 2006). Les fibres constituant ce faisceau établissent des synapses avec les neurones de la formation réticulée au niveau du pons et de la medulla, avant de se projeter vers les noyaux centromédians du thalamus et certaines structures du tronc cérébral dont la substance grise périaqueducale (SGPA). Les neurones des noyaux centromédians projettent à leur tour vers différentes structures du système limbique (dont le cortex cingulé antérieur et le cortex insulaire) (Chauvin, 2006).

Le faisceau spinoréticulaire et le système limbique sont impliqués dans la composante affective et émotionnelle de la douleur (Chauvin, 2006). Le faisceau spinoréticulaire constitué principalement de fibres C, est à l'origine de la transmission de la douleur profonde, diffuse et de la sensation viscérale. Ce faisceau, en raison de son trajet plus complexe, ne permet pas une localisation précise du point douloureux (Hellyer et al., 2007).

La formation réticulée est une longue colonne de tissu nerveux s'étendant de la moelle cervicale au diencéphale. Elle occupe, au centre du tronc cérébral, l'espace situé entre les grandes voies descendantes et ascendantes et les noyaux des nerfs crâniens. Elle se présente comme un réseau très dense de

fibres dans les mailles desquelles on trouve un grand nombre de cellules, certaines groupées en îlots et formant des noyaux (Hellyer et al., 2007).

La formation réticulée est placée au carrefour des trois grands systèmes sensitif, moteur et végétatif et orchestrerait la relation entre la sensation et la conscience. Elle est responsable de la régulation des fréquences cardiaque et respiratoire, de l'attention sélective aux stimuli, du maintien de la conscience et de la vigilance corticale (De Lahunta and Glass, 2009).



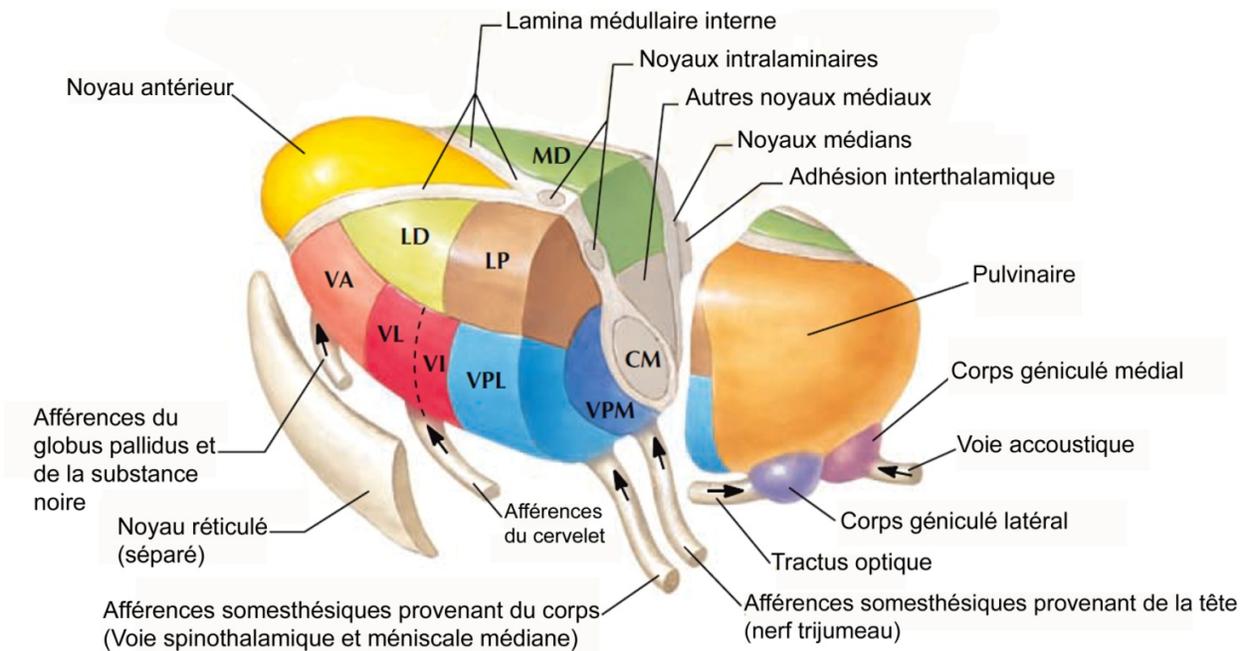
**Figure 1 :** Deux voies ascendantes majeures dans la transmission de l'information nociceptive de la moelle épinière vers les centres supérieurs du système nerveux central. La voie spinothalamique est la plus prééminente et transmet les informations à l'origine de la composante sensori-discriminative du stimulus nociceptif. La voie spinothalamique est impliquée dans la transmission des informations à l'origine de la composante affective et émotionnelle de la douleur (Basbaum and Jessell, 2000)

### 2.3.3. Thalamus et douleur

Le thalamus est un centre majeur d'intégration des informations nociceptives et joue donc un rôle clef dans la modulation de la douleur. Toutes les informations nociceptives remontant vers le cortex, doivent faire un relais au niveau du thalamus. Les voies nociceptives ascendantes se terminent dans différentes régions thalamiques. En effet, des neurones répondant à des stimuli nociceptifs ont été enregistrés dans des régions du thalamus médial, latéral et postérieur (Dostrovsky, 2007).

Le système impliqué dans la douleur au niveau du tronc cérébral a été divisé en un système latéral et un système médial. Le noyau sensoriel principal ventro-caudal du thalamus latéral constitue ce système latéral et participe à la composante sensori-discriminative de la douleur. Au contraire, les noyaux médian et intralaminaire du thalamus projettent vers le cortex cingulé antérieur et forment le système médial de la douleur. Ils participent eux, à la composante affective de la douleur (Klit et al., 2009).

Le thalamus reçoit également des projections descendantes provenant du cortex et est connecté de manière réciproque au noyau réticulé GABA-ergique qui l'entoure et exercerait un effet modulateur (Dostrovsky, 2007). Cependant la fonction précise de ces projections demeure mal comprise.



**Figure 2** : Les noyaux thalamiques (Netter, 2007)

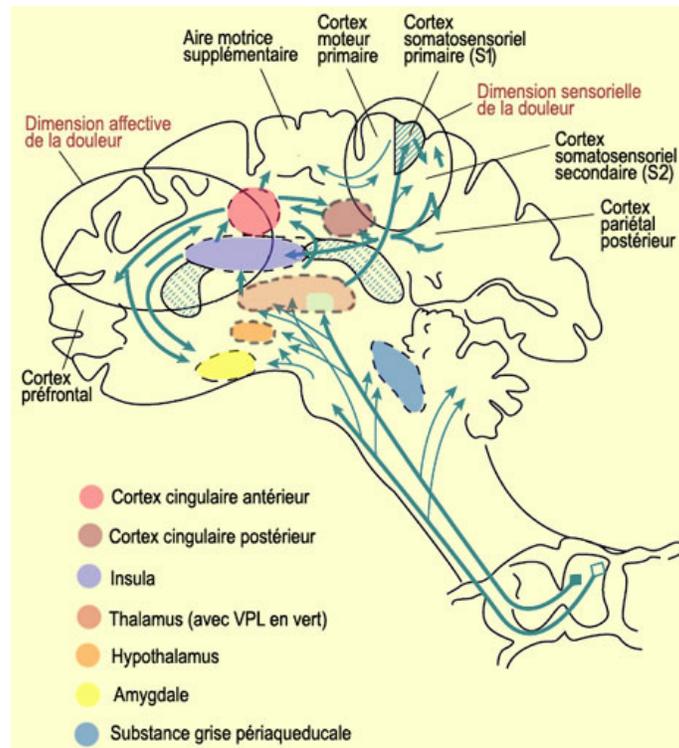
#### 2.3.4. Cortex et douleur

L'utilisation de nouvelles techniques d'imagerie médicale fonctionnelle a permis de déterminer les principales régions corticales impliquées dans la douleur chez l'homme.

On distingue donc (Marchand, 2005):

- le cortex somatosensoriel primaire (S1), situé au niveau du gyrus postcentral du lobe pariétal ;
- le cortex somatosensoriel secondaire (S2), jouxtant S1 et situé dans le repli pariétal ;
- le cortex cingulé antérieur (CCA) situé entre les deux hémisphères cérébraux, au niveau de la circonvolution du corps calleux ;
- le cortex insulaire (CI) et plus particulièrement l'insula située sous le lobe temporal au niveau de la scissure de Sylvius.

Les deux premières structures, S1 et S2, reçoivent des afférences de la voie spinothalamique et sont impliquées dans la composante sensori-discriminative de la douleur pour S1, l'intensité de la douleur pour S2 (Klit et al., 2009). Les deux autres structures, CCA et CI, reçoivent principalement des afférences de la voie spinoréticulaire et sont impliquées dans la composante motivo-affective de la douleur (Marchand, 2005).



**Figure 3** : Structures cérébrales impliquées dans la perception de la douleur (Price, 2000).

### 3. Modulation de la douleur

L'information nociceptive ne circule pas de manière linéaire, elle est modulée à toutes les étapes de son trajet (Marchand, 2005). En effet, la capacité d'un stimulus donné à générer une perception de douleur est une propriété hautement labile qui peut être modifiée en périphérie, au niveau de la moelle épinière, du tronc cérébral et/ou des centres supérieurs (Hellyer et al., 2007). Chaque fois qu'un neurone primaire, secondaire ou tertiaire établit une connexion synaptique, il y a intégration de l'information transmise et celle-ci subit des influences soit excitatrices pour augmenter la réponse nociceptive, soit inhibitrices pour produire de l'analgésie. Les différentes régions d'intégration sont donc le siège de phénomènes de modulation de la douleur (Marchand, 2005). Par conséquent les sites de modulation de la douleur sont à la fois périphériques et centraux (spinaux et supra-spinaux).

#### 3.1. Mécanismes de modulation périphérique

Parmi les mécanismes de modulation de la douleur, certains vont avoir un effet excitateur, support d'une sensibilisation du système nerveux, c'est-à-dire à une sensibilité accrue à générer, transmettre ou percevoir un phénomène algique. La sensibilisation périphérique se définit comme étant une sensibilité accrue des terminaisons nerveuses nociceptives au niveau même de la lésion (Budsberg, 2005). Elle

s'observe le plus souvent en cas d'inflammation et de changements tissulaires pathologiques (tumeurs) et est à l'origine d'hyperalgésie et d'allodynie.

On définit l'**hyperalgésie** comme une réponse douloureuse accrue à une stimulation douloureuse (c'est l'effet d'une claque dans le dos au niveau d'un coup de soleil par exemple) (Marchand, 2005). Un stimulus douloureux donné est ressenti comme d'intensité augmentée.

Cette notion est à différencier de l'**allodynie** qui correspond à une douleur ressentie suite à une stimulation qui n'est normalement pas douloureuse (par exemple, la douleur ressentie au simple effleurement d'une brûlure) (Marchand, 2005).

Au niveau de tissus endommagés ou enflammés, des stimuli qui seraient normalement non douloureux peuvent provoquer l'activation de nocicepteurs et donc une sensation de douleur (support de l'allodynie). Le seuil d'activation des nocicepteurs n'est donc pas une constante mais varie en fonction du contexte, notamment inflammatoire. En effet, il existe des nocicepteurs dits « silencieux » dont le seuil d'activation élevé assure que dans des circonstances normales, ils sont relativement insensibles à toute sorte de stimuli. En revanche, suite à la libération de médiateurs de l'inflammation tissulaire, leur seuil d'activation est sensiblement diminué, et ces récepteurs auparavant « silencieux » peuvent alors être activés par une variété de stimuli thermiques, chimiques et mécaniques (Hellyer et al., 2007).

De nombreux médiateurs de l'inflammation (telles que les prostaglandines, les bradykinines, les cytokines, la substance P, le CGRP...) sont qualifiés de sensibilisateurs car ils diminuent le seuil d'activation des nocicepteurs et augmentent l'intensité de leur réponse à un même stimulus nociceptif (support de l'allodynie et de l'hyperalgésie) (Hellyer et al., 2007). D'autres médiateurs de l'inflammation ou des substances libérées par les cellules endommagées peuvent également jouer un rôle de neurotransmetteurs et stimuler directement les nocicepteurs (Basbaum and Jessell, 2000; Chauvin, 2006). Par exemple, les cellules endothéliales peuvent libérer de l'ATP de même que les mastocytes endommagés peuvent libérer de l'histamine qui active des nocicepteurs polymodaux. Les plaquettes participent également au phénomène par l'intermédiaire de la libération de sérotonine (Basbaum and Jessell, 2000). Ces médiateurs sont alors qualifiés d'activateurs (Hellyer et al., 2007).

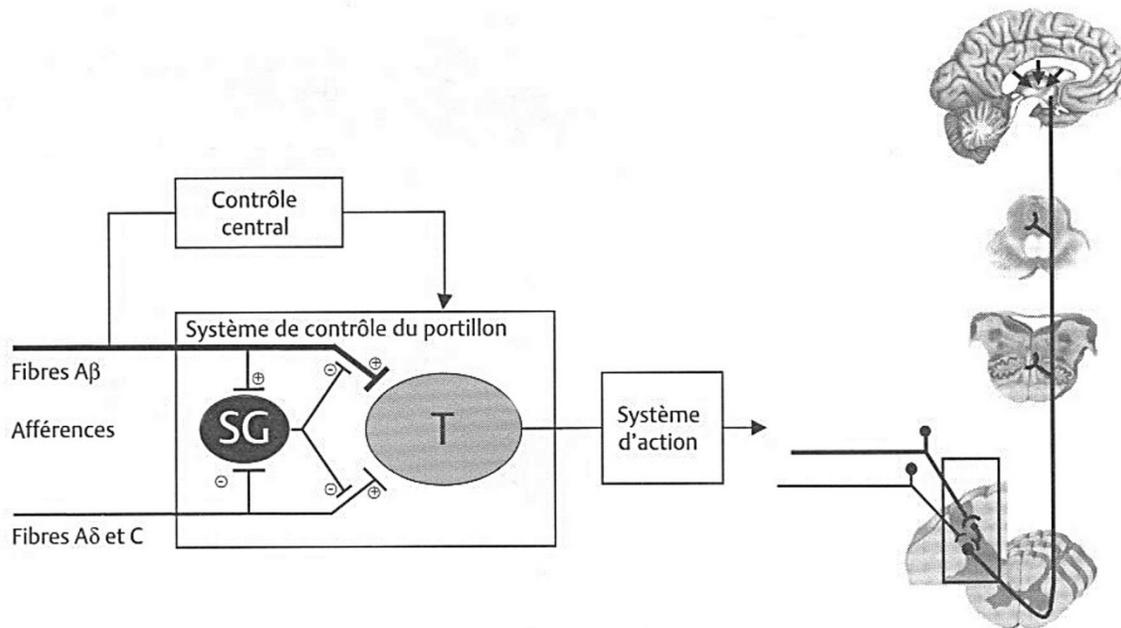
Des mécanismes inhibiteurs sont également présents au niveau périphérique. Parmi ces mécanismes, on peut citer l'implication d'opioïdes endogènes sécrétés par les cellules immunitaires agissant sur des récepteurs opioïdes périphériques, des cytokines anti-inflammatoires, des endocannabinoïdes ou encore l'adénosine (Stein et al., 2009).

### 3.2 Mécanismes de modulation spinale

A l'étage médullaire, il existe un important réseau de convergences synaptiques impliquant des fibres collatérales, des interneurons et des fibres provenant de voies inhibitrices descendantes. La moelle sensorielle représente une étape clef de la modulation des informations nociceptives avant qu'elles ne soient transmises vers les centres supérieurs (Chauvin, 2006).

#### 3.2.1. Modulation inhibitrice : la théorie du portillon.

Selon la théorie du portillon ou « gate control theory », la stimulation des fibres afférentes non nociceptives induit le recrutement d'interneurones inhibiteurs situés dans la substance gélatineuse (lamina II) des cornes dorsales médullaires bloquant ainsi l'activité des fibres nociceptives. Dans ce cas, les afférences nociceptives de type A- $\delta$  et C, subissent la modulation inhibitrice d'interneurones stimulés par les fibres A- $\beta$  notamment. Selon ce principe, les fibres afférentes non nociceptives exercent un certain effet d'analgésie locale (Marchand, 2005). C'est pourquoi, une stimulation de faible intensité comme un massage ou le frottement de la zone lésée peut produire une diminution de la sensation douloureuse.



**Figure 4 :** La stimulation des fibres A- $\beta$  provoque le recrutement d'interneurones inhibiteurs dans la substance gélatineuse (SG). Ces interneurons réduisent l'activité des neurones impliqués dans la transmission de l'information nociceptive (T) vers les centres supérieurs du SNC. Il en résulte une diminution localisée de la sensation douloureuse. On parle d'inhibition spinale qui a lieu au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière (Melzack and Wall, 1965)

### 3.2.2. Modulation excitatrice ou sensibilisation centrale

La sensibilisation centrale se définit comme une augmentation physiopathologique de la sensibilité des neurones nociceptifs de la corne dorsale de la moelle épinière à une stimulation sensorielle (Budsberg, 2005).

Ce phénomène a été notamment identifié au niveau de la première synapse dans la corne dorsale de la moelle épinière, entre les fibres afférentes primaires nociceptives et les neurones nociceptifs post synaptiques (NPS). Les messages douloureux générés au niveau des nocicepteurs périphériques sont transmis par les fibres nociceptives aux NPS par le biais d'une libération de neurotransmetteurs excitateurs tels que la substance P et le glutamate (Bennett, 2000). Les mécanismes à l'origine de cette sensibilisation seront décrits plus loin.

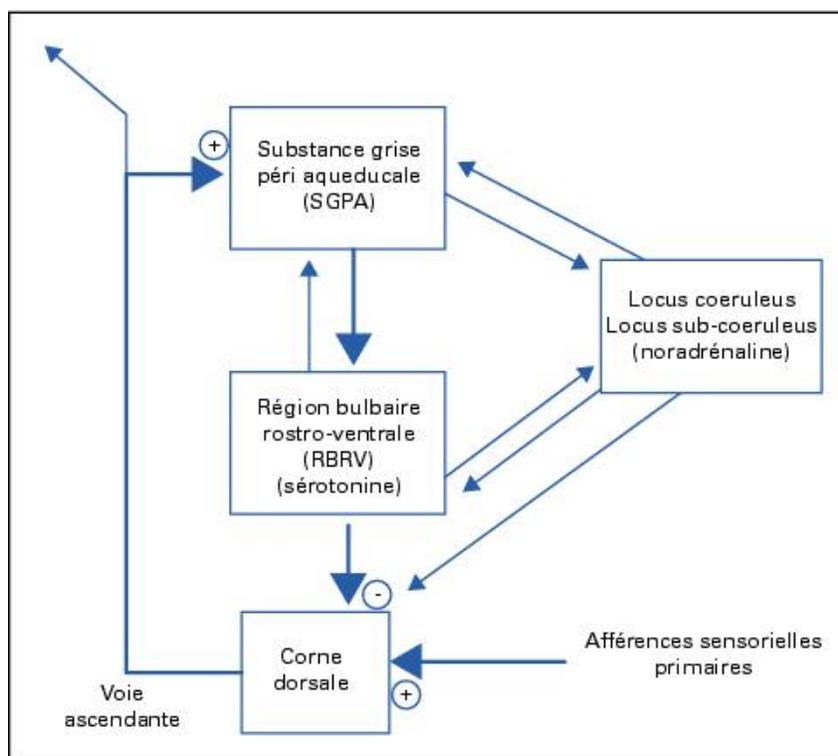
### 3.3. Mécanismes supraspinaux de modulation de la douleur

Une stimulation nociceptive, en plus d'envoyer des afférences vers les centres supérieurs par la voie spinothalamique, va établir des connections annexes avec certaines régions du tronc cérébral qui enverront à leur tour des efferences excitatrices ou inhibitrices sur les neurones nociceptifs spinaux.

Des régions spécifiques du tronc cérébral, dont la substance grise périaqueducale (SGPA) (dans le cerveau moyen) et le noyau raphe magnus (NRM) (dans la medulla), ont été identifiées comme étant à l'origine de voies descendantes inhibitrices de la douleur (Marchand, 2005).

L'inhibition initiée au niveau de la SGPA et du NRM est de nature diffuse sur l'ensemble du système pronociceptif et donc non limitée à la zone initialement stimulée. On parle de contrôle inhibiteur diffus induit par des stimulations nociceptives (Marchand, 2005).

Au niveau de la corne dorsale, la libération de neurotransmetteurs tels que les opioïdes endogènes, la sérotonine (5-HT) ou la noradrénaline, module les voies ascendantes de la nociception par le recrutement d'interneurones médullaires inhibiteurs qui réduisent l'activité des afférences nociceptives (Hellyer, 2007).



**Figure 5 :** Boucle de rétroaction négative spinobulbospinale sous-tendant un système analgésique endogène mis en jeu par des stimulations nociceptives (Adapté de Basbaum and Fields, 1984)

## **B. La douleur pathologique**

Comme nous l'avons précédemment évoqué, la sensation de douleur vise initialement à minimiser un dommage tissulaire potentiel. Cependant lorsque le dommage tissulaire est inévitable, une série de changements du système nociceptif (périphérique et central) est à l'origine d'une hypersensibilité à la douleur, au sein des tissus enflammés et de leur périphérie. Ce processus participe indirectement à la réparation de la blessure car tout contact avec la zone lésée est évité jusqu'à ce que la guérison soit complète. Cependant, il peut favoriser le développement des syndromes de douleur chronique considérés comme pathologiques qui ne présentent aucun avantage biologique et causent de la « souffrance inutile » (Woolf and Mannion, 1999).

La douleur chronique peut être la conséquence de douleurs post-opératoires mal traitées, de douleurs neuropathiques, ou de pathologies diverses, et s'avère souvent réfractaire aux traitements antalgiques usuels. Ce type de douleur constitue un vrai challenge thérapeutique pour les médecins car l'émergence

de douleurs chroniques affecte le quotidien du patient de manière parfois dramatique et précarise à long terme sa qualité de vie.

Une persistance anormale de la sensibilisation du système nerveux aux stimuli nociceptifs, à l'origine d'une neuroplasticité de type excitatrice s'exprimant par de l'hyperalgésie et de l'allodynie, est considérée comme un facteur majeur pour le développement de douleur chronique (Wilder-Smith and Arendt-Nielsen, 2006).

### **1. La sensibilisation centrale, support de l'apparition de douleur chronique**

La sensibilisation centrale peut se manifester de trois manières différentes :

- par un élargissement de la zone périphérique dans laquelle un stimulus donné activera des neurones nociceptifs (augmentation du champ réceptif des neurones),
- par une réponse accrue à une stimulation nociceptive (hyperalgésie),
- par la possibilité que les neurones nociceptifs produisent des potentiels d'action suite à une stimulation d'intensité inférieure au seuil de sensibilité initial (allodynie) (Woolf and Mannion, 1999).

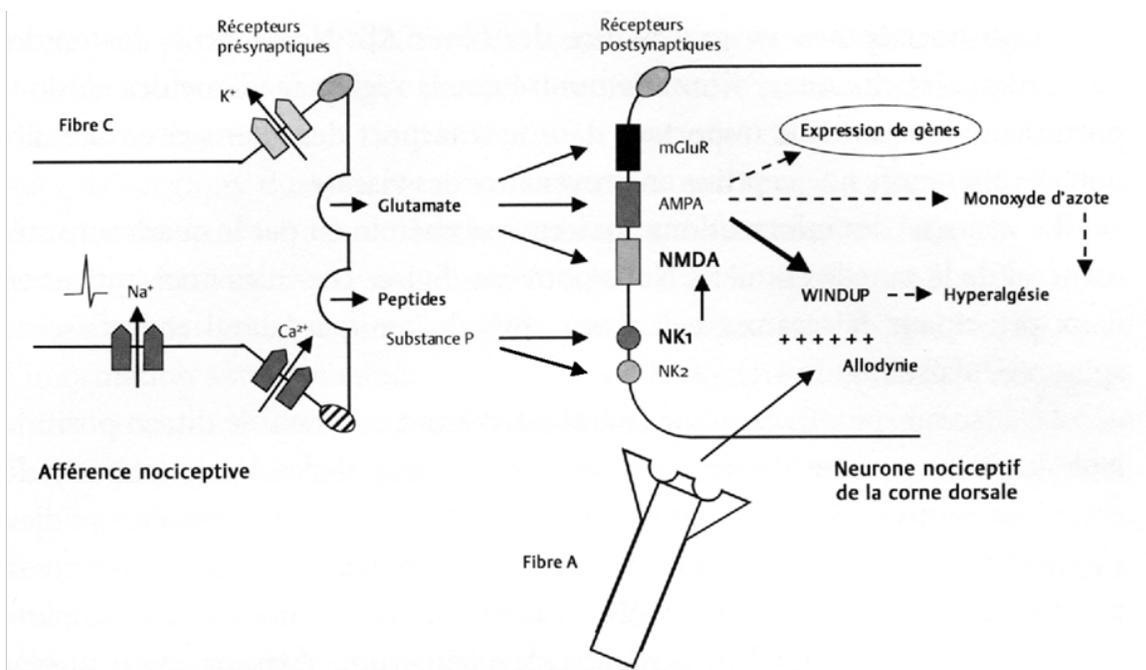
### **2. Mécanismes de la sensibilisation centrale**

Au niveau de la moelle épinière, dans certaines conditions, un phénomène de facilitation de la douleur qualifié de sommation temporelle conduisant à une sensibilisation spinale peut être observé (Marchand, 2005). La sommation temporelle est un processus qui se caractérise par une augmentation de la réponse à des stimuli nociceptifs répétés par comparaison à un seul de ces stimuli de même intensité. La sommation temporelle résulte d'un phénomène qualifié de « wind up » (Marchand, 2005). Il est déclenché suite à une lésion sévère et persistante provoquant une répétition des stimuli nociceptifs, et donc une augmentation de la fréquence de dépolarisations rapides et continues provenant des fibres C. Cette salve de potentiels d'actions de haute fréquence stimule la libération, au niveau du système nerveux central, d'une grande quantité de molécules neuroexcitatrices telles que le glutamate et la substance P qui se fixent à différents récepteurs post synaptiques (Hellyer et al., 2007). Parmi ces récepteurs, les

récepteurs N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) au glutamate jouent un rôle majeur dans l'apparition de ce phénomène (Basbaum and Jessell, 2000).

Il en résulte une augmentation de la sensibilité des NPS à toutes les informations qu'ils reçoivent non seulement par les nocicepteurs sensibilisés mais également par les mécanorécepteurs (ne transmettant normalement pas d'information douloureuse) (Bennett, 2000). Ainsi, ce phénomène conduit à l'apparition d'hyperalgésie secondaire et d'allodynie.

Le « wind up » est un phénomène biochimique passager et réversible qui peut cependant produire des changements à long terme des voies de la douleur et devenir permanent. On parle alors de sensibilisation centrale, mécanisme sous-jacent des douleurs nociceptive et neuropathique prolongées (Basbaum and Jessell, 2000; Marchand, 2005).



**Figure 6** : La sensibilisation centrale s'exprime cliniquement par de l'hyperalgésie secondaire. Au niveau de la moelle épinière, l'activation des fibres nociceptives de type C produit la libération de substances neuroexcitatrices au niveau de la fente synaptique. Cette libération est dépendante d'influx d'ions calciques et sodiques au travers de récepteurs canaux voltage-dépendants. Les molécules neuroexcitatrices agissent sur des récepteurs post synaptiques induisant des cascades de réactions intracellulaires à l'origine d'un état d'hypersensibilité du neurone post synaptique. Celui-ci répondra de manière plus intense à des stimulations nociceptives ultérieures (Beaulieu and Rice, 2003; Dickenson and Chapman, 1997).

### **3. La neuroplasticité produit des changements irréversibles des voies de la douleur**

#### 3.1. Présentation du phénomène

La plasticité se définit par l'activité qui apparaît à la suite de changements dans l'organisation anatomique ou fonctionnelle en réponse à un dommage tissulaire.

La neuroplasticité se produit de manière naturelle au niveau cérébral. C'est elle qui nous permet de nous adapter à différentes conditions environnementales, d'apprendre de nouvelles tâches et d'incorporer de nouvelles expériences (Craig, 2007).

Cependant elle participe également à la chronicisation de la douleur et se manifeste cliniquement de trois manières : tout d'abord par une prédominance croissante des phénomènes excitateurs, puis par la dépendance décroissante de la sensation douloureuse par rapport à l'information nociceptive initiale, enfin par un remaniement plus ou moins intense à l'origine d'une modification structurale et architecturale des voies de la douleur (Wilder-Smith and Arendt-Nielsen, 2006).

#### 3.2. Mécanismes de la neuroplasticité

Le potentiel excitotoxique de certaines molécules libérées lors de sensibilisation centrale entraîne une perte des systèmes inhibiteurs au niveau médullaire (dégénérescence des fibres GABA-ergiques et glycinergiques) (Millan, 1999).

Les fibres C peuvent également perdre leur contact synaptique avec la moelle épinière et subir une dégénérescence axonale. De manière compensatoire, les fibres myélinisées de type A- $\beta$ , se mettent à bourgeonner notamment vers la lamina II de la corne dorsale et à remplacer la perte synaptique. On parle de bourgeonnement ou « sprouting » (Woolf and Mannion, 1999). L'importance fonctionnelle du bourgeonnement des fibres A- $\beta$  repose sur le fait que la lamina II qui traite habituellement les informations nociceptives, se met à recevoir également des informations provenant de stimuli non douloureux qui sont alors mal interprétées par le système nerveux (Woolf and Mannion, 1999). Ce phénomène peut se produire aussi bien au niveau périphérique qu'au niveau central et constitue l'un des fondements de l'allodynie (Sessle, 2007).

Des modifications phénotypiques de ces fibres ont également lieu. Les substances neuroexcitatrices telles que la substance P et le CGRP sont normalement exprimés par les fibres C et A- $\delta$ . Or, lors de

lésions nerveuses périphériques, les fibres A- $\beta$  se mettent aussi à exprimer ces substances. Ainsi, des stimuli non douloureux activant les fibres A- $\beta$  peuvent conduire à une libération de substance P et de CGRP et générer un état d'hypersensibilité centrale normalement produit par des stimulations douloureuses (Woolf and Mannion, 1999).

Au niveau des terminaisons, le long de l'axone et au niveau du corps cellulaire des neurones sensoriels endommagés, des foyers d'hyperexcitabilité produisant des potentiels d'action ectopiques peuvent apparaître (Woolf and Mannion, 1999). Ainsi, une lésion nerveuse peut aboutir à la création de court circuit ayant une électrogenèse spontanée. Le SNC interprètera cette activité anormale comme une information douloureuse même en l'absence de stimulus nociceptif.

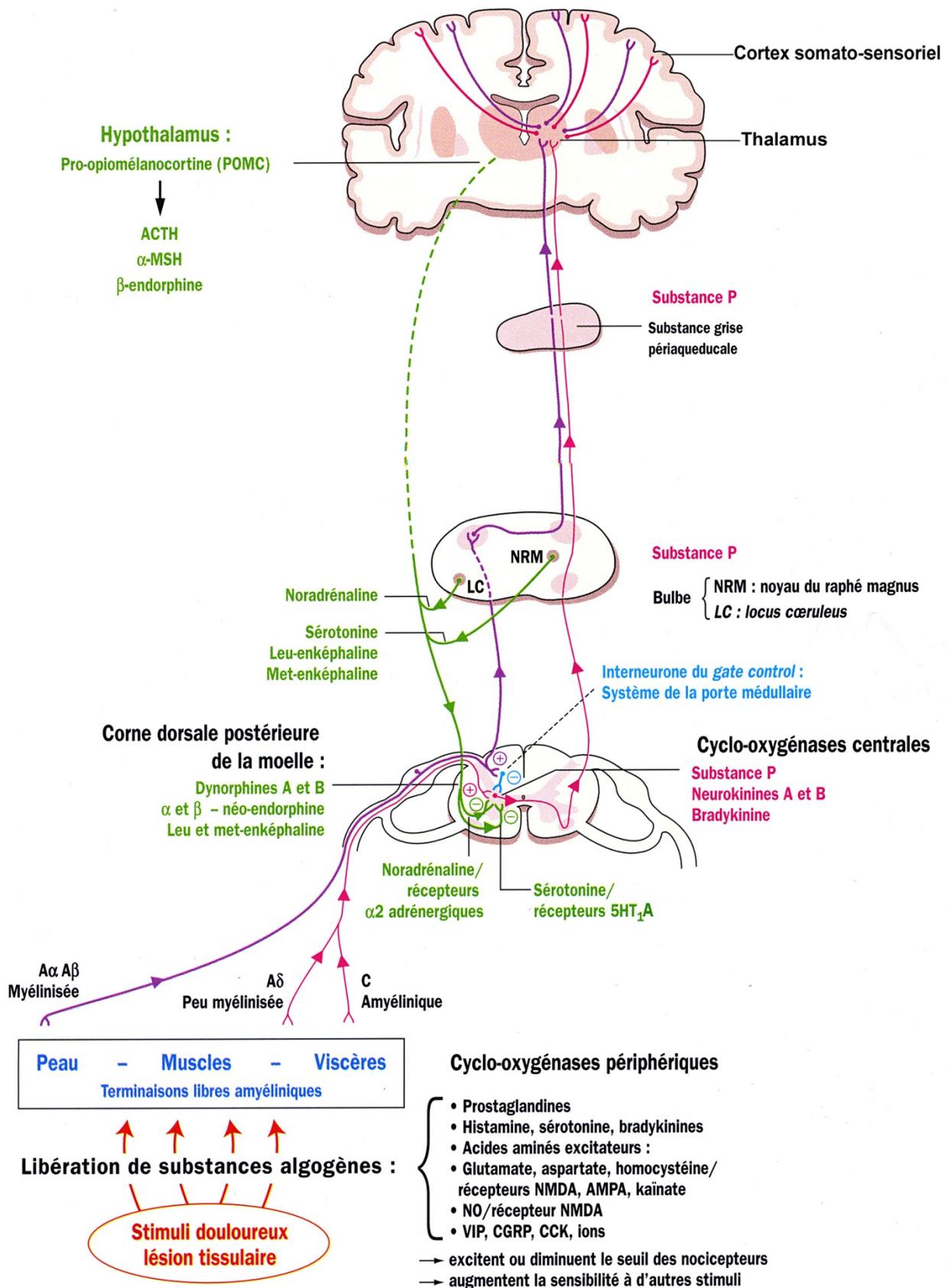


Figure 7 : Voies de la douleur et substances modulatrices (Giniès, 1999).

## **II. EMPHASE SUR LA DOULEUR NEUROPATHIQUE CENTRALE**

### **A. Présentation de la douleur neuropathique centrale**

#### **1. Définition**

La douleur neuropathique centrale (DNC) est définie par l'IASP comme «la douleur initiée ou causée par une lésion primaire ou une dysfonction du système nerveux central i.e de la moelle épinière, du tronc cérébral ou des hémisphères cérébraux» (Merskey and Bogduk, 1994).

C'est une douleur de type neuropathique bien distincte de la douleur neurogénique périphérique, nociceptive ou psychogénique.

La DNC est directement liée à une lésion centrale. Ainsi les douleurs qui se développent secondairement à un processus central, telles que la spasticité douloureuse pouvant être induite par la sclérose en plaques, ou la douleur d'épaule à la suite d'un AVC, ne font pas partie de cette catégorie. De même que la douleur générée par des changements du SNC occasionnés par une pathologie initialement périphérique, n'est pas considérée comme centrale (Wasner, 2010).

#### **2. Caractéristiques de la douleur neuropathique centrale**

D'après de nombreuses études sur le sujet, il semble que les caractéristiques de la DNC varient d'une pathologie à une autre mais également d'un individu à l'autre. De manière générale, cette douleur se traduit par une douleur spontanée ou provoquée par un stimulus (Wasner, 2010). Elle peut être superficielle, profonde ou les deux (Gonzales, 1995). Elle peut se traduire par de l'allodynie, de l'hyperalgésie, de la dysesthésie (diminution ou exagération de la sensibilité) ou de la paresthésie (perception sensorielle anormale soit retardée par rapport à un stimulus, soit apparaissant sans stimulus) (Gonzales, 1995).

Les caractéristiques de cette douleur, telles que décrites par les patients verbaux, sont multiples. Parmi ces descriptions on peut noter entre autres : une sensation d'écrasement, de brûlure, de froid piquant (Panju, 2007).

#### **3. Les causes de douleur neuropathique centrale**

Chez l'homme, les causes de DNC sont nombreuses. Elle a été notamment rapportée à la suite de lésions vasculaires, ischémiques ou traumatiques au sein du cerveau ou de la moelle épinière, de sclérose en plaque, de tumeurs, d'épilepsie ou même de maladie de Parkinson (Panju, 2007). Cependant,

l'accident vasculaire cérébral représente chez l'homme, la cause la plus fréquente de douleur neuropathique centrale (Wasner et al, 2010).

Une condition similaire à de la douleur centrale a été observée chez le chien à la suite d'une tumeur affectant notamment le thalamus (Holland et al., 2000). Cette douleur se traduisait par de l'hémi-parésie, de l'hypersensibilité et de l'allodynie unilatérales sévères à différents stimuli non nociceptifs (l'animal cherchant à mordre ou réagissant fortement suite à tout contact avec le côté affecté).

Le Cavalier King Charles est une race de chien prédisposée à la malformation de Chiari qui s'accompagne souvent de syringomyélie. Cette anomalie serait associée à une douleur de type neuropathique centrale dans 35% des cas (Rusbridge and Jeffery, 2008). Elle se traduirait notamment par un inconfort induit par le touché ou le toilettage dans la région du cou, ou encore de l'intolérance au port d'un collier suggérant de l'allodynie (Rusbridge and Jeffery, 2008).

## **B. Mécanismes d'apparition de la douleur neuropathique centrale**

Des mécanismes similaires peuvent s'appliquer à des pathologies différentes. Certains suggèrent même que la localisation de la lésion a plus d'impact que la pathologie sous-jacente dans le développement de DNC (Wasner, 2010).

### **1. Une implication de la voie spinothalamique**

La DNC résulterait d'une dysfonction de la voie spinothalamocorticale (Wasner, 2010). Une lésion à n'importe quel niveau cette voie ou de ses relais vers le cortex insulaire, serait susceptible de causer de la douleur centrale (Dostrovsky, 2007).

### **2. Un rôle clef du thalamus**

Le thalamus jouerait un rôle majeur dans la pathophysiologie de la DNC sans nécessairement que les patients aient une lésion thalamique (Dostrovsky, 2007). Il participerait à l'apparition de la DCN soit en agissant comme un générateur de douleur soit par un traitement anormal des données ascendantes. Une désafférenciation, une perte de neurones inhibiteurs gaba-ergiques ou encore une activation à dis-

tance de la microglie, font partie des mécanismes suggérés pour expliquer les changements thalamiques après une lésion du SNC (Klit et al., 2009).

### **3. Mécanismes suspectés**

Les mécanismes précis de ce type de douleur restent méconnus. Cependant, il semble que trois mécanismes fondamentaux pourraient être le support d'une activité nerveuse anormale à l'origine de DNC à savoir un phénomène de désinhibition, une sensibilisation et de la plasticité (Craig, 2007). Ces mécanismes seront précisés ultérieurement.

### **4. Traitements possibles de la douleur neuropathique centrale**

Il existe une multitude de traitements qui ont été testés pour soulager les douleurs neuropathiques centrales. Parmi ceux-ci on peut noter les agents pharmacologiques tels que les antidépresseurs tricycliques, les médicaments antiépileptiques, les analgésiques tels que les opioïdes ou encore les agents anesthésiques locaux. D'autres approches thérapeutiques telles que les stimulations sensorielles (stimulations nerveuses électriques transcorticales, stimulations cérébrales profondes, stimulations du cortex moteur) ou les techniques neurochirurgicales (cordotomie, section des entrées des racines dorsales) ont également été expérimentées (Panju, 2007).

Bien que ces traitements soient nombreux et aient des cibles thérapeutiques très variées, certains patients présentent malgré cela des douleurs réfractaires et ne peuvent être soulagés de manière efficace (Kumar and Soni, 2009). L'impact de la douleur sur leur quotidien est réel et nécessite que les scientifiques et les médecins prennent la mesure de ce problème.

### **III. UNE CONDITION PARTICULIÈRE : LA DOULEUR CENTRALE À LA SUITE D'UN ACCIDENT VASCULAIRE CÉRÉBRAL**

#### **A. Quelques données sur les accidents vasculaires cérébraux**

D'après les statistiques de la World Health Organisation, au niveau mondial, 15 millions de personnes auraient un accident vasculaire cérébral (AVC) chaque année. Parmi ces personnes, 5 millions décèderaient et 5 millions resteraient handicapées de manière permanente (Mackay and Mensah, 2004).

##### **1. Définition de l'accident vasculaire cérébral**

Un accident vasculaire cérébral correspond à une interruption brutale de la perfusion cérébrale ou de l'apport en oxygène conduisant à une atteinte cérébrale (Absher, 2002).

##### **2. Les différents types d'AVC**

On distingue deux types d'AVC : l'accident de type ischémique et l'accident de type hémorragique (Gorelick et al., 2007). L'accident ischémique est causé par l'obstruction (par un caillot ou autre) d'une artère cérébrale. Il est le plus fréquent et représente environ 80% des cas d'AVC (Gorelick et al., 2007). L'AVC hémorragique représente environ 15 % des cas (Gorelick et al., 2007). Parmi les différents type d'AVC hémorragique, on distingue notamment l'hémorragie intracérébrale (HIC) et l'hémorragie sous arachnoïdienne. L'HIC a lieu lorsqu'une artère cérébrale profonde anormale se rompt au niveau du cerveau et qu'un saignement a ainsi lieu au sein du tissu cérébral (Gorelick et al., 2007).

Les causes d'AVC les plus fréquentes incluent l'hypertension, le diabète, le tabagisme mais également les pathologies cardiaques, les désordres de coagulation ou encore les anomalies d'un vaisseau (malformation artérioveineuse par exemple) (Absher, 2002).

### **3. Les signes cliniques chez l'homme**

Les signes cliniques d'un AVC dépendent de la zone cérébrale atteinte. Les symptômes initiaux sont notamment une faiblesse soudaine, des déficits sensoriels ou cognitifs, une perte de sensation au niveau du visage ou du corps, de la difficulté à parler ou à voir, de l'ataxie, des vertiges (Absher, 2002 ; Balami et al., 2013). Dans certains cas, des maux de têtes seront rapportés (Gorelick et al., 2007).

Les AVC peuvent occasionner des séquelles irréversibles se traduisant notamment par différents degrés de handicap et de la douleur neuropathique centrale (Balami et al., 2013).

### **4. L'AVC chez l'animal**

L'accident vasculaire cérébral se rencontre également chez d'autres espèces notamment le chien et le chat (Platt et Garosi, 2003). Comme chez l'homme, on distingue deux types d'AVC : ischémique ou hémorragique.

Parmi les causes responsables, on distingue notamment les thromboses (lors d'athérosclérose secondaire à l'hypothyroïdie ou l'hyperlipoprotéïnémie par exemple), ou les embolies (à la suite de néoplasie, de maladie cardiaque, ou de vers du coeur...) pour les AVC ischémiques. L'hypertension est la cause principale des hémorragies cérébrales (Platt et Garosi, 2003). L'hypertension peut être soit primaire, soit secondaire à des pathologies telles qu'une maladie rénale ou un hyperadrénocorticisme. Des problèmes de coagulation, des vasculites, de tumeurs intracrâniennes, peuvent également favoriser les hémorragies cérébrales (Platt et Garosi, 2003).

Les signes cliniques chez l'animal varient d'une simple désorientation à une mort subite. Lors d'atteinte unilatérale, on peut observer une marche en cercle ipsilatérale, un syndrome d'hémi-attention, une cécité centrale controlatérale, de l'ataxie et des déficits proprioceptifs également controlatéraux. Les crises épileptiformes seraient relativement fréquentes (Platt et Garosi, 2003).

À notre connaissance, aucun cas de douleur neuropathique centrale n'a été décrit à la suite d'AVC chez l'animal (hors contexte expérimental).

## **B. Présentation de la douleur centrale post AVC**

### **1. Historique**

En 1906, deux chercheurs français, Dejerine et Roussy, décrivent un nouveau type de douleur faisant suite à un accident vasculaire cérébral corrélé à des lésions du noyau ventral du thalamus (portion latérale et postérieure particulièrement). Cette douleur est alors qualifiée de «syndrome thalamique». Elle est alors caractérisée par de l'hémiplégie légère sans contracture, de l'hémianesthésie superficielle avec sensations profondes réduites, une hémialexie légère et de l'astéréognosie (perte de la capacité à reconnaître la forme, la température, la consistance, le poids des objets par le touché nécessitant une sensibilité superficielle et profonde), de la choréathétose (mouvements involontaires, incoordonnés, de grande amplitude, lents et ondulants ou cloniques et brusques), et une douleur paroxystique souvent intolérable du côté hémiplégique, qui ne répond à aucun traitement analgésique (Dejerine and Roussy, 1906).

Cependant, plus récemment, il a été montré que des lésions corticales, du tronc cérébral, ou au sein de la moelle épinière, peuvent également causer de la douleur centrale (Leijon et al., 1989). Dans la mesure où des lésions vasculaires dans d'autres régions que le thalamus peuvent occasionner une douleur semblable, le terme de «douleur thalamique» a été remplacé par celui de «douleur centrale post AVC» (Panju, 2007).

### **2. Définition**

Bien qu'il n'y ait pas de définition unanime de cette condition, elle est souvent décrite comme un syndrome de DNC faisant suite à un accident vasculaire et caractérisé par de la douleur et des anomalies sensorielles dans les parties du corps correspondantes à la lésion cérébrovasculaire, au niveau desquelles il n'y a pas d'origine nociceptive, psychogénique ou neurologique périphérique évidente pour ce type de douleur (Andersen et al., 1995).

### **3. Epidémiologie et caractéristiques de ce type de douleur**

#### 3.1. Prévalence et épidémiologie

Chez l'homme, la douleur centrale post AVC (DCPA) (ou central post stroke pain, CPSP) est la douleur centrale la plus fréquente. Elle représente 90% des cas de douleurs centrales liées à une lésion cérébrale (Klit et al., 2007). Selon les études, elle se développerait chez environ 8% à 10% de tous les patients ayant eu un AVC (Andersen et al., 1995; Hansen et al., 2012; Klit et al., 2011). Cette préva-

lence serait plus élevée (21%) lors de lésion de la région ventropostérieure du thalamus (Lampl et al., 2002). Les hémorragies cérébrales et les lésions ischémiques peuvent causer une douleur centrale chez l'homme. La prévalence de DCPA lors d'hémorragie intracérébrale serait même plus élevée que la moyenne du fait de l'implication fréquente des régions thalamiques (Klit et al., 2009). L'âge moyen pour le développement de DCPA diffère selon les études mais demeure entre 62 et 77 ans (Klit et al., 2007). Cependant, l'âge, le sexe ou le côté de la lésion, ne seraient pas des facteurs prédictifs pour le développement de DCPA (Klit et al., 2009).

### 3.2. Caractéristiques et modalités

La DCPA se caractérise par une douleur constante ou intermittente au niveau d'une zone présentant des anomalies sensorielles après un AVC (Andersen et al., 1995). Bien qu'elle possède des caractéristiques essentielles des syndromes de douleur neuropathique, sa description varie d'un patient à l'autre. Les termes les plus communément employés par les patients sont la sensation de brûlure, de courbature, de piquûre ou encore de lacération (Leijon et al., 1989).

#### 3.2.1. Localisation de la douleur et de la lésion responsable.

La DCPA peut concerner une région de petite taille (la main par exemple) ou au contraire une région de taille importante (tout un côté du corps)(Vestergaard et al., 1995). La région douloureuse la plus fréquemment décrite est l'hémicorps avec ou sans implication de la face et des extrémités (Leijon et al., 1989). Elle peut être superficielle, profonde ou les 2 (Leijon et al., 1989). Les lésions thalamiques à l'origine de DCPA sont souvent petites et peuvent impliquer différents noyaux thalamiques et plus particulièrement les noyaux ventrocaudaux (incluant le VPL) (Kim et al., 2007; Paciaroni and Bogouslavsky, 1998). Au contraire, il semble que l'atteinte des noyaux médiaux et centromédiaux, une déafférentiation complète des noyaux ventrolatéraux ou encore une hémorragie affectant la portion antérieure ou l'intégralité du thalamus, ne provoquent pas de DCPA (Kumar and Soni, 2009). La DCPA est aussi rapportée après une lésion vasculaire du tronc cérébral et plus précisément lors d'atteinte de sa portion dorsolatérale innervée par l'artère cérébelleuse postérieure inférieure (syndrome de Wallenberg) (Kumar and Soni, 2009). Sa prévalence serait même plus élevée que la moyenne à la suite de ce syndrome (MacGowan et al., 1997).

#### 3.2.2. Délai d'apparition

Une apparition progressive semble être plus fréquente. L'intervalle entre l'accident vasculaire et l'apparition de la douleur centrale varie considérablement entre le moment immédiat après l'accident et jusqu'à 6 ans après (Klit et al., 2007). Dans les cas retardés cependant, une nouvelle lésion ne peut être

exclue. En moyenne, cette douleur apparaîtrait dans les premiers 3 à 6 mois après l'accident vasculaire (Klit et al., 2011; Leijon et al., 1989). Cependant pour la majorité des patients, elle apparaîtrait dans le mois qui suit l'AVC (Andersen et al., 1995).

### 3.2.3 Intensité de la douleur

La douleur est d'intensité modérée à sévère dans 60 % des cas (Andersen et al., 1995). Cependant, son intensité varierait grandement selon les individus (Klit et al., 2007). Si dans sa description initiale par Dejerine et Roussy (1906), elle était dite intolérable, des rapports plus récents la décrivent plutôt comme légère à modérée (Andersen et al., 1995). Elle semble tout de même être difficile à endurer pour les patients (Leijon et al., 1989).

### 3.2.4. Facteurs favorisant de la douleur

La douleur serait de nature spontanée dans la plupart des cas mais pourrait également être provoquée (Klit et al., 2011). En effet, Dejerine et Roussy font la description suivante « la douleur n'est pas simplement spontanée, elle est aussi, dans certain cas, provoquée par un simple attouchement de la peau avec le doigt; la piqûre, le contact du froid et du chaud, la pression, sont très douloureux, ces malades étant parfois très hyperestésiques » (Dejerine and Roussy, 1906). Ainsi, certains facteurs tels que le froid, les mouvements articulaires, le toucher, le stress, et même la lumière vive, serait susceptibles d'aggraver la douleur (Bowsher, 1996; Leijon et al., 1989). Au contraire, le repos, les mouvements, la chaleur ou le froid pourraient l'atténuer dans certains cas (Leijon et al., 1989).

La DCPA pourrait dans certains cas être réversible ce qui suggère que cette condition serait dynamique et susceptible d'être modulée par différents facteurs environnementaux et temporels (Canavero and Bonicalzi, 2001; Klit et al., 2011).

## 3.3. Signes cliniques

Il ne semble pas y avoir de signe clinique qui soit pathognomonique de la DCPA et qui pourrait indiquer l'origine de cette douleur par rapport à son apparition, ses caractéristiques et son intensité (Leijon et al., 1989). Cependant, les études cliniques révèlent que la totalité des patients souffrant de DCPA présenterait un certain degré d'anomalie sensorielle du côté affecté (Leijon et al., 1989; Vestergaard et al., 1995). Ces déficits peuvent être tactiles, mécaniques, thermiques ou dans la perception de douleur mais les anomalies de sensibilité au froid, et l'allodynie tactile seraient plus fréquentes (Greenspan et al., 2004; Vestergaard et al., 1995). Il est, de plus, fréquent que l'aire corporelle présentant des anomalies soit de taille équivalente ou supérieure à l'aire douloureuse (Vestergaard et al., 1995).

#### **4. Diagnostic de la DCPA**

Le diagnostic de la DCPA est délicat et repose sur une anamnèse suggérant un accident vasculaire ou une hémorragie cérébrale précédant l'apparition de douleur, la présence de douleur dans la région corporelle correspondant à la projection de la zone lésée du SNC, sur la confirmation d'une lésion du système nerveux central par des techniques d'imagerie (Scanner ou IRM) et des tests sensoriels et par l'exclusion de toutes les autres causes possibles de douleur dans la région concernée (inflammation, augmentation du tonus musculaire...) (Klit et al., 2009). Le diagnostic de la DCPA est donc un diagnostic d'exclusion.

Parmi les pathologies faisant partie du diagnostic différentiel et qu'il est nécessaire d'exclure pour pouvoir conclure à une DCPA, on distingue : le syndrome épaule-bras qui peut apparaître à la suite d'une subluxation de l'articulation scapulo-humérale induite par la flaccidité de l'épaule, un syndrome de douleur régionale complexe qui peut se développer dans le bras parétique à la suite d'un trauma secondaire à l'AVC, la douleur induite par la spasticité, une malposition induite par la parésie, une surutilisation du côté non affecté, ou tout autre cause de douleur neuropathique centrale listée précédemment (Wagner, 2010).

#### **C. Mécanismes suspectés**

Comme nous l'avons vu précédemment, différentes conditions neuropathiques peuvent avoir des mécanismes sous-jacents similaires. Cependant, pour une condition telle que la DCPA, les lésions varient selon les individus, et il est possible que des mécanismes physiopathologiques différents entrent en jeu pour occasionner ce type de condition douloureuse selon la région du SNC atteinte (Klit et al., 2009).

##### **1. Une implication de la voie spinothalamique**

La DCPA est une douleur neuropathique centrale qui implique une atteinte de la voie spinothalamique. Le fait que les patients souffrant de DCPA présentent des déficits de sensibilité à la température et à la douleur, confirme cette hypothèse (Leijon et al., 1989; Vestergaard et al., 1995). De plus, l'utilisation

de l'imagerie fonctionnelle a permis de mettre en évidence que thalamus est une structure présentant fréquemment des anomalies chez les patients atteints de DCPA (Casey, 2007). Paradoxalement, bien qu'une lésion de n'importe quelle région de la voie spinothalamique, du thalamus ou des projections thalamiques puisse causer de la DCPA, cette lésion est nécessaire mais pas toujours suffisante au développement de cette condition (Andersen et al., 1995). Ainsi, des patients avec des lésions plus ou moins identiques peuvent développer ou non ce type de douleur (Andersen et al., 1995).

## **2. Mécanismes cellulaires**

Les patients atteints de DCPA ont des altérations marquées du traitement des signaux nociceptifs. Ces altérations pourraient être dues à une sensibilisation des neurones nociceptifs thalamiques et/ou corticaux, à une réduction des processus modulateurs inhibiteurs ou encore à une réorganisation des représentations somatotopiques (plasticité) (Dostrovsky, 2007).

### 2.1. La sensibilisation

La sensibilisation caractérise l'activité résultant d'une réactivité augmentée aux stimuli au niveau d'un foyer hyperactif (parfois qualifié de «foyer irritable») siège de décharges ectopiques anormales (Craig, 2007). La présence d'hyperalgésie associée à des anomalies sensorielles dans la région de projection des neurones lésés lors d'un AVC est une condition suffisante pour parler de DCPA chez les patients. Or, selon certains spécialistes, cette condition pourrait résulter de la sensibilisation des neurones de 3ème ordre ou neurone tertiaire du SNC qui auraient perdu certaines de leurs afférences (Jensen and Lenz, 1995). La DCPA pourrait donc être la conséquence d'une hyperexcitabilité des neurones thalamiques ou corticaux similaire à ce qui a pu être observé dans d'autres conditions de douleur neuropathique (Vestergaard et al., 1995). En effet, la présence de dépolarisations à haute fréquence résultant de l'inactivation de canaux calciques a été rapportée dans le thalamus médial de patients atteints de douleur neuropathique périphérique et centrale. Cette hyperexcitabilité neuronale pourrait être la conséquence d'une lésion conduisant à une hyperpolarisation membranaire soit par excès d'inhibition soit par une perte d'excitation (Jeanmonod et al., 1996). Cette activité qualitativement anormale conduirait à une activité ératique asynchrone continue multifocale se traduisant d'un point de vue global par une baisse d'activité thalamique (Kumar and Soni, 2009). Cette baisse d'activité se traduit par un hypométabolisme thalamique observable au PET-Scan du côté de la lésion chez les patients atteints de DCPA (Casey, 2007).

## 2.2. La désinhibition

La désinhibition caractérise l'activité libérée par une perte de son contrôle inhibiteur normal soit au niveau local, soit provenant d'un système distant (Craig, 2007). Selon la théorie proposée par Head et Holmes (1911), une désinhibition du réseau limbique impliquant notamment le thalamus médial responsable de l'aspect pénible de la douleur par connection avec le cortex insulaire, pourrait survenir suite à une lésion du thalamus latéral à la suite d'un AVC. On peut en effet supposer qu'une lésion vasculaire dans le thalamus latéral conduirait à une perte des neurones inhibiteur gaba-ergiques provenant notamment du noyau réticulé et projetant vers le VPL (Jensen and Lenz, 1995). Selon une autre hypothèse, la DCPA et plus particulièrement la douleur de type brûlure et l'allodynie au froid serait la conséquence d'une baisse de l'inhibition physiologique du système thermique et plus précisément de l'inhibition par le froid sur les neurones nociceptifs (Craig, 1998). La DCPA serait donc un désordre de la thermorégulation par altération de l'homéostasie entre l'activité thermosensorielle et l'activité nociceptive polymodale. Dans les deux cas, la désinhibition provoquerait une sensation négative désagréable (avec de l'inconfort et une douleur similaire à une brûlure) par libération du système responsable de la composante émotionnelle et affective de la douleur (Craig, 2007).

## 2.3 La plasticité

Des changements plastiques au niveau neuronal et synaptique seraient également impliqués dans l'apparition de douleur neuropathique centrale. Le développement post-traumatique de symptômes inhabituels après des mois ou même des années peut être le signe de changements plastiques maladaptatifs dans l'organisation ou la connectivité neuronale (Craig, 2007). En effet, la survenue de douleurs lors de la phase de récupération sensitive est un gros argument en faveur de réorganisations fonctionnelles aberrantes, qui pourraient aboutir à une distorsion de l'information (Demasles et al., 2008). Ainsi, le développement d'allodynie à la suite d'AVC supporte l'hypothèse d'un phénomène de néoconnexion (postlésionnelle) entre système lemniscal et spinothalamique comme cause de DCPA, mais les supports cellulaires et moléculaires de cette réorganisation ne sont pas encore connus (Demasles et al, 2008). Dans les rares modèles animaux de douleur centrale, des modifications synaptiques durables sont démontrées dans le cortex SI chez le rat, après lésion du VPL et du noyau ventropostérieur médian (VPM) (Demasles et al, 2008)

Ces changements neuroplastiques seraient influencés par des facteurs environnementaux, psychologiques mais également génétiques (Pirotte et al., 2007). Ceci pourrait expliquer pourquoi des individus

présentant une lésion similaire seraient plus ou moins susceptibles de développer de la douleur neuropathique centrale.

### **3. Mécanismes moléculaires**

D'un point de vue moléculaire, le fait que ce type de douleur puisse être modulé par certains antidépresseurs tricycliques laisse supposer un rôle du système monoaminergique par des mécanismes noradrénergiques, sérotoninergiques et dopaminergiques, dans ce type de douleur neuropathique (Henry, 2007). En effet, les afférences neuronales vers le thalamus incluent des terminaisons de types glutamatergiques et GABA-ergiques, mais également de types noradrénergiques, sérotoninergiques, histaminergiques et cholinergiques. La noradrénaline (provenant du locus coeruleus) et la sérotonine (provenant du raphé dorsal) peuvent moduler l'activité de dépolarisation des neurones thalamiques en agissant au niveau du noyau réticulé entourant le thalamus et d'autres noyaux relais (Jensen and Lenz, 1995). L'efficacité de certains anticonvulsivants et antiarythmiques sur la DCPA laisse supposer, entre autres, un rôle des récepteurs calciques et sodiques dans le mécanisme de la DCPA (Henry, 2007). L'hyperactivité des neurones nociceptifs résulte d'une modification de leurs propriétés électrophysiologiques, conséquence de la sensibilisation centrale. Une toxicité d'acides aminés excitateurs tel que le glutamate par l'activation des récepteurs NMDA et par l'intermédiaire d'influx de calcium et de sodium à travers leur canaux respectifs, pourrait causer des dommages aux neurones centraux et conduire aux réorganisations neuronales et synaptiques à l'origine de la DCPA (Kumar and Soni, 2009; Millan, 1999, Kohrs and Durieux, 1998).

### **D. Traitements de la douleur neuropathique centrale post accident vasculaire cérébral**

La douleur thalamique semble être l'une des plus résistantes au traitement et il n'existe actuellement aucune approche pharmacologique à long terme qui fasse l'unanimité auprès des patients. En effet, si de nombreux traitements pharmacologiques ont été utilisés pour le traitement de la DCPA, un examen rapproché des données cliniques démontre une efficacité souvent limitée de ces molécules (Henry, 2007). Parmi les différents médicaments utilisés, on citera notamment la morphine, le levopharnol, la

kétamine, l'amitriptyline, la carbamazépine, la gabapentine, le prégabalin, le zonisamide, la mexilétine, la lidocaïne (Henry, 2007).

Les recommandations concernant le traitement de la DCPA s'établissent souvent en trois étapes. Dans un premier temps un antidépresseur tricyclique devrait être prescrit. En cas d'efficacité limitée ou nulle, un anticonvulsivant est introduit. Si cela ne suffit pas, alors les composés opioïdes ou d'autres agents sont ajoutés (Gordon, 2007). En l'absence d'efficacité des traitements pharmacologiques, d'autres modalités de traitement, souvent plus invasives, sont alors offertes (Kumar et al., 2009).

Les antidépresseurs et les anticonvulsivants sont communément appelés analgésiques adjuvants. Initialement, ils n'ont pas été développés pour leurs propriétés analgésiques. C'est donc dans des conditions d'utilisation classique que leur efficacité sur le contrôle de la douleur a été observée (Pineyro and Azzi, 2005).

Dans la suite de cette présentation, seules les molécules qui seront utilisées lors de la partie expérimentale seront détaillées.

## **1. L'amitriptyline : un antidépresseur aux propriétés analgésiques**

Les antidépresseurs efficaces cliniquement sur la douleur neuropathique centrale ont une interaction identifiable avec les neurones monoaminergiques centraux qui utilisent la noradrénaline et la sérotonine comme neurotransmetteurs (Pineyro and Azzi, 2005).

### 1.1. Efficacité clinique de l'amitriptyline

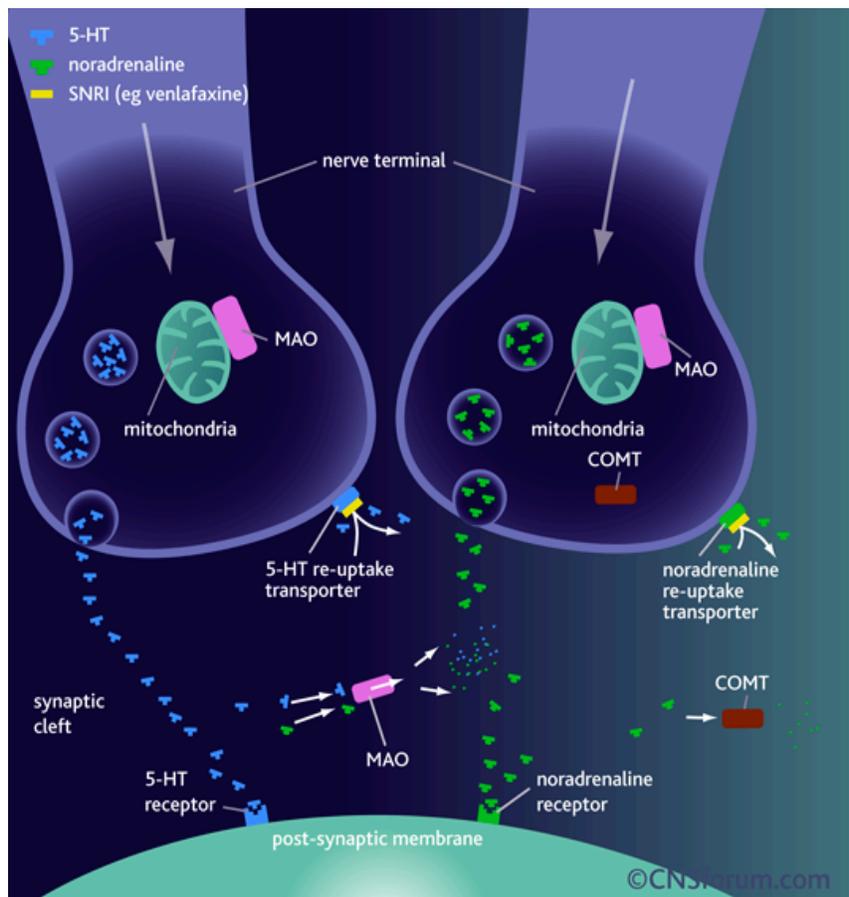
L'amitriptyline a été utilisée pour traiter différents types de douleur neuropathique (Kaur et al., 2011; Mishra et al., 2012). D'après une étude sur la DCPA, l'amitriptyline produirait une réduction significative de la douleur chez des patients atteints par comparaison avec un placebo et ce même s'ils ne souffrent pas de dépression (Leijon and Boivie, 1989). Son efficacité s'observerait en général dès la deuxième semaine de traitement (Leijon and Boivie, 1989). En revanche, lors d'une autre étude sur des patients ayant eu un AVC atteignant la région ventropostérieure du thalamus et traités prophylactiquement avec de l'amitriptyline, une diminution légère mais non significative du pourcentage de patients développement de la DCPA a été observée. Ces résultats n'ont donc pas permis de conclure à une efficacité de l'amitriptyline pour la prévention de cette condition douloureuse (Lampl et al., 2002).

### 1.2. Effets indésirables de l'amitriptyline

Les effets secondaires de l'amitriptyline, bien que fréquents, seraient relativement bien supportés et ne nécessiterait pas d'arrêt de la médication aux doses efficaces (Leijon and Boivie, 1989). Ces effets secondaires sont attribués à son activité inhibitrice sur les récepteurs muscariniques (sécheresse de la bouche, vision floue, rétention urinaire et constipation), les récepteurs H1 (sédation et gain de poids), et les récepteurs  $\alpha_1$  adrénergiques (hypotension, vertiges) (Pineyro and Azzi, 2005).

### 1.3. Mécanismes d'action de l'amitriptyline

L'effet des antidépresseurs sur la douleur neuropathique est plus rapide et se produit à des doses plus faibles que leur effet sur la régulation de l'humeur (Leijon and Boivie, 1989; Pineyro and Azzi, 2005). De plus, aucune corrélation entre la présence de dépression et le développement de DCPA chez les même patients n'a pu être démontrée (Andersen et al., 1995). Ces observations suggèrent donc que le mécanisme de ces molécules sur la douleur pourrait être différent de celui impliqué dans le traitement de la dépression (Pyneyro and Azzi, 2005). L'amitriptyline est un antidépresseur tricyclique qui agit en inhibant les transporteurs de la sérotonine (5-HT) et de la noradrénaline (NA) présents au niveau pré-synaptique ce qui bloque la recapture de ces molécules (Pyneyro and Azzi, 2005).



**Figure 8 :** Lorsqu'un potentiel d'action est transmis au niveau de la terminaison nerveuse noradrénergique ou sérotoninergique, les neurotransmetteurs tels que 5-HT et NA sont libérés dans la fente synaptique et se fixent à leur récepteurs spécifiques sur la membrane postsynaptique. Le message nerveux est inhibé ou propagé selon le type de récepteur. Les molécules de 5-HT et de NA sont ensuite libérées de leur récepteur et recapturées au niveau de leur terminaison d'origine par des transporteurs de recapture. Puis les 2 molécules sont dégradées par les enzymes MAO (Monoamine Oxydase) et COMT (enzyme cathéchol-O-méthyl-transferase). Les antidépresseurs tricycliques tels que l'amitriptyline préviennent la recapture de 5-HT et NA en bloquant leur transporteurs présynaptiques prévenant ainsi leur dégradation ultérieure. Ce blocage de la recapture conduit à une accumulation de 5-HT et NA dans la fente synaptique accentuant ainsi leur activité (CNS Forum : [http://www.cnsforum.com/imagebank/item/Drug\\_MOAI\\_norm/default.aspx](http://www.cnsforum.com/imagebank/item/Drug_MOAI_norm/default.aspx), 5 mai 2013)

Bien que le mécanisme d'action de l'amitriptyline sur la douleur reste mal compris, une accentuation des systèmes inhibiteurs provenant du tronc cérébral et impliquant la sérotonine et la noradrénaline est suspectée (Lampl et al., 2002). D'autres mécanismes pourraient également être impliqués. En effet, un

mécanisme secondaire de l'amitriptyline ciblerait les transporteurs de GABA en bloquant sa recapture au niveau neuronal et au niveau de la glie. Ce phénomène favoriserait l'inhibition de la nociception par les interneurons GABA-ergiques au niveau des afférences primaires (Pineyro and Azzi, 2005). Enfin, l'amitriptyline agirait également comme bloqueur des canaux sodiques d'une façon indépendante de l'usage ce qui pourrait également sous-tendre son activité antinociceptive (Pineyro and Azzi, 2005).

## **2. Des anticonvulsivants aux propriétés antihyperalgésiques**

L'efficacité des anticonvulsivants ou antiépileptiques sur les douleurs neuropathiques et plus particulièrement la DCPA reste un sujet de controverses. Ils ont cependant été utilisés pour le traitement de diverses conditions douloureuses (Siniscalchi et al., 2012). Les anticonvulsivants sont des régulateurs négatifs de l'excitabilité neuronale. Ils empêchent l'activité électrique excessive soit en favorisant les mécanismes inhibiteurs ou en altérant les mécanismes excitateurs au niveau du SNC (Pineyro and Azzi, 2005). La gabapentine et la carbamazépine sont deux molécules ayant été développées pour leurs propriétés anticonvulsivantes et dont les mécanismes d'action sont distincts (Pineyro and Azzi, 2005).

### 2.1. La gabapentine

La gabapentine [1-(aminométhyl) cyclohexane acetic acid], est un analogue structural du GABA (Mao and Chen, 2000).

#### 2.1.1. Etudes cliniques

Plusieurs études ont démontré l'efficacité de la gabapentine dans le traitement de douleurs neuropathiques telles que les neuropathies diabétiques, la douleur post-herpétique, la douleur cancéreuse neuropathique, ou la sclérose en plaque (Mao and Chen, 2000). Dans une étude évaluant l'effet de la gabapentine par rapport au placebo chez des patients souffrant de douleur neuropathique centrale ou périphérique, une diminution de l'allodynie tactile et au froid a été observée (Attal et al., 1998). Cette drogue atténuerait également la douleur spontanée paroxystique lancinante ou de type brûlure (Mao and Chen, 2000). Ces caractéristiques sont souvent rencontrées dans la DCPA. Des résultats semblables ont été rapportés sur des modèles animaux de douleur neuropathique (Chogtu et al., 2011; Coderre et al., 2005; Densmore et al., 2010). Par exemple, dans un modèle de douleur centrale induite par un hématome impliquant le thalamus et les ganglions basaux chez le rat, il a été observé que la gabapentine pouvait renverser la douleur neuropathique induite par la lésion (Roy et al., 2011).

### 2.1.2. Effets indésirables de la gabapentine.

Les effets secondaires de la gabapentine rapportés chez l'homme incluent le plus souvent des étourdissements, de la somnolence, de la confusion et de l'ataxie (Mao and Chen, 2000). Chez l'animal, on observe surtout de la sédation et de l'ataxie (Plumb, 2011).

### 2.1.3. Mécanismes d'action de la gabapentine

Le mécanisme d'action de la gabapentine demeure méconnu et résulterait d'une synergie complexe entre une augmentation de la synthèse du GABA, un antagonisme des récepteurs au glutamate non-NMDA, et une action sur des récepteurs calciques voltage-dépendants (Bennett and Simpson, 2004). Concernant son activité sur le système gaba-ergique, bien qu'étant un analogue structural du GABA, la gabapentine ne se fixe pas sur les mêmes récepteurs. Cependant, elle augmente la synthèse du GABA à partir du glutamate et sa libération par les astrocytes (Bennett and Simpson, 2004). Les anticonvulsivants tels que la gabapentine, agissent également sur les canaux voltage dépendant sélectivement perméables au  $\text{Ca}^{2+}$  de type N, en se fixant sur la sous-unité  $\alpha 2\delta$  du canal (Pineyro and Azzi, 2005). Les canaux calciques voltage dépendant de type N jouent un rôle majeur dans la douleur neuropathique et leur expression est notamment liée à la plasticité neuronale (Walczack and Beaulieu, 2005). Ces canaux contrôleraient la libération des neurotransmetteurs au niveau des afférences primaires ainsi que la dépolariation post synaptique des neurones de la corne dorsale (Pineyro and Azzi, 2005). Ainsi, l'administration de gabapentine bloquerait ces canaux ce qui préviendrait l'influx calcique intracellulaire, la libération d'acides aminés excitateurs et les cascades d'activation post-synaptique subséquentes. Cette action serait le support de son action anti-allodynique et anti-hyperalgésique.

## 2.2 La carbamazépine

Comme la gabapentine, la carbamazépine est un anticonvulsivant pouvant être utilisé pour le traitement de certaines douleurs neuropathiques (Hahm et al., 2012). Elle est également utilisée comme stabilisateur de l'humeur dans les désordres bipolaires (Pineyro and Azzi, 2005). Son mécanisme d'action est différent de celui de la gabapentine puisqu'elle agit elle, sur des canaux excitateurs sélectivement perméables au  $\text{Na}^+$  (Pineyro and Azzi, 2005).

### 2.2.1 Efficacité clinique de la carbamazépine

En plus de son activité anticonvulsivante, la carbamazépine est reconnue pour le traitement de la douleur paroxystique associée à la névralgie trigéminal (McQuay et al., 1995). Elle serait également efficace pour le traitement de la migraine (McQuay et al., 1995). L'effet de la carbamazépine sur la douleur centrale post AVC a été évalué dans une étude chez l'homme par comparaison avec un placebo.

Malheureusement, bien qu'une réduction de la douleur soit décrite chez certains patients, le soulagement n'était pas statistiquement significatif par comparaison avec le placebo (Leijon and Boivie, 1989).

### 2.2.2. Effets indésirables de la carbamazépine

L'utilisation de la carbamazépine est souvent limitée par ses effets secondaires (Hansson, 2004). Bien qu'elle puisse être efficace lors de douleur centrale paroxystique lancinante, des effets indésirables demeurent relativement fréquents, les vertiges, la somnolence et les étourdissements étant les plus souvent rapportés (McQuay et al., 1995).

### 2.2.3. Le mécanisme d'action antihyperalgésique

Au niveau des terminaisons nerveuses lésées et en particulier au niveau des fibres de gros diamètre A- $\beta$ , des décharges ectopiques spontanées peuvent être observées. Ce phénomène serait dépendant de l'activation de canaux sodiques voltages dépendants et contribuerait à l'allodynie et à l'hyperalgésie, caractéristiques de la douleur neuropathique (Millan, 1999). Le mécanisme responsable de ces dépolarisations spontanées est un remodelage membranaire conduisant à un excès de canaux sodiques au niveau des terminaisons nerveuses de la lésion tissulaire ou des zones démyélinisées (Bennett and Simpson, 2004). La carbamazépine préviendrait ces décharges ectopiques en bloquant les canaux sodiques voltage dépendants. Ceci stabiliserait la membrane présynaptique et préviendrait alors la libérations d'acides aminés neuroexcitateurs et ainsi l'installation d'hyperalgésie (Hahm et al., 2012).

## **3. La kétamine, un antagoniste des récepteurs NMDA aux indications multiples**

La kétamine est une drogue développée comme anesthésique dans les années 1960 et qui présente de nombreuses autres indications notamment pour le traitement de la douleur cancéreuse, de la douleur aiguë post-opératoire, et de certaines douleurs chroniques non cancéreuses réfractaires aux traitements classiques notamment les douleurs neuropathiques (Bell, 2009).

### 3.1. Efficacité clinique de la kétamine

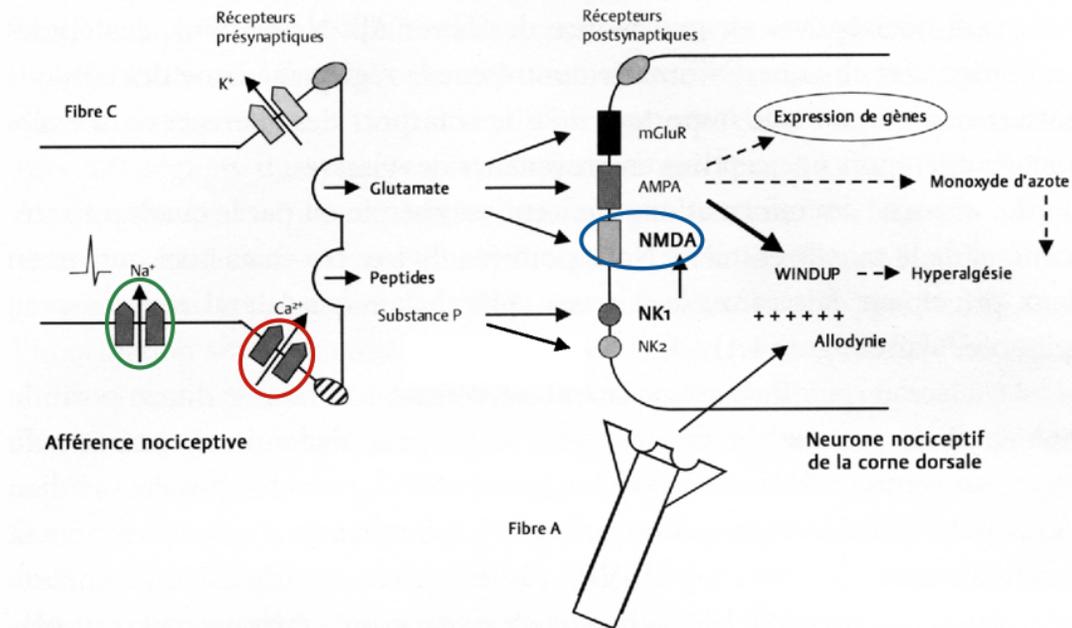
L'indication de la kétamine qui nous intéresse particulièrement est sa capacité à traiter la douleur neuropathique dans différentes conditions (Backonja et al., 1994; Eide et al., 1995; Felsby et al., 1996). Elle se serait révélée relativement efficace pour le traitement de la douleur post-herpétique, de la fibromyalgie, de certains cas de migraine, ou de certaines douleurs de « membres fantômes » (Bell, 2009). Elle aurait également montré une certaine efficacité chez certains patients atteints de DCPA (Vick and Lamer, 2001; Yamamoto et al., 1997).

### 3.2. Effets indésirables de la kétamine

Les effets secondaires de la kétamine sont, entre autres, de la sédation, de la dysphorie, des hallucinations, des difficultés motrices, de l'amnésie, ou encore de l'anxiété et des cauchemars (Backonja et al., 1994; Vick and Lamer, 2001).

### 3.3. Mécanismes d'action de la kétamine

Si la kétamine semble agir sur une multitude de récepteurs et de canaux, il semble que son action analgésique soit due à un antagonisme des récepteurs NMDA qui jouent un rôle important dans le mécanisme de sensibilisation centrale pouvant ainsi favoriser le développement de douleur chronique (Bell, 2009; Bennett, 2000; Ji et al., 2003). Cette activité préviendrait l'allodynie et l'hyperalgésie (Leung et al., 2001). En effet, il a été démontré que lors du phénomène de « wind up », le glutamate libéré par les fibres nociceptives de type C agissant sur les récepteurs NMDA provoque une sensibilisation des fibres post synaptique qui réagissent alors de manière plus intense aux stimuli (Basbaum and Jessel, 2000). Ces neurones deviennent plus sensibles aux stimuli nociceptifs mais également aux stimuli non nociceptifs provenant de mechanorécepteurs de seuil d'activation faible (Bennet, 2000). Cette sensibilisation centrale produit cliniquement de l'allodynie et de l'hyperalgésie dites secondaires (par opposition à l'hyperalgésie primaire résultant d'une sensibilisation périphérique) qui peuvent être réversées par l'administration d'antagoniste des récepteurs NMDA tels que la kétamine (Woolf and Mannion, 1999)



**Figure 9 :** Cible d'action de la gabapentine (cercle rouge), de la carbamazépine (cercle vert) et de la kétamine (ovale bleu). Parmi les différentes actions possibles de la gabapentine, sa fixation sur la sous-unité  $\alpha 2\delta$  des récepteurs canaux calciques voltage dépendants préviendrait l'influx de calcium intracellulaire conduisant à l'exocytose de substances neuroexcitatrices. L'effet antihyperalgésique de la carbamazépine proviendrait de son action sur les récepteurs canaux sodiques voltage dépendants. Ces canaux participeraient à la transmission de la dépolarisation le long de la fibre nerveuse nociceptive par modification de son potentiel de membrane. Le blocage des récepteurs NMDA par la kétamine préviendrait les cascades moléculaires à l'origine d'une hyperalgésie secondaire au niveau central. Ainsi, le blocage sélectif des canaux calciques, sodiques ou des récepteurs NMDA modulerait négativement les phénomènes de sensibilisation centrale pouvant occasionner de la douleur chronique (Beaulieu and Rice, 2003; Dickenson and Chapman, 1997).

#### 4. Les techniques de neurostimulation

Les thérapies utilisant la neurostimulation telles que la stimulation du cortex moteur ou la stimulation cérébrale profonde, sont parfois utilisées chez les patients souffrant de DCPA et réfractaires aux traite-

ments pharmacologiques habituels (Gordon, 2007). Ces techniques ne sont pas recommandées en première intention car elles sont bien plus invasives que les traitements pharmacologiques.

De plus, il n'existe que quelques études randomisées comparant l'efficacité de ces méthodes par rapport à un placebo dans les cas de douleur centrale et plus particulièrement de DCPA. Les publications à ce sujet sont principalement des rapports de cas ce qui ne permet pas de déterminer de manière objective l'effet thérapeutique réel de ces techniques. Ce que certaines de ses études nous apprennent est que l'utilisation de la stimulation du cortex moteur via des électrodes épidurales implantées et connectées à un générateur de courant pulsé implanté, se serait révélée efficace dans 45 à 75 % des cas de DCPA (Pirotte et al., 2007). Par comparaison, la stimulation profonde cérébrale serait efficace chez 50% des patients atteints de DCPA (Bittar et al., 2005). Des études supplémentaires en comparant avec un placebo demeurent nécessaires pour confirmer ces résultats.

## **E. Modèles animaux de la douleur centrale associée à un accident vasculaire cérébral**

### **1. Intérêt d'un modèle animal**

Le développement d'un modèle fiable reproduisant la douleur neuropathique centrale qui peut apparaître après un AVC présente un intérêt majeur pour la recherche. En effet, ce modèle reproductible peut permettre des études plus approfondies sur les mécanismes de développement de cette condition douloureuse. Il offre également la possibilité de réaliser des essais thérapeutiques en utilisant soit des médicaments connus soit de nouvelles molécules, afin d'accroître les connaissances sur ce type de douleur et de développer de nouvelles approches en terme de traitement.

### **2. Différents types de modèles animaux**

#### **2.1 Modèles animaux des AVC**

Afin de reproduire un accident vasculaire chez le rat, plusieurs modèles de ligature de vaisseaux existent. Une technique d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne à l'aide d'un filament de nylon intraluminal pour mimer un AVC de type ischémique a également été décrite (Longa et al., 1989).

Cependant, chez le rat, les accidents vasculaires de type ischémique provoquent des lésions plus étendues et notamment non limitées au thalamus sensoriel. Ceci nécessite de s'orienter plutôt vers un mo-

dèle de type hémorragique de la DCPA qui lui peut être plus focal et cibler mieux la région d'intérêt (Henry, 2007).

Il existe différents modèles d'hémorragie intracérébrale. Parmi eux, on peut citer, l'utilisation d'un microballon gonflé pendant 10 minutes puis dégonflé pour mimer un effet de masse d'un hématome cérébral puis son retrait, l'injection de sang autologue par stéréotaxie ou encore l'administration de collagénase bactérienne (Rosenberg et al., 1990; Sinar et al., 1987; Wagner et al., 1996). On notera que les modèles reproduisant un saignement avec formation d'un hématome réel sont supérieurs aux modèles qui reproduisent seulement un effet masse de l'hématome. En effet, le sang produit des lésions bien plus étendues que ce que l'on observerait par un simple effet masse (Wagner et al., 1996).

Parmi ces modèles, il est également intéressant de préciser que les protocoles d'administration lente de sang par comparaison avec les protocoles d'administration rapide, modélisent de manière plus fidèle ce qui est observé chez l'homme. De tels saignements proviennent de manière générale de petites artères intraparenchymales et ont lieu à un débit et une pression plus faibles que dans les cas de rupture d'anévrisme qui saignent dans l'espace sous-arachnoïdien à la pression artérielle (Wagner et al., 1996).

### 2.2 Présentation d'un modèle animal d'hémorragie cérébrale par injection de collagénase

Rosenberg et ses collègues ont développés en 1990 une nouvelle technique de modélisation d'une hémorragie intracérébrale. Une solution de collagénase bactérienne était administrée par stéréotaxie sur une période de 9 minutes au niveau du putamen caudal chez des rats (Rosenberg et al., 1990). La collagénase rompt la barrière hémato-méningée 20 minutes post-injection en attaquant la lame basale des capillaires cérébraux (Rosenberg and Navratil, 1994). Ainsi, une masse hémorragique de taille dose dépendante se forme dans les 4 heures qui suivent l'injection (Rosenberg et al., 1990).

### 2.3. Le modèle de Wasserman et Koeberle pour reproduire la DCPA

Le modèle de Wasserman et Koeberle s'inspirant du modèle de Rosenberg, est basé sur une lésion vasculaire de type hémorragique au niveau du noyau ventral postérolatéral du thalamus, une des région clef pour le développement de syndrome thalamique chez l'homme (Wasserman and Koeberle, 2009). Par stéréotaxie, un très petit volume de solution diluée (0,25 $\mu$ L) de collagénase est injecté au niveau du noyau ventral postérolatéral droit du thalamus. Une évaluation comportementale suite à l'induction de la lésion chez les rats révèle le développement d'une allodynie mécanique et d'une sensibilité thermique à la chaleur.

### **3. Limitations des modèles animaux**

Tout modèle animal de la DCPA présente des limitations du fait même des caractéristiques variables de cette condition entre différents individus (Henry, 2007). En effet, les modèles animaux de douleur neuropathique ont été développés pour conduire de manière reproductible au développement d'une hyperalgésie et d'une allodynie ce qui ne reflète pas la réalité de la réponse chez l'homme car tous les patients avec des lésions nerveuses même similaires, ne développeront pas forcément de douleur neuropathique (Bridges et al., 2001). Les animaux ne peuvent pas exprimer la douleur. Ainsi, ce que les chercheurs observent lors d'études utilisant des modèles animaux de douleur est la présence de comportements stéréotypés suite l'application d'un stimulus nociceptif. En effet, les comportements mesurés sont souvent des réflexes spinaux (réflexes de retrait à l'application d'un stimulus nociceptif), des réflexes bulbospinaux (saut ou étirement de l'abdomen) ou encore de simples réflexes innés (tels que la vocalisation, le grattage, le léchage) (Mogil, 2009). Les réflexes de retrait provoqués par un stimulus nociceptif ne représentent pas la douleur en tant que telle mais plutôt l'hyper-sensibilité qui accompagne souvent la douleur (hyperalgésie et allodynie). Or la prévalence de l'allodynie et de l'hyperalgésie chez les patients souffrant de douleur chronique (environ 64 et 38% respectivement chez les patients atteints de douleur neuropathique) est plus faible que la prévalence de la douleur continue ou spontanée et paroxysmale (non provoquée par un stimulus) qui est presque universelle mais difficile à objectiver et mesurer chez l'animal (Mogil, 2009). En effet, les rongeurs ne démontrent que très peu de comportements de douleur de par leur position de proie dans leur niche écologique. En effet, un rongeur démontrant de manière évidente des signes de lésion et de douleur deviendrait alors une cible plus facile pour ses prédateurs (Mogil, 2009).

Pour des raisons éthiques, les études sur des modèles animaux de douleur neuropathique ont une durée moyenne de quelques semaines à quelques mois alors que chez l'homme, la douleur neuropathique évolue souvent depuis des années (Bridges et al., 2001). De plus, la majorité des études sur la douleur utilise de jeunes rats mâles de race Sprague Dawley. Or épidémiologiquement les patients souffrant de douleur chronique sont le plus souvent des femmes d'âge moyen. Il existe également des différences ethniques et raciales dans la douleur clinique et expérimentale. Ainsi, les études sur la douleur utilisant des modèles animaux devraient idéalement inclure les 2 sexes et des souches différentes d'animaux (Mogil, 2009). La plupart des données comportementales sont obtenues lors d'une évaluation de courte durée (5-30 minutes) lors de leur phase de repos circadienne et lorsque les animaux sont placés dans un nouvel environnement d'observation. Une évaluation de plus longue durée, lorsque les animaux sont

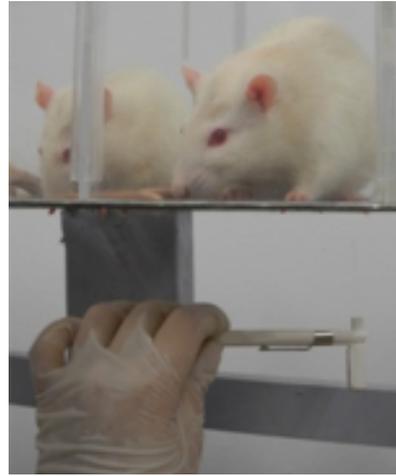
dans leur cage habituelle et en période d'activité (soit la nuit pour les rongeurs) pourrait offrir de meilleurs résultats (Mogil, 2009).

Finalement, pour les modèles de DCPA, le fait que l'hémorragie ne soit pas spontanée mais provoquée, le fait que la réalisation des traitements ne soit pas toujours à l'aveugle, sont d'autres limitations des modèles animaux par rapport à la réalité clinique chez les patients atteints d'hémorragie intracérébrale (MacLellan et al., 2012). Malgré ces limitations, l'apport immense de ces modèles sur notre connaissance du phénomène de DCPA, justifie leur utilisation. De plus, parmi les limitations présentées, de nombreuses peuvent être corrigées en modifiant légèrement le design expérimental, le choix des sujets étudiés et les tests comportementaux utilisés pour détecter la douleur.

#### **4. Quelques techniques d'évaluation de la douleur chez les rongeurs**

##### 4.1. Test de Von Frey pour évaluer la sensibilité tactile

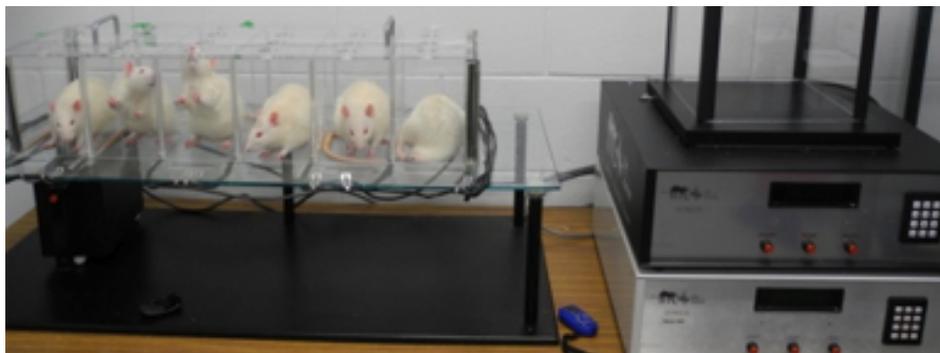
Le test de Von Frey permet d'évaluer l'allodynie mécanique (Chaplan et al., 1994). Pour cela on utilise des filaments de Von Frey en nylon. Des fibres de raideur croissante sont appliquées perpendiculairement au centre de la surface plantaire de la patte arrière, juste en arrière des coussinets. Elles y sont laissées durant 3 secondes. Un retrait volontaire de la patte au contact de la fibre est considéré comme une réponse. Lorsqu'aucune réponse n'est obtenue, la fibre de rigidité supérieure est alors appliquée. Lorsqu'au contraire, une réponse est obtenue, c'est la fibre de rigidité inférieure qui est alors appliquée. Le test continue jusqu'à ce que quatre fibres aient été appliquées après la première suscitant une réponse de retrait, ceci permettant une détermination d'un seuil de retrait suite à une stimulation mécanique (Chaplan et al., 1994). Une réduction significative dans le seuil de retrait de la patte par rapport à la valeur mesurée avant la chirurgie est considérée comme indicatrice d'une hypersensibilité tactile ou allodynie mécanique.



**Figure 10 :** *Appareillage du test de Von Frey. (Source internet F et laboratoire du Dr P.Vachon, Faculté de Médecine Vétérinaire, UdeM)*

#### 4.2. Méthode de Hargreaves pour l'évaluation de l'hyperalgésie thermique

Cette méthode évalue la latence de réponse à une stimulation thermique nociceptive (lumière ou laser) et donc évalue le développement d'une hyperalgésie thermique (Hargreaves et al., 1988). Le temps de latence entre le début de la stimulation (application d'une lumière produisant une température élevée nociceptive) et le retrait volontaire de la patte est mesuré. Une durée maximale de stimulation d'une vingtaine de secondes est respectée afin de prévenir d'éventuels dommages tissulaires. Afin de quantifier l'hyperalgésie thermique, l'intensité initiale du faisceau lumineux est ajustée de manière à obtenir un temps de réponse de base. L'hyperalgésie thermique se caractérise par une diminution marquée de la latence à retirer la patte stimulée.



**Figure 11 :** *Équipement pour le test de Hargreave (Source : Laboratoire du Dr P. Vachon, Faculté de Médecine Vétérinaire, UdeM)*

#### 4.3. Test de la goutte d'acétone pour évaluer l'hypersensibilité au froid

Ce test est particulièrement intéressant pour l'étude de la douleur centrale post AVC à l'aide d'un modèle animal. En effet, il semble que chez l'homme, un certain nombre d'individus présentent une hypersensibilité marquée au froid (Andersen et al., 1995). Ainsi, l'évaluation de la présence de sensibilité thermique au froid dans le modèle animal prend toute sa pertinence.

Le principe de ce test est de quantifier la sensibilité au froid représentée par un retrait brusque du membre en réponse à l'application d'une goutte d'acétone sur la patte de l'animal. Une goutte d'acétone formée à l'aide d'une seringue est appliquée de manière délicate sur la face plantaire de la patte de l'animal en s'assurant que le bout de la seringue ne touche pas la patte. Le nombre de mouvements de la patte et la durée de réaction de l'animal sont mesurés. En temps normal, l'animal ne doit pas réagir (ou très peu) à ce stimulus. Une augmentation du temps de réaction de l'animal et du nombre de mouvements de la patte sont évocatrices d'une hypersensibilité thermique au froid (ou allodynie au froid) (Choi et al., 1994).

#### 4.4. Le Rotarod permet d'évaluer la coordination motrice

Bien que souvent négligée, l'évaluation de l'activité locomotrice peut révéler des informations importantes sur le mécanisme d'action potentiel d'une drogue. De plus, l'activité motrice peut influencer les résultats des études sur des modèles animaux de lésions ou de pathologies du SNC. Par exemple, des substances psychoactives peuvent modifier la fonction motrice de même que des modèles de lésions cérébrales peuvent conduire à des altérations subtiles ou au contraire prononcées du comportement locomoteur (Curzon et al., 2009). Les comportements locomoteurs et exploratoires peuvent être influencés par différents autres facteurs tels que : le moment de la journée, l'anxiété de l'animal, son état d'éveil (des stimulants pouvant augmenter l'activité alors que des sédatifs et notamment des anticonvulsivants tels que la gabapentine ou des antidépresseurs tels que l'amitriptyline pourraient causer une diminution de cette activité), l'enrichissement de l'environnement, la motivation, l'âge, la souche génétique, l'état de santé général, la présence ou l'absence de douleur... Il est donc important de contrôler ces paramètres et de prendre en compte leur effet sur le modèle animal étudié (Curzon et al., 2009). Par conséquent, plusieurs méthodes ont été développées pour examiner ces déficits moteurs. Une procédure fréquemment utilisée est l'évaluation de la coordination motrice de l'animal sur un appareil appelé «rotarod». Ce test permet d'évaluer le maintien de l'équilibre et de la cadence de mouvements locomoteurs

sur une tige horizontale en rotation (Dunham and Miya, 1957). Le diamètre de cette tige est fixe et la vitesse de rotation augmente progressivement sur une période donnée jusqu'à ce que l'animal ne soit plus capable de maintenir sa position et chute.

Le protocole classique est le suivant. Le médicament testé est administré avant la procédure. Lorsque l'animal a subi une procédure chirurgicale, il est recommandé d'attendre un minimum de 24 heures avant de réaliser ce test. L'appareil est programmé pour accélérer sa vitesse de rotation sur une période donnée jusqu'à une vitesse maximale. L'animal est placé sur le rotarod et le chronomètre est lancé. La mesure est arrêtée lorsque l'animal tombe de la tige. En fait, alors que la vitesse augmente, l'animal doit marcher plus vite sur la tige pour rester dessus. La latence que l'animal met à tomber est mesurée et reflète la fonction motrice. Il est nécessaire de répéter la mesure plusieurs fois (Curzon et al., 2009). Une diminution de la durée pendant laquelle l'animal se maintient sur la tige en rotation est interprétée comme une altération de sa fonction motrice.



*Figure 12 : Le Rotarod (Source : Laboratoire du Dr P. Vachon, Faculté de Médecine Vétérinaire, UdeM)*

## **HYPOTHÈSES DE TRAVAIL**

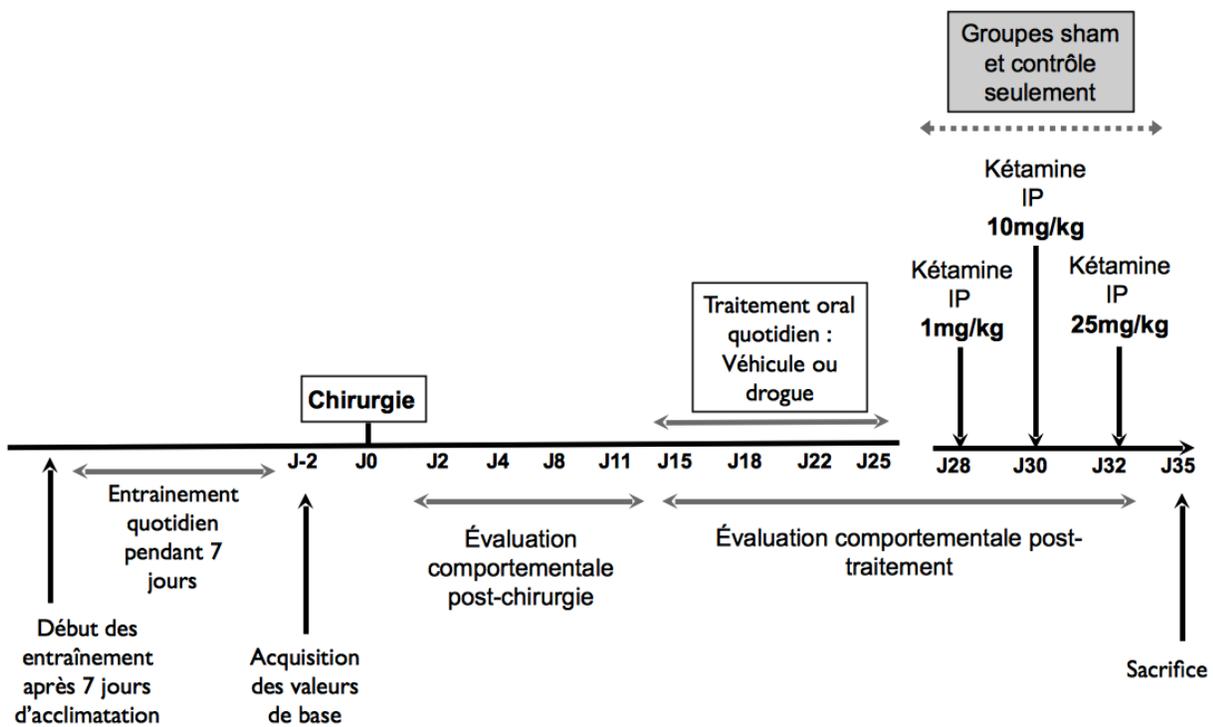
La douleur neuropathique centrale post-AVC peut être reproduite chez le rat par injection intrathalamique (noyaux ventropostérieurs) de collagénase (Wasserman and Koeberle, 2009). Selon les résultats

des études précédentes, on s'attend à ce que les animaux développent de l'allodynie mécanique ainsi que de l'hyperalgésie thermique au chaud évaluable à l'aide des tests de Von Frey et de Hargreaves, respectivement. Il est également possible qu'ils développent de l'allodynie au froid que nous évaluons grâce au test de la goutte d'acétone puisque chez l'homme, cette anomalie est souvent rapportée. Du fait de la petite taille de la lésion, ce modèle ne devrait en revanche pas provoquer d'altération de la motricité, ce qui devrait se vérifier à l'aide du Rotarod. De plus, si ce modèle est fiable, alors on s'attend à ce que la douleur persiste dans le temps, pour au moins un mois. C'est ce que nous souhaitons évaluer dans un premier temps.

La kétamine, l'amitriptyline, la gabapentine et la carbamazépine sont des médicaments ayant tous une certaine indication dans le traitement de la douleur de part leurs mécanismes respectifs. On suppose donc qu'ils puissent avoir une certaine efficacité sur la douleur neuropathique centrale induite par une hémorragie intracérébrale chez le rat. Cet effet bénéfique se traduirait par une diminution de l'allodynie et de l'hyperalgésie et ce sans effet secondaire majeur.

Le projet s'est déroulé en 3 parties :

- 1) Caractériser les changements comportementaux associés à une hémorragie intrathalamique à l'aide du Rotarod, et des tests de Von Frey, de Hargreaves et de sensibilité à l'acétone en évaluant les animaux sur une période de 30 jours environ.
- 2) Evaluer l'efficacité des différents médicaments pré-cités une fois la neuropathie établie soit 15 jours après la chirurgie.
- 3) Evaluer l'efficacité de la kétamine administrée IP à différentes doses sur ce type de douleur. Mesurer la concentration plasmatique à différents moments suite à l'administration de la kétamine.



*Figure 13. Chronologie de l'étude comportementale.*

# Bilateral central pain sensitization in rats following a unilateral thalamic lesion may be treated with high doses of ketamine

Aude Castel <sup>1</sup>, Pierre Hélie <sup>2</sup>, Francis Beaudry <sup>1</sup>, Pascal Vachon <sup>1</sup>

Faculty of Veterinary Medicine, Departments of Veterinary Biomedicine <sup>1</sup> and

<sup>2</sup> Pathology & Microbiology, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

## ABSTRACT

**Background:** Central post-stroke pain is a neuropathic pain condition caused by a vascular lesion, of either ischemic or hemorrhagic origin, in the central nervous system and more precisely involving the spinothalamocortical pathway responsible for the transmission of painful sensations. Few animal models have been developed to study this problem. The objectives of this study were to evaluate different modalities of pain in a central neuropathic pain rat model and to assess the effects of ketamine administered at different doses.

**Methods:** Male Sprague Dawley rats were trained and baseline values were obtained on the rotarod, Hargreaves, Von Frey and acetone tests. A stereotaxic injection of either collagenase solution (0.025 UI) (collagenase group, n=7 rats) or saline (sham group, n=8 rats) was performed within the right ventral posterolateral thalamic nucleus (VPL). Rats were regularly tested up to 22 days post-surgery. Then, they were re-tested by an experimenter blinded to the treatment protocol after IP injection of ketamine at 1, 10, and 25 mg/kg at 2 day intervals (days 28, 30 and 32). Analysis of serum concentration of ketamine was performed using HPLC-MS/MS technique following the ketamine trials.

**Results:** Histopathological observations showed a well localized lesion with neuronal necrosis and astrocytosis following the collagenase injection that was localized within the VPL. No significant change in motor coordination was observed following surgery in either the saline or collagenase groups. In the collagenase group, a significant decrease in mechanical allodynia threshold was observed. A sporadic and transient cold allodynia was also noted. No thermal hyperalgesia was seen following the collagenase injection. Ketamine was then tested as a potential therapeutic drug. A significant decrease in motor coordination was seen only following the administration of 25 mg/kg of ketamine in both groups. An alleviation of mechanical allodynia was achieved only with the high ketamine dose. The minimal effective ketamine serum concentration (150 ng/mL) was only achieved in animals that received 25 mg/kg.

**Conclusions:** An intrathalamic hemorrhage induced a bilateral mechanical allodynia in rats. Cold hyperalgesia was observed in 60% of these animals. Mechanical allodynia was alleviated with high doses of ketamine which corresponded with therapeutic plasmatic concentrations.

**Keywords:** Central pain, thalamus, hematoma, ketamine, allodynia, hyperalgesia.

## Background

Central post stroke pain (CPSP) can develop following a vascular lesion of cortical and subcortical structures [1]. CPSP was first associated with thalamic infarcts by two French neurologists [2] and they termed this condition « thalamic syndrome ». However, further investigations suggested that central pain could be induced by stroke in other structures all along the spinothalamic pathway [3]. Development of pain in stroke patients is of great concern since it deteriorates their quality of life making daily activities difficult, compromising rehabilitation efforts, altering mobility, concentration, mood [4,5] and eventually leading to depression [4,6]. Little is known about the treatment of this condition and therefore CPSP management represents a real medical challenge and requires further understanding of its mechanisms.

CPSP is characterized by spontaneous and evoked pain [7,8]. Allodynia and thermal hyperalgesia, can be typical clinical signs recognized in patients and they are induced by thermal (especially cold) and mechanical stimuli [7,9]. In recent population-based studies, CPSP incidence between 7.3 % and 10.5 % is reported amongst stroke patients [10,11]. Some studies suggest that the prevalence of CPSP depends on the location of the lesion and it appears to develop more commonly after medullar infarctions or thalamic lesions [12-14]. A higher incidence occurs following a hemorrhage in the posterolateral and dorsal thalamic nuclei (32% and 25% respectively) [12]. Additionally, it seems that right sided lesions predominate in CPSP patients at both cortical and thalamic levels [15]. Functional imaging studies have helped us to identify structures involved in CPSP [16-18] and ventroposterior (VP) thalamic nuclei play a key role in this condition [19,20].

Many mechanisms have been proposed to explain central neuropathic pain [21-23]. In central pain, nociceptive neuronal hyperactivity suggests a central sensitization mechanism possibly involving N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors [24,25]. Ketamine, a well-know NMDA receptor antagonist, has been used to treat various neuropathic pain disorders [26-29]. Furthermore, the use of ketamine to treat CPSP has been shown efficacious in CPSP patients [30, 31]. Therefore NMDA receptors could play an important role in CPSP.

The use of animal models can help us understand the mechanisms involved in CPSP and allow testing of new therapeutic approaches for this condition. Wasserman and Koeberle [32] were able to recreate central pain by injecting collagenase within the ventroposterolateral thalamus nucleus of rats creating an intracerebral hemorrhage. The objectives of the present study were to evaluate if central pain persists over a longer period of time, using Wasserman and Koeberle's model, and to evaluate in a preliminary study if ketamine could be used for the alleviation of pain in this model.

## **Results**

Following surgery, some rats (40-50%) in the collagenase group were reluctant to be manually held and vocalized during manipulations. These occurrences were never observed prior to the surgery, neither were they observed in our previous experiments using a peripheral neuropathy rat model.

### **Evaluation of the central pain model**

#### **Motor coordination evaluated with the rotarod test**

No significant difference between sham and collagenase groups was observed on the rotarod test ( $F_{1,13} = 0.18$ , ns). Results are shown in Figure 1.

#### **Heat hyperalgesia evaluated with Hargreave's test**

At baseline and during the first part of the experimentation, there was no significant difference between experimental groups for both hind limbs ( $F_{1,13} = 0.23$ , ns). Results are shown in Figure 2.

#### **Mechanical allodynia evaluated with Von Frey filaments**

Results are presented in Figure 3. Prior to surgery, there was no difference in mechanical sensitivity for both hind paws when comparing sham and collagenase groups. Following surgery, significant differences in mechanical thresholds occurred in the right ( $F_{1,24.5} = 130.4$ ,  $p < 0.0001$ ) and left ( $F_{1,28.1} = 207.8$ ,  $p < 0.0001$ ) hind paws in the collagenase group. In the sham group, no difference was seen between baseline values and post-surgical results.

#### **Evaluation of cold allodynia with the acetone test**

Animals in the sham group never had reactions to acetone that were different from baseline. These animals either didn't move or lifted their paw rapidly only once at the acetone application.. Conversely, an increase in the number and duration of movements in the collagenase group with acetone (graded 2) was seen with peak reaching up to 57 % of rats on days 8 and 18 post-surgery. Some of these animals would have marked reactions with either duration being around 10s, or number of movements being as high as 10 (Figure 4). Right and left hind limbs were affected in these animals. However, these results failed to show any statistical significance when compared to the sham group. The percentage of animal in the collagenase group that reacted to acetone slowly decreased and the reactions were comparable to baseline by the end of the study.

### **Evaluation of ketamine**

Rats from the sham and the collagenase groups received a single IP injection of ketamine (100 mg/mL) of 1, 10 and 25 mg/kg on respectively days 28, 30 and 32 post-surgery. Behavioral tests started

30 min after the injection of the ketamine solution and the experimenter was blinded to the treatment drug and concentrations. Injections of ketamine at 1 and 10 mg/kg did not affect the rotarod performance however with 25 mg/kg of ketamine, it was significantly impaired for animals in the sham ( $p < 0.03$ ) and collagenase ( $p < 0.05$ ) groups (Figure 1). The thermal sensitivity did not differ between sham and collagenase groups following the administration of ketamine at 1, 10 and 25 mg/kg (Figure 2). Values were comparable to baseline suggesting that even the high dose of ketamine did not affect reflex activity. Ketamine had an alleviating effect on mechanical allodynia (Figure 3). With 1 and 10 mg/kg, there was no effect on mechanical sensitivity in either hind paw however with 25 mg/kg of ketamine mechanical allodynia was reduced in the contralateral ( $p < 0.0001$ ) and ipsilateral ( $p < 0.01$ ) hind paws.

### **Plasmatic ketamine concentrations**

At the end of the study (day 35), 6 rats (3/dose) from the sham group were used to evaluate the plasmatic concentration of ketamine following an IP administration of 10 or 25 mg/kg. Following 10 mg/kg ketamine IP, mean plasmatic concentrations at 30 min, 1 and 2 h post administration were respectively  $78 \pm 23$ ,  $48 \pm 14$  and  $22 \pm 8$  ng/mL. Following 25 mg/kg ketamine IP mean plasmatic concentrations at 30 min, 1 and 2 h post administration were respectively  $142 \pm 47$ ,  $96 \pm 75$  and  $59 \pm 25$  ng/mL. Maximal concentrations following 25mg/kg seen at 30 min and 1 h post-ketamine administration range from 181 to 204 ng/mL.

### **Histopathological evaluation**

Microscopic evaluation of brain slices from the sham group showed no necrotic neuron and no astrocytosis in the VPL nucleus. In the collagenase group, small well circumscribed lesions were observed in the lateral thalamic nuclei (including the VPL) (Figure 5). On H&E sections, neuronal, and in some cases neuropil degeneration was observed and a large number of small nuclei was present in the lesioned areas, most probably reactive astrocytes. A marked decrease in the number of normal neurons is appreciated with the cresyl violet stain (Figure 6). Reactive astrocytes (filamentous structures) are clearly seen with GFAP immunohistochemistry at the site of the lesion (Figure 7). With GFAP immunohistochemistry, some mineralization (dark blue granular clumps) was observed in the vicinity of the lesion. The contralateral side of the corresponding thalamic lesioned area was uneventful.

## Discussion

In this study, we used a model of central pain in rats induced by an intrathalamic hemorrhage in the ventroposterolateral nucleus [32] to evaluate the development and maintenance of neuropathic pain and assess ketamine as a potential therapeutic drug. We observed a significant mechanical allodynia up to 30 days after the intracerebral lesion, and a transient cold allodynia in up to 60% of these animals. No heat hyperalgesia occurred in the lesioned animals. These results reflect clinical signs such as mechanical allodynia and cold hyperalgesia seen in human with post-stroke pain [7,9]. We also found that only the highest dose of ketamine administered (25 mg/kg IP) was able to alleviate the mechanical allodynia. However since animal were also affected on the rotarod, a decrease of motor control could be a confounding variable.

Mechanical and cold allodynia, have been described in patients with thalamic stroke [1,8,9,11,33]. In one particular study among CPSP patients, allodynia was relatively common with a higher incidence in patients with thalamic lesions [1]. Tactile hypoesthesia may also occur in the absence of tactile allodynia whereas normal tactile detection threshold can be associated with the presence of tactile allodynia [33]. In our experiment, a decrease in the mechanical allodynia threshold in both hind paws appeared following surgery and persisted over time. These results are concordant with those of Wasserman and Koeberle [32] who observed mechanical allodynia for 7 days following the collagenase injections. Mechanical allodynia has also been reported following kainate lesions in the VPL, however, animals were not tested beyond 48 h [34]. Wasserman and Koeberle [32] reported that mechanical allodynia was unilateral and contralateral to the side of the lesion which could be associated with some methodological differences as baseline evaluations were not performed and the mechanical sensitivity was evaluated for a short period.

Change in thermal sensitivity, either to cold and less often to hot temperatures, is commonly found in CPSP patients [8,33]. In our study we didn't observe a decrease in heat threshold following the intracerebral hemorrhage. La Buda et al [34] and Wasserman and Koeberle [32] noted a heat sensitization for 2 and up to 21 days, respectively. Wasserman and Koeberle [32] used the hot plate test which could give different results from our findings with Hargreave's test. We have no clear explanation for these difference results at the present time.

Abnormal sensitivity to cold has been described in CPSP patients [8,9,11,33]. The prevalence of cold allodynia varies between 18 and 66 % in CPSP patients with thalamic lesions [1,11,33]. Conversely, one study reports that CPSP patient suffered mainly from cold hypoesthesia [33]. Our results reflect findings in human patients as cold allodynia appeared as a sporadic sensory abnormality [1,11].

Bilateral sensitization to thermal and mechanical stimuli has been reported in rodent following unilateral electrolytic or demyelinating lesions in the spinothalamic tract and following a hematoma targeted at the basal ganglia, extending into thalamic nuclei [23,35]. In a mouse model of left middle cerebral artery ischemic stroke, hyperesthesia developed in both hind paws and mechanical allodynia was present only in the ipsilateral side of the lesion [36]. Lesion of lateral thalamic neurons or projection fibers to the intralaminar thalamic nuclei could explain our findings since disinhibition in these nuclei may occur with VPL lesions [37]. Nociceptive intralaminar thalamic neurons have very large often bilateral receptive fields and if sensitized could account for the bilateral signs observed in our study [38]. In rats, there are also bilateral projections to the thalamus from spinothalamic neurons which may explain bilateral signs [39,40]. In human, bilateral sensory abnormalities have been described in a few cases [41]. Bilateral hypoesthesia to cold and warm has been reported in CPSP patients [33]. Bilateral processing of pain hypersensitivity has been shown to occur in human and can be explained by changes involving the putamen, thalamus, insula, anterior cingulate cortex, and secondary somatosensory cortex, which may all participate in the bilateral spread of pathological pain resulting from unilateral injury [42-44]. All these proposals may explain bilateral pain following a unilateral lesion of spinothalamic structures however they are speculative and need to be addressed in future experiments.

The neuropathy onset following collagenase injection was rapid in our animal model. In humans, few patients develop central pain immediately after the stroke and it occurs in the majority of patients within 1 to 3 month of the stroke [8,9]. In only one retrospective analysis of 175 patients with thalamic hemorrhage, the delay to develop thalamic syndrome was between 3 and 15 days after the lesion [12]. We have no clear explanation for the difference between findings in the animals and clinical findings in human. One hypothesis would be that plasticity and neuronal reorganization are faster in rodent's nervous system than in humans. Although, we have not performed chronic evaluations (at least 3 months), persistence of mechanical allodynia was well established in our study which leads us to suspect that this model is suitable to study chronic central pain syndrome mechanisms.

In humans, ketamine can alleviate allodynia and hyperalgesia associated with chronic neuropathic pain state of either peripheral or central origins [26,30,31]. In a randomized, double blind crossover study with ketamine, continuous and evoked pain (notably mechanical allodynia) in patients suffering central dysesthesia following spinal cord injury, was markedly reduced [28]. Our study shows that relatively high doses of ketamine could reduce mechanical allodynia induced by an intrathalamic hematoma in the thalamus. There were no effects of ketamine for both the saline and collagenase

groups on the Hargreave's test, which suggest that the high dose did not affect reflex activity. With von Frey filaments, it is the sensitivity to the mechanical touch stimulus that is evaluated, the reaction time component of this task is not measured, and we would therefore suggest that ketamine does have an effect of mechanical allodynia.

Evaluation of plasmatic concentration following injection of the different doses in rats revealed that the minimal effective plasma concentration of ketamine (approx. 200 ng/mL) was achieved only in a few animals at 25 mg/kg IP, which is the same plasmatic therapeutic concentration needed for treatment of neuropathic pain in humans [45]. Eide et al [28] have shown that there was a highly significant correlation between the serum concentration of ketamine and the reduction of continuous pain following a single bolus administration of the drug. However, unique administration could be of short duration if a targeted plasmatic concentration is necessary to treat central pain. Other beneficial effects with chronic administrations could be associated with the modulation of synaptic plasticity over time. Unfortunately, high dose of ketamine impaired motor coordination which would be detrimental in CPSP patients. Reported side effects in human include among others dysphoria, sedation, light-headedness [26,30,33] as well as motor impairment, delirium, amnesia, anxiety, and panic attacks [27]. Long-term use of ketamine for the management of CPSP should be recommended only after weighing the pros and cons with the patients as well as considering first other therapeutic strategies.

Allodynia and hyperalgesia in CPSP patients may result from neuronal hyperexcitability which may be related to central sensitization [25,46]. Since ketamine appears to reduce mechanical allodynia following intrathalamic hemorrhage, NMDA receptors activation may be one of the mechanisms generating CPSP. Blockade of NMDA receptors reduces central pain by decreasing neuronal hyperexcitability [47] and therefore this drug is justified for the treatment of central neuropathic pain. In central pain, damage to neurons from excitatory amino acids (ex. glutamate) related to NMDA receptors overactivation could be a contributing factor to the pathology [46]. The evaluation of ketamine in this model was done at the end of our study and it was only performed as a preliminary study for future investigations.

## **Conclusions**

A unilateral intracerebral thalamic hemorrhage in rats following injection of a collagenase solution within the right VPL caused bilateral allodynia. A long lasting mechanical allodynia developed soon after the surgery. Some animals also developed a transient cold allodynia. Administration of ket-

amine, a NMDA receptor antagonist, decreased ipsilateral mechanical allodynia. These results suggest that NMDA receptors may be involved in the sensitization mechanism of central post-stroke pain.

## **Materials and Methods**

### **Animals**

Sixteen Sprague-Dawley rats (Charles River, St-Constant, QC, Canada) between 7 and 8 weeks of age (BW: 300-350 g) were purchased for this study. They were housed in a standard environment (fresh filtered air: 15 changes/h, temperature:  $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , humidity: 40-60% and light-dark cycle: 12h:12h). Prior to the surgery, rats were pair-housed in polycarbonate cages (Ancare, Bellmore, NY, USA) on hardwood bedding (Beta chip, North-Eastern Products Co., Warrenburg, NY, USA) and acclimated to their environment for 7 days prior to the initiation of the study. Following surgery, the animals were housed individually to avoid suture chewing. The animals were fed a rodent chow (Charles River Rodent Chow 5075, St-Constant, Qc) and received tap water, both ad libitum. The University of Montreal's Faculty of Veterinary Medicine Institutional Animal Care and Use Committee approved the experimental protocol prior to animal use in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

### **Surgical techniques**

The surgery was performed according to the model previously described by Rosenberg et al [48]. Rats were divided in two equal sized groups (sham and collagenase). Under general anesthesia, one group received the collagenase solution (collagenase group) and the other sterile saline (sham group) using a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA). Animals were anesthetized using vaporized isoflurane (5% induction, 3% maintenance) (Aerrane, Baxter, Mississauga, ON, Canada) in oxygen. Animals were placed on a regulated heating blanket and body temperature was monitored using a rectal probe (Thermalert TH-8, Physitemp, Clifton, NJ, USA) to keep temperature within normal limits ( $36-37^{\circ}\text{C}$ ). Pulse oximetry (CANL-425V, Med Associates, St-Alban, VT, USA) was monitored using a probe taped on the hind limb to assure proper blood oxygenation (95-99%). The skin hair was clipped and cleaned with an iodine solution. A sagittal skin incision from behind both eyes to the occipital bone was made and the periosteum was gently detached from the underlying bone to allow visualization of bregma. Using stereotaxic coordinates (anterior posterior 3.5 mm, and lateral to 3.5 mm, in reference to bregma on the right side only) [49], a burr hole (diameter 1.5 mm) in the bone was performed using a stereotaxic drill, then a 5 $\mu\text{L}$  Hamilton syringe containing 0.25  $\mu\text{L}$  of a

solution of 0.025 UI of collagenase (Type IV) (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) prepared in sterile saline was lowered 6 mm ventral to the dura matter. One animal died during surgery leaving 7 animals in the collagenase group. Control animals received an equal volume of sterile saline (0.9% NaCl) using the same methods. Injections were performed over 2 min then the needle was kept in place for an extra 5 min to allow good diffusion of the solution and prevent reflux along the needle track. The needle was then slowly withdrawn and the skin was closed using simple discontinuous Monocryl 4.0 sutures (Ethicon, Johnson & Johnson). The animals were singly caged to allow for a smooth recovery.

### **Behavioral study**

All animals were trained daily on all behavioral tests (rotarod, Hargreave, von Frey and acetone tests) for one week prior to the beginning of the study. Finally, mechanical allodynia was evaluated using Von Frey filaments. Baseline values were obtained 3 days prior to surgery. After surgery, animals were given one day to recover then were tested on days 2, 4, 8, 11, 15, 18, 22 post-surgery to evaluate if neuropathic pain was present and persisted over time. Tests were always performed in the morning to avoid circadian variations. Rats were acclimated for 15 min in the room prior to the beginning of testing.

### **Rotarod test**

To evaluate if the surgery and the treatment had any effect on motor coordination, animals were evaluated on the rotarod treadmill (Rotarod ENV-576, Med Associates Inc., St-Albans, VT, USA). The rotarod was set to the acceleration mode of 5 to 35 revolutions per min over 5 min. The maximum time the animal stayed on the rotarod (up to a maximum of 5 min), was recorded for each performance.

### **Von Frey mechanical sensitivity test**

All animals were evaluated with von Frey filaments (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) as described by Chaplan et al [50] to establish mechanical sensitivity. Rats were placed on a customized platform with mesh floor in Plexiglas chambers. Testing sessions began after 15 min habituation to the experimental setup. Testing was done by applying Von Frey filaments through the grid floor on the central region of the plantar surface of the rat's hind paws, avoiding the foot pads. The filaments were applied only when the rats were stationary on 4 paws. A trial consisted of applications of the different filaments ranging from 4 to 22 g, starting with the smallest filament. Pressure was applied until buckling occurred for approximately 3 seconds. Rats were tested in groups of 4 animals and to avoid the

effect of anticipation, a first paw was tested in all animals and then the opposite paw in the same fashion. The test began with either the right or the left hind paw alternatively. When no reaction was seen for a given filament, the next filament with higher rigidity was applied. If for a given filament, the animal withdrew its hind paw, the filament of lower rigidity was applied to evaluate the absence of withdrawal and then with the greater diameter filament to confirm the threshold. The force corresponding to the smallest filament causing a withdrawal reaction was recorded. The force corresponding to each filament was measured with the use of a weighing scale, at the beginning and at the end of the study to confirm force consistency.

### **Hargreave thermal sensitivity test**

Thermal sensitivity was evaluated using a Hargreaves apparatus (IITC Life Science, CA, USA) as previously described [51]. Each animal was placed in a Plexiglas chamber with the ground floor made of heated glass (27-31°C). Animals were allowed to acclimate to the experimental set up for 15 min prior to testing. Then radiant heat generated by a high intensity light bulb (40W) was directed to the plantar surface of the hind paw. The lamp generated noxious heat stimulus. The time the animal took to lift its paw from the floor was recorded and noted as the thermal threshold. Rats were tested in groups of 4 animals and to avoid the effect of anticipation, a first paw was tested in all animals and then the opposite paw in the same fashion. The test began with either the right or the left hind paw alternatively to prevent any anticipatory behavior. A cut off time of the radiant stimulation was set at 20 sec to minimize tissue injury.

### **Acetone test**

This test was performed according to the method previously described by Choi et al. [52] With the animals standing on a mesh floor, acetone (25  $\mu$ L) was applied to the plantar surface of the hind paw with a syringe without touching the paw. The number of movement of the paw and duration of the behavior were recorded for 30 s following the acetone application. Both hind paws were tested alternatively. Responses to acetone were graded on the following scale: 0 = no reaction, 1 = mild reaction characterized by quick withdrawal (less than 3 movements) or short duration of lifting paw (less than 3 seconds), 2 = longer withdrawal or repeated movements ( $\geq 3$  movements or  $\geq 3$  seconds). Animals considered truly reactive to acetone to determine the percentages of reactive animals are the ones graded 2. Data are presented in figure 4 as the percentage of animal in each group that reacted to acetone.

### **Treatment with ketamine**

At the end of the behavioral study, animals were tested following the administration of ketamine. This short term evaluation was performed as a preliminary study, planned uniquely to be indicative of the potential therapeutic value of ketamine. Importantly, the operator was blinded to the treatments (type of drug and dose given) administered to the animals. The rats from the sham and the collagenase groups received IP injection of ketamine (100 mg/mL; Vetalar Bioniche Animal Health, Belleville, ON) at 1, 10 and 25 mg/kg on days 28, 30 and 32 post-surgery respectively. Behavioral tests started 30 min after the injection of the ketamine solution.

### **Histological methods**

Under deep isoflurane anesthesia, the abdominal cavity was opened and the abdominal aorta was clamped. Rats were perfused with an intracardiac infusion of first a physiological dextrose-sucrose solution (100 mL/rat; solution composition (1L) : 8 g NaCl, 4 g dextrose, 8 g sucrose, 0,23 g calcium chloride), followed by a 10% buffered formalin solution (100 mL/rat). The brains were removed and fixed in formalin for a minimum of 48 h prior to being embedded in paraffin. Transverse sections (4  $\mu$ m thick) from the thalamus were made using a microtome. The sections were stained with hematoxylin and eosin and cresyl violet using standard methods. Immunohistochemistry for glial fibrillary acidic protein (GFAP) was performed prior to microscopic evaluation. Polyclonal antibodies were obtained from BioGenex Laboratories (San Ramon, CA). The immunoglobulin fraction was composed of rabbit antisera diluted in PBS (pH 7.6) in 1% bovine serum albumin. Antibodies were stained with a commercially available immunoperoxidase procedure (Vectastain ABC kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA). In addition, positive and negative controls for all brain slices were provided for proper identification of reactive astrocytes. Sections were reviewed by a board certified pathologist (Dr Pierre Hélie DVM, DACVP, Department of Veterinary Pathology, University of Montreal).

### **Bioanalytical methods**

At the end of the study (day 35), 6 rats (3/dose) were used to measure plasmatic concentrations of ketamine following an IP administration of 10 or 25 mg/kg. Under isoflurane anesthesia for a short period of time (less than 2 min), jugular blood samples (0.5 mL) were collected in sodium heparin tubes at 30 min, 1 and 2 h post injection. Blood samples were maintained on ice and centrifuged (3200 g for 10 min) within 30 min of collection. They were then stored at -80°C pending analysis by tandem liquid chromatography-mass spectrometry.

The analysis of ketamine was performed using a high performance liquid chromatography tandem mass spectrometer (HPLC-MS/MS). Briefly, the HPLC system consisted of a Perkin Elmer Series 200 (Boston, MA, USA) and a SCIEX API 2000 QTRAP hybrid MS system (AB Sciex, Concord, ON, Canada). Data acquisition and analysis were performed using analyst 1.5 (Concord, ON, Canada) and PRISM version 5.0 d) GraphPad software (La Jolla, CA, USA). Calibration curves were calculated from the equation  $y = ax + b$ , as determined by weighted ( $1/x$ ) linear regression of the calibration line constructed from the peak-area ratios of the drug and the internal standard. Ketamine was extracted from rat plasma using a protein precipitation method. Fifty  $\mu\text{L}$  of each sample was mixed with 250  $\mu\text{L}$  of internal standard solution (100 ng/mL of dextromethorphan in 50:50 acetone : methanol) in a 1.5 mL centrifuge tube. Samples were centrifuged at 12 000 g for 10 min and 200  $\mu\text{L}$  of the supernatant was transferred into a 400  $\mu\text{L}$  injection vial. The chromatographic separation was performed using an isocratic mobile phase with a Thermo Hypersil Phenyl 100 x 2 mm (5 $\mu\text{m}$ ) column. The mobile phase consisted of acetonitrile, methanol and 0.5% formic acid in water at a ratio of 60:20:20, respectively. The flow rate was fixed at 0.3 mL/min. Two  $\mu\text{L}$  of the extracted sample was injected and the total run time was set to 3 min. The mass spectrometer was interfaced with the HPLC system using a pneumatic assisted electrospray ion source. The Nitrogen gas 1 was set to 25 PSI, the Nitrogen gas 2 was set to 40 PSI and the electrospray electrode was set to 4000V. The declustering (DP) potential was set to 15V and the collision energy (CE) was set to 30V. The selected reaction monitoring (SRM) transitions were set to  $m/z$  238  $\rightarrow$  163 and 272  $\rightarrow$  215 for ketamine and dextromethorphan (internal standard) respectively. The dwell time was set to 150 msec and the pause time at 5 msec. For the bioanalytical method performance, a linear regression (weighted  $1/\text{concentration}$ ) was judged to produce the best fit for the concentration-detector relationship. The analytical ranges used were from 10 to 2 500 ng/mL. Observed coefficients of determination ( $R^2$ ) were  $\geq 0.9913$ . The precision obtained ranged from 10.1% - 13.8% for and the accuracy observed was 97.0% - 104.3%. The limit of quantification was set at 10 ng/mL, according to the bioanalytical validation guideline published by the FDA, acceptable precision and accuracy results were achieved.

### **Statistical analyses**

The statistical analyses of behavioral data were conducted using a 2-way ANOVA with repeated measures and post hoc Tuckey tests performed with SAS (version 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA). For evaluation of cold allodynia, Cochran-Mantel-Haenszel test for ordinal data was used. For the ketamine behavioral results t-test were used to compare shams to controls. Results are presented as

means and standard errors of the mean. Analyses revealing p values < 0.05 were considered statistically significant.

### **Acknowledgments**

This study was supported by the Fond de Développement pour la Médecine des Animaux de Laboratoire. We want to acknowledge Guy Beauchamp for statistical analyses as well as Marie-Thérèse Parent and Danielle Veilleux for cresyl violet stainings.

### **Abbreviations**

CPSP, central post stroke pain ; VPL, ventral posterolateral nucleus ; IP, intra-peritoneal ; HPLC-MS, high performance liquid chromatography tandem mass spectrometer, NMDA, N-methyl-D-aspartate.

### **Author's contributions**

AC: animal experimentation, analysis and interpretation of the data, writing of manuscript. PH: histopathology, manuscript review. FB: analysis of ketamine by LC-MS/MS, manuscript review. PV: obtained funding, study design, supervised the experimentation, interpretation of the data, manuscript writing. All authors read the final version of the submitted manuscript.

### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interest.

### **References**

1. Boivie J, Leijon G, Johansson I: **Central post-stroke pain - a study of the mechanisms through analysis of the sensory abnormalities.** Pain 1989, **37**:173–185.
2. Dejerine J, Roussy G: **Le syndrome thalamique.** Revue Neurol 1906, **14**:521–532.

3. Panju A: **Brief historical aspects of central poststroke pain and a case history of a patient suffering from this condition.** In Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain. Edited by Henry JL, Panju A, Yashpal K. Seattle: IASP Press; 2007:7–12.
4. Appelros P: **Prevalence and predictors of pain and fatigue after stroke: a population-based study.** Int J Rehab Res 2006, **29**:329–333.
5. Widar M, Ahlstrom G: **Disability after a stroke and the influence of long-term pain on everyday life.** Scand J Caring Sci 2002, **16**:302–310.
6. Gonzales GR: **Central pain: diagnosis and treatment strategies.** Neurology 1995, **45**:11–16.
7. Bowsher D: **Central pain: clinical and physiological characteristics.** J Neurol Neurosurg Psychiatry 1996, **61**:62–69.
8. Leijon G, Boivie J, Johansson I: **Central post-stroke pain – neurological symptoms and pain characteristics.** Pain 1989, **36**:13–25.
9. Andersen G, Vestergaard K, Ingeman-Nielsen M, Jensen TS: **Incidence of central post-stroke pain.** Pain 1995, **61**:187–193.
10. Hansen AP, Marcussen NS, Klit H, Andersen, Finnerup NB, Jensen TS: **Pain following stroke: A prospective study.** European J Pain 2012, **16**:1128–1136.
11. Klit H, Finnerup NB, Andersen G, Jensen TS: *Central Poststroke Pain: A population based study.* Pain 2011, **152**:818–824
12. Chung CS, Caplan LR, Han W, Pessin MS, Lee KW, Kim JM: **Thalamic haemorrhage.** Brain 1996, **119**:1873–1886.

13. Fitzek S, Baumgartner U, Fitzek C, Magerl W, Urban P, Thomke F, Marx J, Treede RD, Stoeter P, Hopf HC: **Mechanisms and predictors of chronic facial pain in lateral medullary infarction.** *Ann Neurol* 2001, **49**: 493–500.
14. MacGowan DJ, Janal MN, Clark WC, Wharton RN, Lazar RM, Sacco RL: **Central poststroke pain and Wallenberg's lateral medullary infarction: frequency, character, and determinants in 63 patients.** *Neurology* 1997, **49**:120–125.
15. Canavero S, Bonicalzi V: **Central pain of brain origin: epidemiology and clinical features. In Central pain syndrome: pathophysiology, diagnosis and management.** Edited by Canavero S, Bonicalzi. Cambridge: Cambridge University Press; 2007: 9–99.
16. Casey KL: **Pathophysiology of Central Poststroke Pain: The Contribution of Functional Imaging and a Hypothesis.** In *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain.* Edited by Henry JL, Panju A, Yashpal K. Seattle: IASP Press; 2007:115–131
17. Peyron R, Garcia-Larrea L, Gregoire MC, Convers P, Lavenne F, Veyre L, Froment JC, Mauguière F, Michel D, Laurent B: **Allodynia after lateral-medullary (Wallenberg) infarct: A PET study.** *Brain* 1998, **121**:345–356.
18. Seghier ML, Lazeyras F, Vuilleumier P, Schnider A, Carota A: **Functional magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging in a case of central poststroke pain.** *J Pain* 2005, **6**:208–212.
19. Bowsher D, Leijon G, Thuomas KA: **Central poststroke pain: Correlation of MRI with clinical pain characteristics and sensory abnormalities.** *Neurology* 1998, **51**:1352–1358.
20. Krause T, Brunecker P, Pittl S, Taskin B, Laubisch D, Winter B, Lentza ME, Malzahn U, Villringer K, Villringer A, Jungehulsing GJ: **Thalamic sensory strokes with and without pain: differences in lesion patterns in the ventral posterior thalamus.** *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012, **83**:776–784.

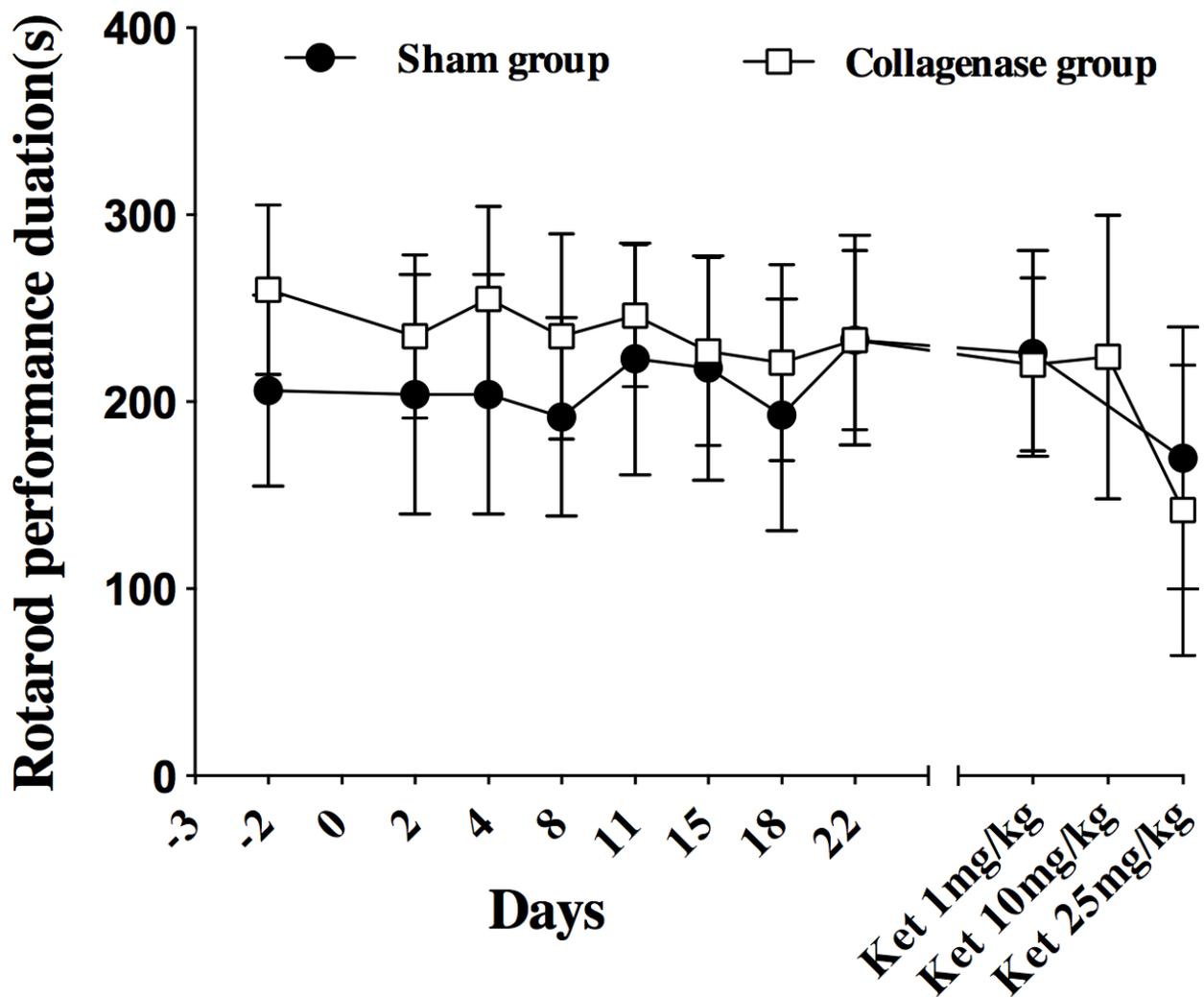
21. Craig AD: Mechanism of thalamic pain. In: James L. Henry, Akbar Panju, and Kiran Yashpal. **Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain**. Seattle: IASP Press; 2007, p. 81–99.
22. Rinaldi PC, Young RF, Albe-Fessard D, Chodakiewitz J: **Spontaneous neuronal hyperactivity in the medial and intralaminar thalamic nuclei of patients with deafferentation pain**. *J Neurosurg* 1991, **74**:415–421.
23. Wang G, Thompson SM: **Maladaptive homeostatic plasticity in a rodent model of central pain syndrome: thalamic hyperexcitability after spinothalamic tract lesions**. *J Neurosci* 2008, **28**:11959-11969.
24. Bennett GJ: **Update on the Neurophysiology of Pain Transmission and Modulation : Focus on the NMDA-Receptor**. *J Pain Symptom Manage* 2000, **19**:2–6.
25. Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ: **Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms?** *Trends Neurosci* 2003, **26**:696–705.
26. Backonja M, Arndt G, Gombar KA, Check B, Zimmermann M: **Response of chronic neuropathic pain syndromes to ketamine: a preliminary study**. *Pain* 1994, **56**:51–57.
27. Bell RF: **Ketamine for chronic non-cancer pain**. *Pain* 2009, **41**:210–214.
28. Eide PK, Stubhaug A, Stenehjem AE: **Central dysesthesia pain after traumatic spinal cord injury is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation**. *Neurosurgery* 1995, **37**:1080–1087.
29. Felsby S, Nielsen J, Arendt-Nielsen L, Jensen TS: **NMDA receptor blockade in chronic neuropathic pain: a comparison of ketamine and magnesium chloride**. *Pain* 1995, **64**:283–291.
30. Vick PG, Lamer TJ: **Treatment of central post-stroke pain with oral ketamine**. *Pain* 2001, **92**:311–313.

31. Yamamoto T, Katayama Y, Hirayama T, Tsubokawa T: **Pharmacological classification of central post-stroke pain: comparison with the results of chronic motor cortex stimulation.** Pain 1997, **72**:5-12.
32. Wasserman K, Koeberle PD: **Development and characterization of a hemorrhagic rat model of central poststroke pain.** Neuroscience 2009, **161**:173-183.
33. Greenspan JD, Ohara S, Sarlani E, Lenz FA: **Allodynia in patients with post-stroke central pain (CPSP) studied by statistical quantitative sensory testing within individuals.** Pain 2004, **109**:357-366.
34. LaBuda CJ, Cutler TD, Dougherty PM, Fuchs PN: **Mechanical and thermal hypersensitivity develops following kainate lesion of the ventral posterior lateral thalamus in rats.** Neurosci Lett 2000, **290**:79-83.
35. Roy G, Orlando H, Lema PP, Vachon P: **Central pain following a collagenase-induced hematoma in the basal ganglia and thalamus can be reversed with gabapentin.** Scand J Lab Anim Sci 2011, **38**:157-165.
36. Takami K, Fujita-Hamabe W, Harada S, Tokuyama S: **A $\beta$  and A $\delta$  but not C-fibres are involved in stroke related pain and allodynia: an experimental study in mice.** J Pharm Pharmacol 2011, **63**:452-456
37. Craig AD: **A new version of the thalamic disinhibition hypothesis of central pain.** Pain Forum 1998, **7**:1-14.
38. Willis WD: **Spinothalamocortical Processing of Pain.** In The Pain System in Normal and Pathological States : A primer for Clinicians, Progress in Pain Research and Management. Edited by Villanueva L, Dickenson A, Ollat H. Seattle: IASP Press; 2004:155-174.
39. Kevetter AG, Willis W: **Collaterals of spinothalamic cells in rats.** J Comp Neurol 1983, **215**:453-464.

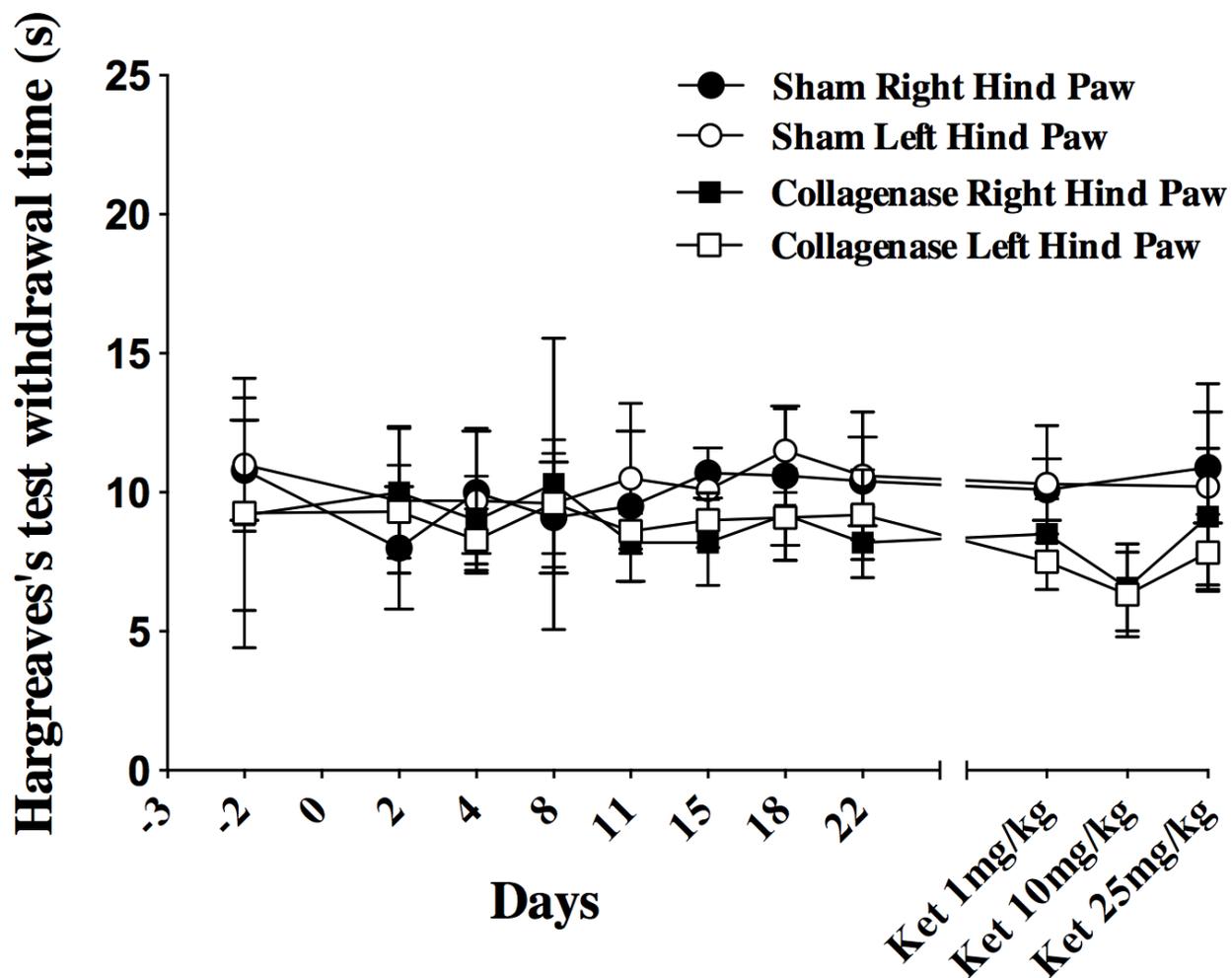
40. Cliffer KD, Burnstein R, Giesler G: **Distribution of spinothalamic, spinohypothalamic, and spinotelencephalic fibers revealed by anterograde transport of PHA-L in rats.** J Neurosci 1991, **11**: 852-868.
41. Kim S: **Delayed-onset ipsilateral sensory symptoms in patients with central post-stroke pain.** Eur Neurol 1998, **40**:201–206.
42. Coghill RC, Sang CN, Maisog JM, Iadarola MJ: **Pain intensity processing within the human brain: A Bilateral, Distributed Mechanism.** J Neurophysiol 1999, **82**:1934–1943.
43. Davis KD, Kwan CL, Crawley AP, Mikulis DJ: **Functional MRI study of thalamic and cortical activations evoked by cutaneous heat, cold, and tactile stimuli.** J Neurophysiol 1998, **80**:1533–1546.
44. Hsieh JC, Belfrage M, Stone-Elander S, Hansson P, Ingvar M: **Central representation of chronic ongoing neuropathic pain studied by positron emission tomography.** Pain 1995, **63**:225–236.
45. Wallace MS, Ridgway III B, Leung A, Schulteis G, Yaksh TL: **Concentration-effect relationships for intravenous alfentanil and ketamine infusions in human volunteers: effects on acute thresholds and capsaicin-evoked hyperpathia.** J Clin Pharmacol 2002, **42**:70–80.
46. Kumar G, Soni CR: **Central post-stroke pain: Current evidence.** J Neurol Sci 2009, **284**:10–17.
47. Mao J, Price DD, Hayes RL, Lu J, Mayer DJ, Frenk H: **Intrathecal treatment with dextrorphan or ketamine potently reduces pain-related behaviors in a rat model of peripheral mononeuropathy.** Brain Res 1993, **605**:164–168
48. Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M: **Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats.** Stroke 1990, **21**:801–807

49. Paxinos G, Watson C: **The rat brain in stereotaxic coordinates**. San Diego: Academic Press; 1998.
50. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: **Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw**. J Neurosci Methods 1994, **53**:55–63.
51. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J: **A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia**. Pain 1988, **32**:77–88.
52. Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, Chung JM: **Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain**. Pain 1994, **59**: 369-376.

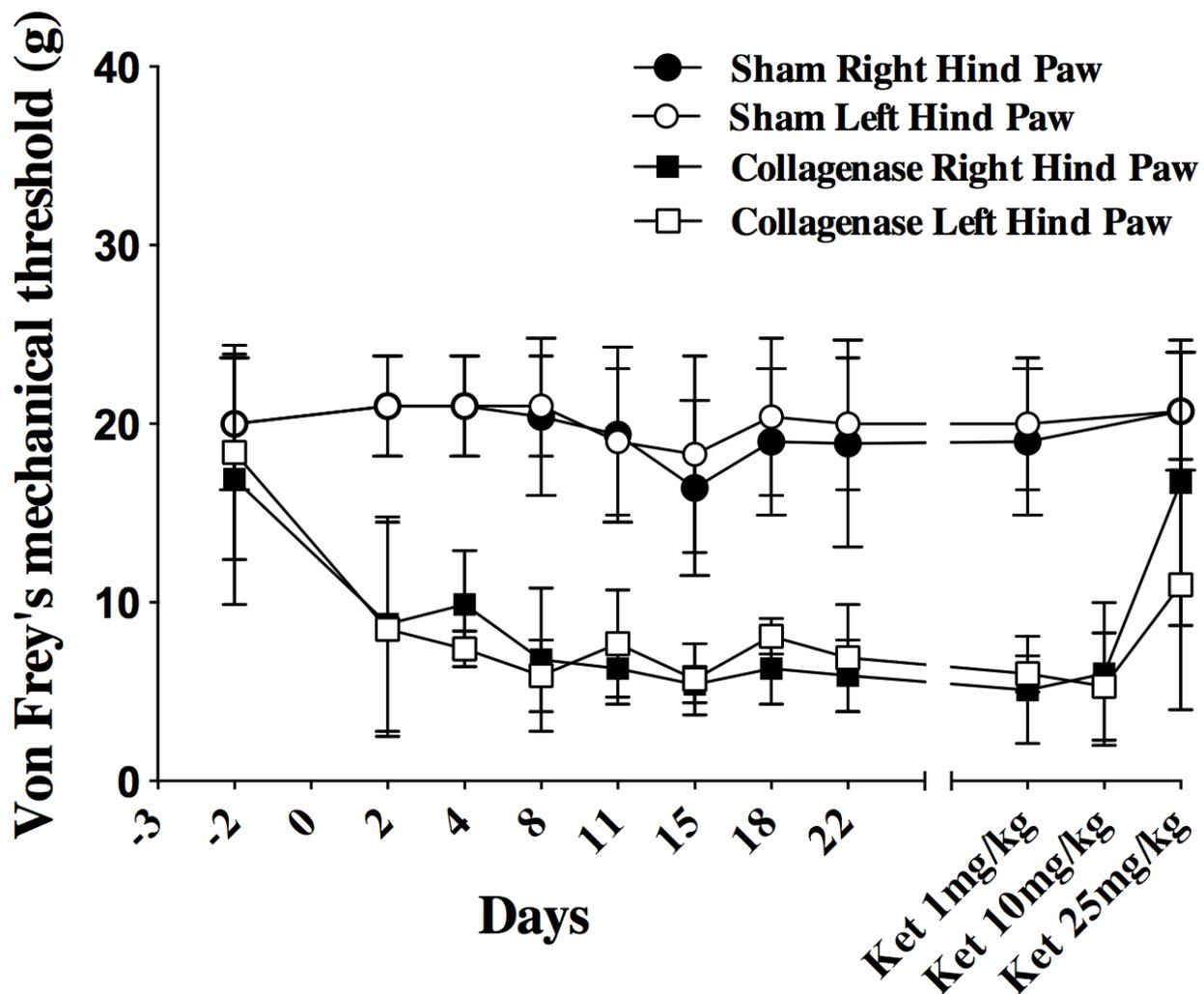
## Figures



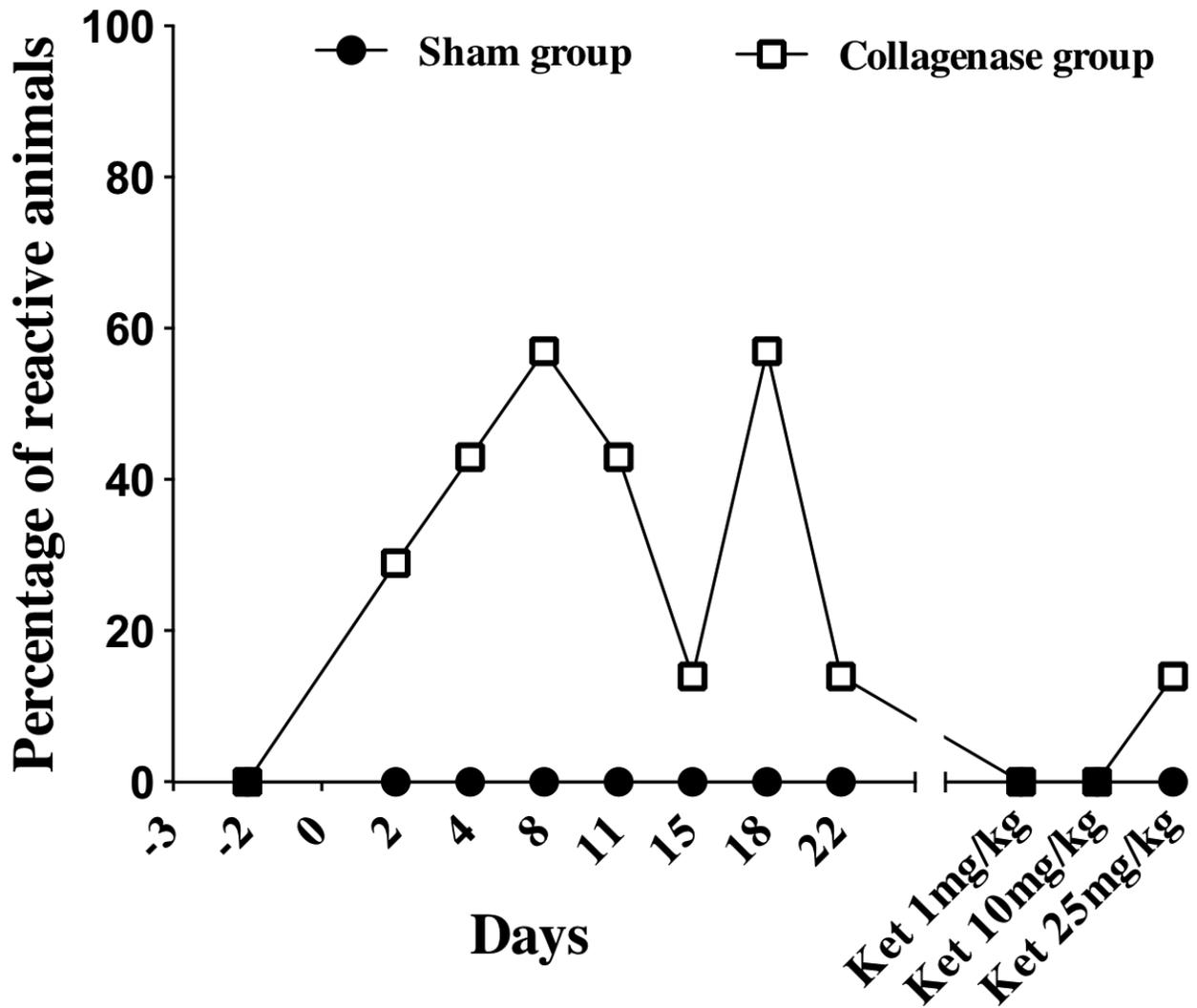
**Figure 1.** Motor coordination evaluated with the rotarod test in Sprague-Dawley rats. Animals received stereotaxically either saline (n=8) or a collagenase solution (n=7) in the ventroposterolateral nucleus of the thalamus. No significant difference was seen between sham and collagenase groups at baseline and at different post surgical time points ( $F_{1,13} = 0.18$ , ns). Only the IP administration of 25 mg/kg of ketamine caused a significant impairment ( $p < 0.05$ ) in motor coordination seen in both groups.



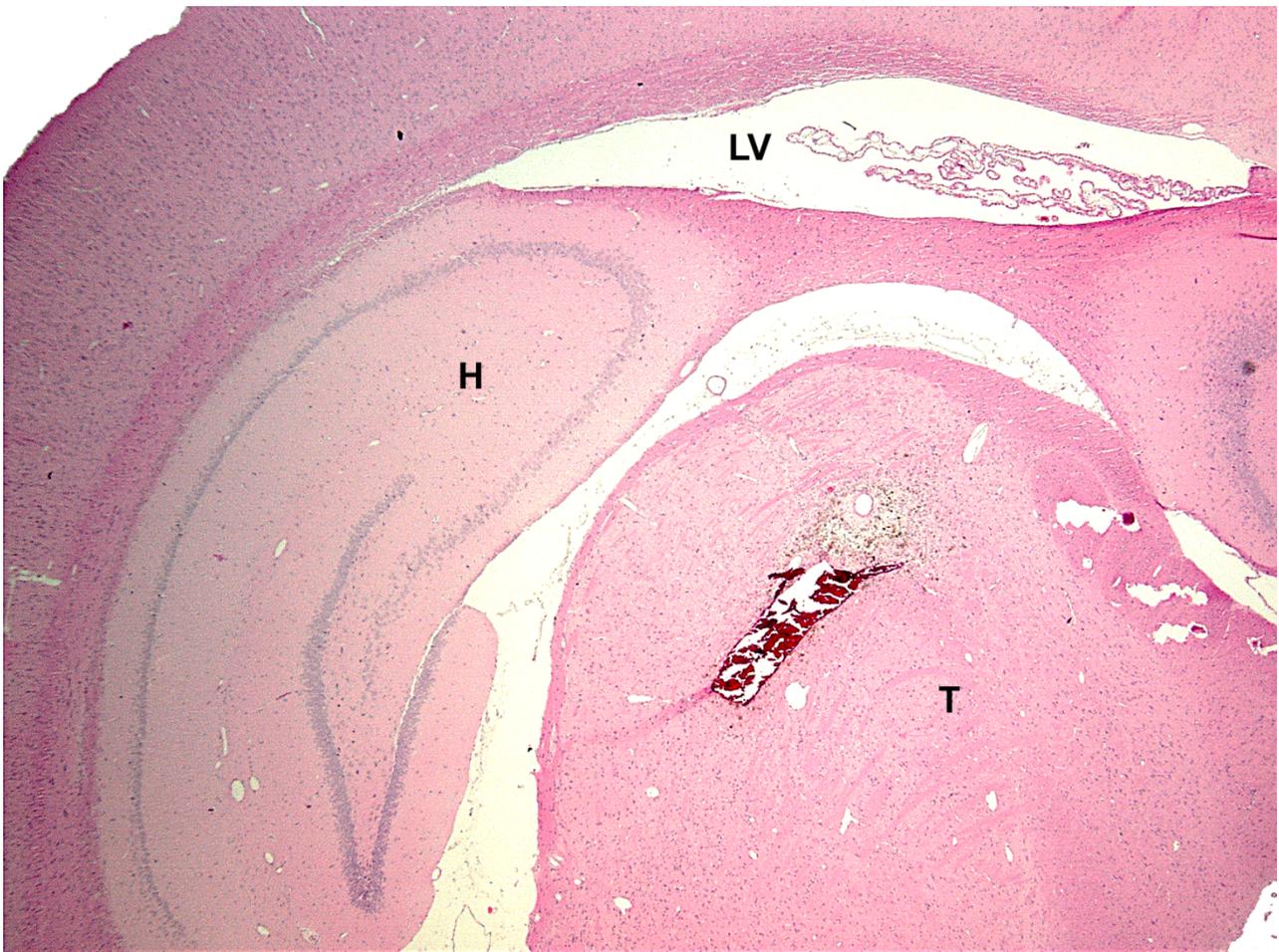
**Figure 2.** Heat sensitivity evaluated with Hargreave’s test in Spraque-Dawley rats. Animals received stereotaxically either saline (n=8) or a collagenase solution (n=7) in the ventroposterolateral nucleus of the thalamus. No significant difference in the baseline values between both groups was seen ( $F_{1,13} = 0.23$ , ns). In the sham group, no significant difference in the thermal threshold in both hind limbs was present during all the baseline evaluation of the model. The thermal threshold in both hind limbs remained significantly lower ( $p < 0.05$ ) following administration of ketamine at 1 and 10 mg/kg IP when compared to baseline. However, the high ketamine dose (25 mg/kg IP) alleviated thermal hyperalgesia for the controlateral and ipsilateral paws ( $p < 0.02$ ).



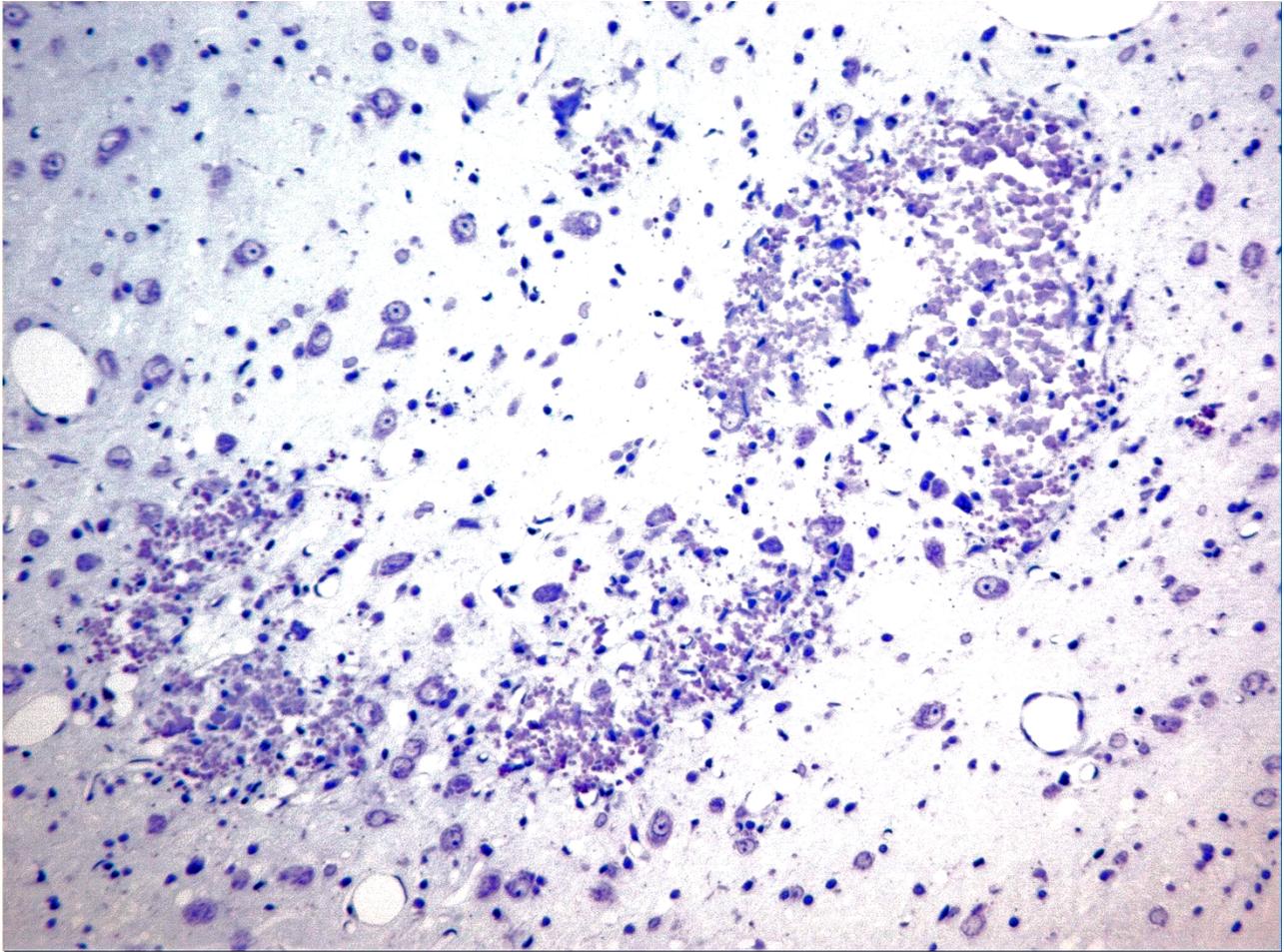
**Figure 3.** Evaluation of mechanical allodynia using Von Frey filaments. No significant difference was seen for both hind limbs at baseline values between both saline and collagenase groups. As early as the second post-surgical day, a significant decrease in the mechanical threshold in both hind limbs was noted for the collagenase group when compared to sham animals in the right ( $F_{1,24.5} = 130.4$ ,  $p < 0.0001$ ) and left ( $F_{1,28.1} = 207.8$ ,  $p < 0.0001$ ) hind paws. Only the 25 mg/kg of ketamine dose reduced mechanical sensitivity in the ipsilateral hind paw only ( $p < 0.02$ ).



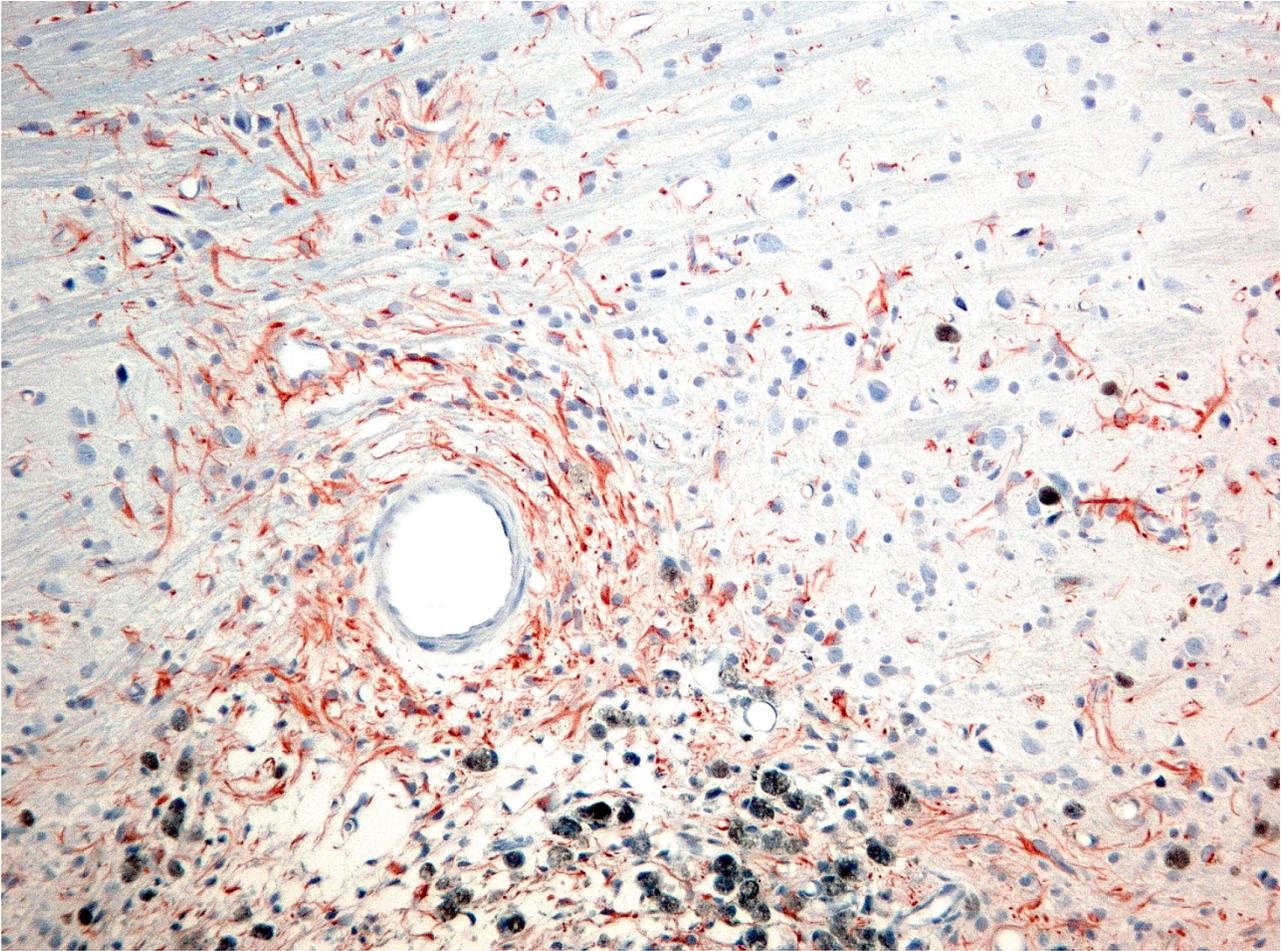
**Figure 4.** Percentage of Sprague Dawley rats reacting to acetone to determine cold allodynia. No significant difference was seen when comparing results either prior or after surgery for either sham or collagenase groups. However some animals with the collagenase lesion clearly appear to be more sensitive to cold.



**Figure 5.** Localization and size of the collagenase lesion. Photomicrograph of a transverse rat brain section (4 $\mu$ m) showing a well circumscribed lesion injection in VPL nucleus of the thalamus following a collagenase solution (H&E stain, x12.5). H : hippocampus, LV : lateral ventricle, T : thalamus.



**Figure 6.** Photomicrograph of the collagenase lesion in VPL nucleus of the thalamus stained with cresyl violet. A marked decrease in the number of normal neurons (black arrowheads) is appreciated as well as area of neuronal degeneration (black arrows) in the area of the VPL. (x100)



**Figure 7.** Photomicrograph of the collagenase lesion after GFAP immunohistochemistry in a brain section following a collagenase solution injection in VPL nucleus of the thalamus. Presence of astroglytosis (filamentous structures) is visible in the lesioned area. Mineralization (dark blue granular deposits) can be observed surrounding the lesion (lower part of the photomicrograph). (x60)

## ARTICLE 2

# Gabapentin reverses bilateral pain sensitization in a rodent model of central pain induced by an intrathalamic hemorrhage

Aude Castel, Pascal Vachon

Faculty of Veterinary Medicine, Departments of Veterinary Biomedicine, University of Montreal,  
Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada

## ABSTRACT

**Background:** Central neuropathic pain treatment remains amongst the biggest challenges for pain specialists. The main objective of this study was to assess gabapentin, amitriptyline and carbamazepine for the treatment of a central neuropathic pain using a rat model. Male Sprague Dawley rats were trained on the rotarod, Hargreaves and Von Frey behavioral tests and baseline values were obtained prior to surgery. A stereotaxic injection of either a collagenase solution (0.025UI) or saline was made in the right ventral posterolateral thalamic nucleus. Rats were tested on days 2, 4, 8, 11 post-surgery. They were re-tested at regular intervals from day 15 to day 25 post surgery after oral administration of either the vehicle (n=7 and 8 rats with intracerebral injections of collagenase and saline respectively) or the different drugs (gabapentin (60 mg/kg), amitriptyline (10 mg/kg), carbamazepine (100 mg/kg); n=8 rats/drug).

**Results:** No significant change in motor coordination was observed following surgery in either treatment groups. A significant decrease in mechanical thresholds was observed in both hind limbs in the collagenase group. Transient cold allodynia was observed in some subjects but failed to be statistically significant. Reversal of mechanical hypersensitivity was achieved only with gabapentin ( $p < 0.05$ ). Amitriptyline and carbamazepine failed to show any effect on mechanical thresholds.

**Conclusion:** Intrathalamic hemorrhaging in the ventrolateral thalamic nucleus induced a bilateral mechanical allodynia reversed by gabapentin but not amitriptyline or carbamazepine.

**Keywords:** Central pain, thalamus, gabapentin, amitriptyline, carbamazepine

## Background

Anticonvulsants and antidepressants are commonly used for the treatment of chronic neuropathic pain [1]. Among various types of chronic neuropathic pain, central poststroke pain (CPSP) is a condition caused by a vascular lesion in the central nervous system involving the spinothalamocortical pathway responsible for transmission of thermal and pain sensation [2]. According to population-based studies, the incidence of CPSP varies around 10% but may be higher following thalamic lesions particularly if right sided [3-6]. The ventroposterior nuclei of the thalamus are reported to play a key role in central pain [7, 8].

CPSP is characterized by sensory deficits such as allodynia to thermal or mechanical stimuli, dysesthesia and hyperalgesia [5, 9]. Pain can be spontaneous or evoked by stimuli such as thermal stimuli (especially cold), mechanical stimuli such as touch or movement, or even by stress [10, 11]. Development of pain in stroke patients is of great concern since it deteriorates their quality of life by interfering with daily activities, mood, walking ability, normal work, social interaction, sleep and enjoyment of life, eventually leading to depression [12, 13]. Therefore, diagnosis and management of CPSP represents a major concern and a real medical challenge.

In term of treatment recommendations, the use of tricyclic antidepressants such as amitriptyline, and anticonvulsants such as carbamazepine or gabapentin, are often the first steps of the therapeutic plan to treat CPSP [14]. Amitriptyline has been used for the treatment of diabetic neuropathy, cancer neuropathic pain, and «thalamic» pain [15-17]. Gabapentin was first used for the treatment of epilepsy [18] however, more recently, it has shown to be effective in the treatment of neuropathic pain of either peripheral or central origin [18, 19]. Carbamazepine has inhibitory effects on spontaneous spinal neural activity as well as on noxious and non-noxious evoked responses in a spinal nerve ligation model [20]. Spontaneous activity characterized by low threshold calcium burst spikes within the thalamus has been reported in patients with central pain [21, 22]. Thus, there is a rationale that carbamazepine might also

decrease central pain in a rodent model. Amitriptyline, carbamazepine and gabapentin are therefore therapeutic strategies to treat central thalamic pain.

Up to recently, the lack of a reliable animal model has prevented to truly understand the underlying mechanisms of CPSP. Wasserman and Koeberle [23] have produced a model of this condition by injecting a collagenase solution within the ventroposterolateral thalamic nucleus of rats. Collagenase acts at disrupting the blood vessels thus inducing a well-localized hemorrhage with the extent of the lesion depending of the amount of collagenase injected [24]. In a recent study from our lab, collagenase injection within the right VPL of rats produced persistent bilateral mechanical allodynia which developed from the second day after the injection and transient cold allodynia [25]. Animal models can help to further understand the mechanisms involved in CPSP and allow experimentation of different therapeutic approaches for this condition. The main objective of the present study was to evaluate the effects of amitriptyline, gabapentin and carbamazepine on central neuropathic pain, using a rodent model of intrathalamic collagenase-induced hemorrhage.

## **Results**

### **Motor coordination evaluated with the rotarod test**

There was no significant difference in motor coordination between treatment groups ( $F_{4, 31} = 3,29$ , ns). For each group, there was no significant difference when comparing baseline values and all post surgical evaluations, suggesting that neither the surgery, the collagenase injection, nor the different treatments had an effect on motor coordination (Fig. 1).

### **Mechanical sensitivity evaluated with Von Frey filaments**

A significant effect of treatments occurred for mechanical sensitivity (right hind limb:  $F_{3, 28.1} = 8.33$ ,  $p = 0.0004$ ; left:  $F_{3, 28.1} = 22.68$ ,  $p < 0.0001$ ) (Fig. 2). Prior to the surgery, baseline values were not significantly different between groups, and this for both hind limbs. For the sham group

(SHAM), no difference was seen between baseline values and post-surgical results. Following surgery, from days 2 to 11, a significant decrease in the mechanical threshold was noted in the controlateral and ipsilateral hind limbs in the control (CTL) group ( $p < 0.05$ ) when compared to the SHAM. This persisted in the CTL group even after treatment with the vehicle. Following treatments, amitriptyline (AMI) and carbamazepine (CARBA) had no effect on mechanical sensitivity. Conversely gabapentin (GBP) reduced mechanical sensitivity, values increasing progressively near sham results starting on day 15 to 25.

### **Evaluation of cold allodynia with the acetone test**

For the sham group, animals never had significant reactions to acetone following surgery that were different from baseline. Conversely, an increase in the number ( $\geq 3$  movements) and duration of movements ( $\geq 3$  seconds) with acetone (graded 2) occurred in some animals in the collagenase group. Ten to 30% of the animals reacted to acetone between the 2<sup>nd</sup> and 22<sup>nd</sup> days following the surgery (Fig. 3). Some animals showed severe allodynia with duration of movement being around 20s or number of movement being higher than 20, affecting mainly the left hind limb. However the results were not statistically significant probably because sensitivity to cold only affected a small number of animals and a great variability is present within and between groups. Thus, the effect of treatment is difficult to interpret. If no clear conclusion can be drawn from these results, we may eventually see some tendencies. GBP and AMI seemed to decrease cold allodynia on days 18 when compared to CTL but the effect seems only transient. By the end of the experiment, no animal in the CTL would show signs of cold allodynia.

### **Heat sensitivity evaluated with the Hargreave test**

There was no significant difference in heat sensitivity for both hind limbs (right:  $F_{3, 28.2} = 1.36$ , ns; left :  $F_{3, 28.1} = 1.54$ , ns). No significant difference in the thermal threshold was observed

when comparing baseline and all the post surgical evaluations for the controlateral and ipsilateral hind limbs in all groups (Fig. 4).

### **Histopathological evaluations**

In the sham group, microscopic evaluation of brain slices was unremarkable. Conversely, in the collagenase group, small well circumscribed lesions were observed in the lateral thalamic nuclei (including the VPL) (Fig. 5).

### **Discussion**

We used an animal model of central pain, induced by an intrathalamic hemorrhage, to assess amitriptyline, gabapentin and carbamazepine as potential therapeutic drugs. Following administration of a collagenase solution in the VPL thalamic nucleus, we observed a significant bilateral mechanical allodynia up to 25 days after the intracerebral lesion, which developed as early as day 2 post surgery. No thermal sensitivity to heat developed in these animals and a transient cold allodynia was observed only in some neuropathic animals. These results reflect clinical signs seen in humans since mechanical allodynia and cold allodynia typically occur following post-stroke pain [9, 10]. Amitriptyline and carbamazepine failed to show any significant effect on mechanical allodynia, however gabapentin significantly alleviated mechanical sensitivity in both hind limbs. Mechanical allodynia is a clinical finding often reported in patients with CPSP [9, 11, 26]. Tactile hypoesthesia may also occur in the absence of mechanical allodynia whereas normal tactile sensitivity can be associated with the presence of tactile allodynia [26]. Our results show a persistent bilateral mechanical allodynia following a unilateral thalamic lesion. These results are concordant with those of our previous study in which we previously showed that bilateral mechanical allodynia persisted up to 30 days after the surgery [25]. Me-

chanical allodynia has also been reported following kainate lesions in the VPL, however animals were not tested beyond 48 h [27].

Changes in thermal sensitivity, either to cold or hot temperatures, are commonly found in CPSP patients [2, 26]. These changes can be characterized by either hyper- or hyposensitivity to cold or warm temperature, allodynia or hyperalgesia [26]. More precisely, studies show that an increased sensitivity to cold and a decreased sensitivity to warmth occur frequently and heat allodynia only rarely in stroke patients [9, 26]. Similar to one of our previous studies [25], our results did not reveal any significant effect of the collagenase injection on the thermal threshold following application of a noxious heat stimulus. Thus, our results reflect the apparent low prevalence of hypersensitivity to noxious hot temperature in human patients. Unfortunately, our tests did not allow us to determine if hyposensitivity to cold or warm stimuli was present.

The prevalence of cold allodynia seems to vary between 23 and 56 % in CPSP patients [5, 9, 26]. Although not statistically significant, our results may reflect findings in human patients as cold allodynia appeared as an inconsistent sensory abnormality [26]. The fact that cold allodynia in affected rats appeared to resolve over time has no clear explanation. Animals should be tested for longer periods of time before a clear conclusion can be drawn but it is possible that the hemorrhage was associated with edema surrounding the lesion that temporally impaired nervous fibers modulating cold sensitivity. With resolution of edema with time, this anomaly in cold sensitivity disappeared. A great disparity between groups did not allow us to truly compare treatment efficacy. Increasing the number of animal in the different groups might be relevant in future experiments to decrease variability and obtain accurate conclusion.

Our bilateral sensitization finding is somewhat surprising. However bilateral sensitization to mechanical stimuli has been reported following unilateral electrolytic or demyelinating lesions in the

spinothalamic tract [28] and following a hematoma targeted at the basal ganglia, extending into thalamic nuclei [29]. In a mouse model of left middle cerebral artery ischemic stroke, hyperesthesia developed in both hind paws and mechanical allodynia was present only in the ipsilateral side of the lesion [30]. In human, bilateral sensory abnormalities have also been described in a few cases [31]. Bilateral hypoesthesia to cold and warm has been reported in CPSP patients [26]. Bilateral processing of pain hypersensitivity in human can be explained by changes involving the putamen, thalamus, insula, anterior cingulate cortex, and secondary somatosensory cortex, which may all participate in the bilateral spread of pathological pain resulting from unilateral injury [32, 33]. In rats, there are also bilateral projections to the thalamus from spinothalamic neurons which may explain bilateral signs [34, 35]. Disinhibition of intralaminar thalamic nuclei could also explain these results. This could occur following a lesion of inhibitory lateral thalamic neurons or projection fibers to the intralaminar thalamic nuclei following VPL lesions [36]. The intralaminar nuclei regroup nociceptive neurons with very large often bilateral receptive fields. When sensitized, these neurons could trigger the bilateral signs observed in our study [37]. Spinothalamic neurons with bilateral and symmetric receptive field, being suppressed by descending inhibitory pathways on the ipsilateral side could also play a role in bilateral pain perception [31]. Post-stroke inhibition of these inhibitory fibers could produce ipsilateral pain symptoms. All these proposals may explain bilateral pain following a unilateral lesion of spinothalamic structures however they are speculative and need to be addressed in future experiments.

A possible mechanism of CPSP could be a loss of inhibition, plausibly following loss of GABAergic neurons or inhibition, particularly in the reticular nucleus surrounding the thalamus. It is also possible that allodynia and hyperalgesia in CPSP patients may result from glutamatergic neuronal hyperexcitability which may be related to central sensitization [38, 39]. However, the precise pathophysiology of CPSP remains unclear. Although the mechanisms of CPSP are still poorly understood, the effect of gabapentin to reverse mechanical allodynia associated with intrathalamic hemorrhage may

allow us to gain some insight into the complexity of this condition. The mechanism of action of gabapentin is however not fully defined [18]. A synergy between increased GABA synthesis, non-NMDA receptor antagonism and binding to the  $\alpha 2\delta$  subunit of voltage dependent calcium channels ( $\text{Ca}_v\text{C}$ ) is suspected [18]. The binding to the  $\alpha 2\delta$  subunit of  $\text{Ca}_v\text{C}$  by gabapentin appears to be its most important mechanism of action to relieve neuropathic pain [18]. It seems that this  $\alpha 2\delta$  subunit is involved in the inhibitory effects of gabapentin on stimulus-evoked glutamate release [40]. Some studies show that gabapentin reduces glutamate release both in vitro and in vivo, in a model of peripheral neuropathic pain in rodents [40, 41]. More precisely, gabapentin's binding on  $\alpha 2\delta$ -1 was shown to reduce calcium influx into nerve terminals in response to action potential-mediated excitation which would presumably diminish neurotransmitter release [42, 43]. Thus, gabapentin could influence central sensitization by decreasing NMDA receptors activity as its binding on calcium channel would inhibit the release of excitatory neurotransmitters such as glutamate [41].

Efficacy of antidepressant in some CPSP patients, suggest involvement of noradrenergic, serotonergic and dopaminergic mechanisms [44]. In our study, however, AMI failed to show any significant effect on mechanical allodynia. Conversely AMI has shown some degree of efficacy to relieve, at least partially, pain in CPSP patients even in the absence of depression [16, 45]. The difference between our results and the response to AMI in human patients may be explained by some difference in methodology. CPSP patients achieved relief with AMI and the difference in the rating of pain was 1 point on a pain scale when compared to placebo [16]. Although this small difference might be appreciated by human patients, it may be too subtle to be reflected in an animal study. Furthermore, the dose we administered to the animals has not been titrated to effect and was given only for a short period of time (10 days). In one clinical case, mechanical allodynia was reduced by about 50% but AMI was titrated and administered over a longer period of time [45].

Carbamazepine did not show a significant effect to reduce mechanical allodynia associated with intrathalamic hematoma. These results are less surprising given the poor effect of this drug in human CPSP patients [16, 45]. These findings may suggest that sodium channel blocking by carbamazepine does not represent a major target for the treatment of CPSP.

## **Conclusion**

In conclusion, we found that a collagenase-induced hemorrhage, within VPL of rats, induced bilateral mechanical allodynia that was fully reversed by gabapentin. No thermal hyperalgesia to heat occurred however cold allodynia was noted in some animals. Amitriptyline and carbamazepine failed to show any significant effect on mechanical allodynia.

## **Materials and Methods**

### **Animals**

Forty Sprague-Dawley rats (Charles River, St-Constant, QC, Canada) between 7 and 8 weeks of age (BW: 300-350 g) were purchased for this study. They were housed in a standard environment (fresh filtered air: 15 changes/h, temperature:  $21 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , humidity: 40-60% and light-dark cycle: 12h:12h). Prior to the surgery, rats were pair-housed in polycarbonate cages (Ancare, Bellmore, NY, USA) on hardwood bedding (Beta chip, North-Eastern Products Co., Warrenburg, NY, USA) and acclimated to their environment for 7 days prior to the initiation of the study. Following surgery, the animals were housed individually to avoid suture chewing. The animals were fed a rodent chow (Charles River Rodent Chow 5075, St-Constant, Qc) and received tap water, both ad libitum. The University of Montreal's Faculty of Veterinary Medicine Institutional Animal Care and Use Committee approved the experimental protocol prior to animal use in accordance with the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

## **Surgical techniques**

The surgery was performed according to the model previously described by Wasserman and Koeberle [23]. Rats were divided in two groups (n=8 in the sham group; n=32 in the collagenase group). Animals were anesthetized using vaporized isoflurane (5% induction, 3% maintenance) (Aer-rane, Baxter, Mississauga, ON, Canada) in oxygen. Animals were placed on a regulated heating blanket and body temperature was monitored using a rectal probe (Thermalert TH-8, Physitemp, Clifton, NJ, USA) to keep temperature within normal limits (36-37°C). The skin hair was clipped and cleaned with an iodine solution. A sagittal skin incision from behind both eyes to the occipital bone was made and the periosteum was gently detached from the underlying bone to allow visualization of bregma. Using stereotaxic coordinates (anterior posterior 3.5 mm, and lateral to 3.5 mm, in reference to bregma [46]) the area of interest was localized using a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA). A burr hole (diameter 1.5 mm) in the bone was performed using a stereotaxic drill. The collagenase group received via a 5µL Hamilton syringe 0.25 µL of a solution of 0.025 UI of collagenase (Type IV) (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) prepared in sterile saline. The syringe was lowered 6 mm ventral to the dura matter so that the injection site would be within the right ventral posterolateral thalamic nucleus. Sham animals received an equal volume of sterile saline (0.9% NaCl) using the same method. Injections were performed over 2 min then the needle was kept in place for an extra 5 min to allow good diffusion of the solution and prevent reflux along the needle track. The needle was then slowly withdrawn and the skin was closed using simple discontinuous Monocryl 4.0 sutures (Ethicon, Johnson & Johnson). The animals were singly caged to allow for a smooth recovery. One animal died of isoflurane overdose during surgery leaving 31 animals in the collagenase group.

## **Behavioral study**

All animals were trained daily on all behavioral tests in the following order: rotarod, Von Frey, acetone test and Hargreave) for one week prior to the beginning of the behavioral evaluation. Baseline values were obtained 3 days prior to surgery. After surgery, animals were given one day to recover. They were then tested on days 2, 4, 8, 11 post-surgery to evaluate if neuropathic pain was present. They were tested again on day 15, 18, 22, 25 following treatment administration. Tests were always performed in the same sequence and in the morning to avoid circadian variations. Rats were acclimated for 15 min in the room prior to the beginning of testing.

### **Rotarod test**

To evaluate if the surgery and the treatment had any effect on motor coordination, animals were evaluated on the rotarod treadmill (Rotarod ENV-576, Med Associates Inc., St-Albans, VT, USA). The rotarod was set to the acceleration mode of 5 to 35 revolutions per min over 5 min. The maximum time the animal stayed on the rotarod (up to a maximum of 5 min), was recorded for each performance.

### **Von Frey mechanical sensitivity test**

All animals were evaluated with Von Frey filaments using the up-down paradigm (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) as described by Chaplan et al. [47] to establish mechanical sensitivity. Rats were placed on a customized platform with mesh floor in Plexiglas chambers. Testing sessions began after 15 min habituation to the experimental setup. Testing was done by applying Von Frey filaments through the grid floor on the central region of the plantar surface of the rat's hind paws, avoiding the foot pads. The filaments were applied only when the rats were stationary on 4 paws. A trial consisted of applications of the different filaments ranging from 4 to 22 g, starting with the smallest filament. Pressure was applied until buckling occurred for approximately 3 seconds. Rats were tested in groups of 4

animals and to avoid the effect of anticipation, a first paw was tested in all animals and then the opposite paw in the same fashion. The order of testing of the paw (right or left) was alternated at each testing sequence. When no reaction was seen for a given filament, the next filament with higher rigidity was applied. If for a given filament, the animal withdrew its hind paw, the filament of lower rigidity was applied to evaluate the absence of withdrawal and then with the greater diameter filament to confirm the threshold. The force corresponding to the smallest filament causing a withdrawal reaction was recorded. The force corresponding to each filament was measured with the use of a weighing scale, at the beginning and at the end of the study to confirm force consistency.

### **Acetone test**

This test was performed according to the method previously described by Choi et al.[48]. With the animals standing on a mesh floor in Plexiglas chamber, a drop of acetone (50  $\mu$ L) was applied to the plantar surface of the hind paw with a syringe assuring that the tip would not touch the paw to prevent mechanical stimulation. The number of movement of the paw and duration of the behavior were recorded for a minimum of 30 s. Both hind paws were tested alternatively. Responses to acetone were graded on the following scale: 0 = no reaction 1 = mild reaction characterized by quick withdrawal (less than 3 movements) or short duration of lifting paw (less than 3 seconds), 2 = longer withdrawal or repeated movements ( $\geq 3$  movements or  $\geq 3$  seconds). To determine the percentage of animals reactive to acetone only grade 2 were considered. Data are presented as the percentage of animal reacting to acetone per group.

### **Hargreave thermal sensitivity test**

Thermal sensitivity was evaluated using the Hargreaves apparatus (IITC Life Science, CA, USA) as previously described [49]. Each animal was placed in a Plexiglas chamber with the ground

floor made of heated glass (27-31°C). Animals were allowed to acclimate to the experimental set up for 15 min prior to testing. Then radiant heat generated by a high intensity light bulb (40W) was directed to the plantar surface of the hind paw. The lamp generated noxious heat stimulus. The time the animal took to lift its paw from the floor was recorded and noted as the thermal threshold. Rats were tested in groups of 4 animals and to avoid the effect of anticipation, a first paw was tested in all animals and then the opposite paw in the same fashion. The test began with either the right or the left hind paw alternatively to prevent any anticipatory behavior. A cut off time of the radiant stimulation was set at 20 seconds to minimize tissue injury.

## **Treatments**

Animals were fasted the night prior to gavage to avoid a food effect. They were given access to food pellets approximately 15 min following gavage. The operator was blinded to the treatments (type of drug administered). Drugs and methylcellulose were purchased from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA).

Rats from the collagenase group were further divided into 4 subgroups depending on the treatment received from days 15 to 25 post surgery. These animals received either a daily oral administration of the vehicle (control group (CTL) (n=7)) or one of the different drugs (amitriptyline (AMI), gabapentin (GBP), carbamazepine (CARBA)) (n=8/drug). The sham group (SHAM) received the vehicle daily by gavage from days 15 to 25 post surgery.

The dose concentrations for the three different drugs were chosen according to previous studies showing efficacy to reduce neuropathic pain in rodent models (Field et al.,1999; Chogtu et al., 2011;) The following doses were administered: AMI 10 mg/kg (emulsion: 0.5g/100 mL of vehicle for a concentration of 5 mg/mL), GBP 60 mg/kg (3g GBP in 100 mL of vehicle for a concentration of 30 mg/mL), CARBA 100 mg/kg (emulsion: 5 g dissolved in 100 mL of vehicle for a concentration of 50

mg/mL). For the SHAM and CTL groups, 0.5 mL of the solution was given orally (composition: 5% (w/v) sucrose and 1.5% (w/v) methylcellulose in water). Behavioral tests started approximately 1 h after the gavage.

### **Histological methods**

Histology was mainly performed to confirm the location of the hemorrhagic lesion. At the end of the study and under deep isoflurane anesthesia, the abdominal cavity was opened and the abdominal aorta was clamped. Rats were perfused with an intracardiac infusion of first a physiological dextrose-sucrose solution (100 mL/rat; solution composition (1L) : 8 g NaCl, 4 g dextrose, 8 g sucrose, 0.23 g calcium chloride), followed by a 10% buffered formalin solution (100 mL/rat). The brains were removed and fixed in formalin for a minimum of 48 h prior to being embedded in paraffin. Transverse sections (4 µm thick) through the thalamus were made using a microtome. The sections were stained with hematoxylin and eosin using standard methods. Sections were reviewed by a board certified pathologist (Dr Pierre Hélie DVM, DACVP, Department of Veterinary Pathology, University of Montreal).

### **Statistical analyses**

The statistical analyses of behavioral data were conducted using an ANOVA linear model with repeated measures and post hoc Tuckey tests performed with SAS (version 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA). For the analysis of variance, time as the intra subject factor and treatment as the inter subjects factor were used. A priori contrasts to adjust alpha threshold with Bonferroni sequential adjustment for multiple comparisons were performed. We compared baseline values with post surgery and post treatment values. We also compared values from the sham group with the treatment groups. Results are presented as means and standard errors of the mean. Analyses revealing p values < 0.05 were

considered statistically significant. For evaluation of cold allodynia, Cochran-Mantel-Haenszel test for ordinal data was used.

### **Acknowledgments**

This study was supported by the Fond de Développement pour la Médecine des Animaux de Laboratoire. We wish to acknowledge Guy Beauchamp for statistical analyses as well as Jacinthe Cardin and Nancy Veilleux for assistance in the brain preparation and assistance hematoxylin/eosin stainings.

### **Abbreviations**

CPSP, central post stroke pain; SHAM, sham group; CTL, control; AMI, amitriptyline; GBP, gabapentin; CARBA, carbamazepine; VPL, ventral posterolateral nucleus.

### **Competing interest**

The authors declare that they have no competing interest.

### **Author's contributions**

AC: animal experimentation, analysis and interpretation of the data, writing of manuscript. PV: obtained funding, study design, supervised the experimentation, interpretation of the data, manuscript writing. All authors read the final version of the submitted manuscript.

### **References**

1. Gilron I, Coderre TJ: Emerging drugs in neuropathic pain. *Expert Opin Emerg Dr* 2007, 12(1):113-126.

2. Boivie J, Leijon G, Johansson I: Central post-stroke pain--a study of the mechanisms through analyses of the sensory abnormalities. *Pain* 1989, 37(2):173-185.
3. Fitzek S, Baumgartner U, Fitzek C, Magerl W, Urban P, Thomke F, Marx J, Treede RD, Stoeter P, Hopf HC: Mechanisms and predictors of chronic facial pain in lateral medullary infarction. *Ann Neurol* 2001, 49(4):493-500.
4. Hansen AP, Marcussen NS, Klit H, Andersen G, Finnerup NB, Jensen TS: Pain following stroke: a prospective study. *European J Pain* 2012, 16(8):1128-1136.
5. Klit H, Finnerup NB, Andersen G, Jensen TS: Central poststroke pain: a population-based study. *Pain* 2011, 152(4):818-824.
6. Nasreddine ZS, Saver JL: Pain after thalamic stroke: right diencephalic predominance and clinical features in 180 patients. *Neurology* 1997, 48(5):1196-1199.
7. Bogousslavsky J, Regli F, Uske A: Thalamic infarcts: Clinical syndromes, etiology, and prognosis. *Neurology* 1988, 38(6):837-837.
8. Krause T, Brunecker P, Pittl S, Taskin B, Laubisch D, Winter B, Lentza ME, Malzahn U, Villringer K, Villringer A et al: Thalamic sensory strokes with and without pain: differences in lesion patterns in the ventral posterior thalamus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012, 83(8):776-784.
9. Andersen G, Vestergaard K, Ingeman-Nielsen M, Jensen TS: Incidence of central post-stroke pain. *Pain* 1995, 61(2):187-193.
10. Bowsher D: Central pain: clinical and physiological characteristics. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996, 61:62-69.
11. Leijon G, Boivie J, Johansson I: Central post-stroke pain--neurological symptoms and pain characteristics. *Pain* 1989, 36(1):13-25.

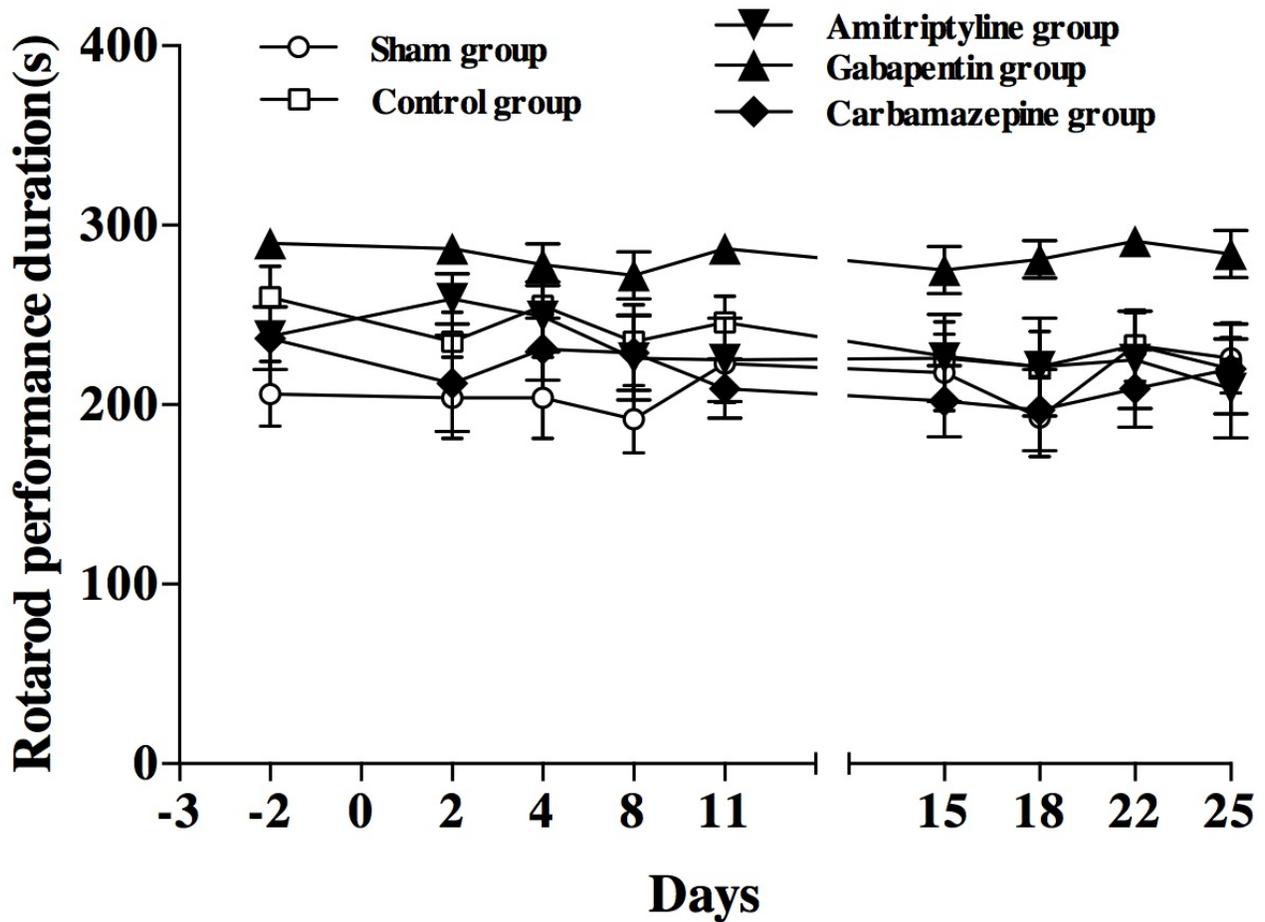
12. Appellos P: Prevalence and predictors of pain and fatigue after stroke: a population-based study. *Int J Rehabil Res* 2006, 29(4):329-333.
13. Widar M, Ahlström G: Disability after a stroke and the influence of long-term pain on everyday life. *Scand J Caring Sci* 2002, 16:302-310.
14. Gordon A: Best Practice Guidelines for Treatment of Central Pain after Stroke. In: *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. edn. Edited by James L. Henry AP, and Kiran Yashpal. Seattle: IASP Press; 2007: 267-273.
15. Kaur H, Hota D, Bhansali A, Dutta P, Bansal D, Chakrabarti A: A comparative evaluation of amitriptyline and duloxetine in painful diabetic neuropathy: a randomized, double-blind, cross-over clinical trial. *Diabetes care* 2011, 34(4):818-822.
16. Leijon G, Boivie J: Central post-stroke pain--a controlled trial of amitriptyline and carbamazepine. *Pain* 1989, 36(1):27-36.
17. Mishra S, Bhatnagar S, Goyal GN, Rana SP, Upadhyaya SP: A comparative efficacy of amitriptyline, gabapentin, and pregabalin in neuropathic cancer pain: a prospective randomized double-blind placebo-controlled study. *Am J Hosp Palliat Care* 2012, 29(3):177-182.
18. Bennett MI, Simpson KH: Gabapentin in the treatment of neuropathic pain. *Palliat Med* 2004, 18(1):5-11.
19. Attal N, Brasseur L, Parker F, Chauvin M, Bouhassira D: Effects of gabapentin on the different components of peripheral and central neuropathic pain syndromes: a pilot study. *Eur Neurol* 1998, 40(4):191-200.
20. Chapman V, Suzuki R, Chamarette HL, Rygh LJ, Dickenson AH: Effects of systemic carbamazepine and gabapentin on spinal neuronal responses in spinal nerve ligated rats. *Pain* 1998, 75(2-3):261-272.

21. Jeanmonod D, Magnin M, Morel A: Low-threshold calcium spike bursts in the human thalamus. Common physiopathology for sensory, motor and limbic positive symptoms. *Brain* 1996, 119 ( Pt 2):363-375.
22. Lenz FA, Tasker RR, Dostrovsky JO, Kwan HC, Gorecki J, Hirayama T, Murphy JT: Abnormal single-unit activity recorded in the somatosensory thalamus of a quadriplegic patient with central pain. *Pain* 1987, 31(2):225-236.
23. Wasserman JK, Koeberle PD: Development and characterization of a hemorrhagic rat model of central post-stroke pain. *Neuroscience* 2009, 161(1):173-183.
24. Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M: Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 1990, 21(5):801-807.
25. Castel A, Helie P, Beaudry F, Vachon P: Bilateral central pain sensitization in rats following a unilateral thalamic lesion may be treated with high doses of ketamine. *BMC Vet Res* 2013, 9:59.
26. Greenspan JD, Ohara S, Sarlani E, Lenz FA: Allodynia in patients with post-stroke central pain (CPSP) studied by statistical quantitative sensory testing within individuals. *Pain* 2004, 109(3):357-366.
27. LaBuda CJ, Little PJ: Pharmacological evaluation of the selective spinal nerve ligation model of neuropathic pain in the rat. *J Neurosci Methods* 2005, 144(2):175-181.
28. Wang G, Thompson SM: Maladaptive homeostatic plasticity in a rodent model of central pain syndrome: thalamic hyperexcitability after spinothalamic tract lesions. *J Neurosci* 2008, 28(46):11959-11969.
29. Roy G, Lema P, Vachon P: Central pain following a collagenase-induced hematoma in the basal ganglia and thalamus can be reversed with gabapentin. *Scand J Lab Anim Sci* 2011, 38:157-165.

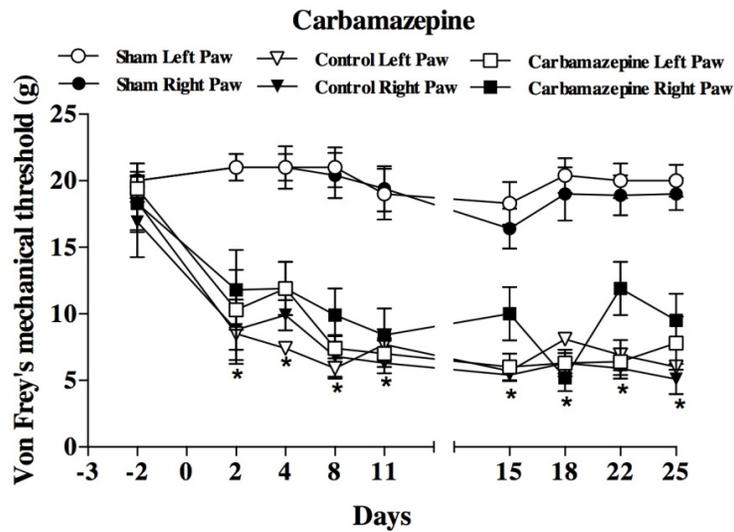
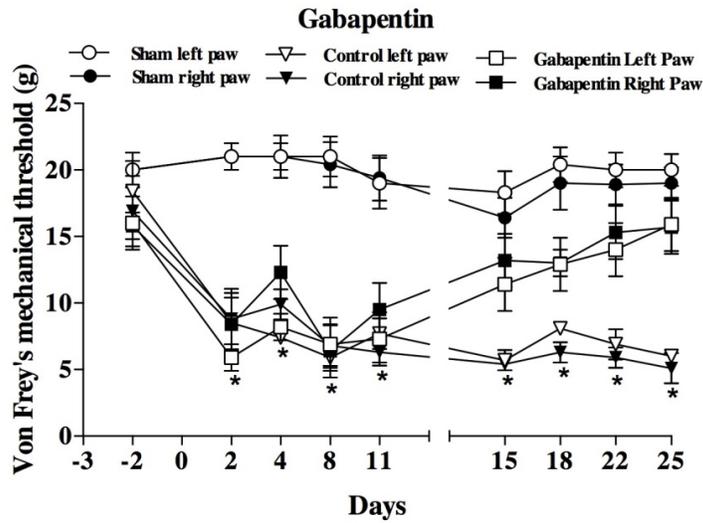
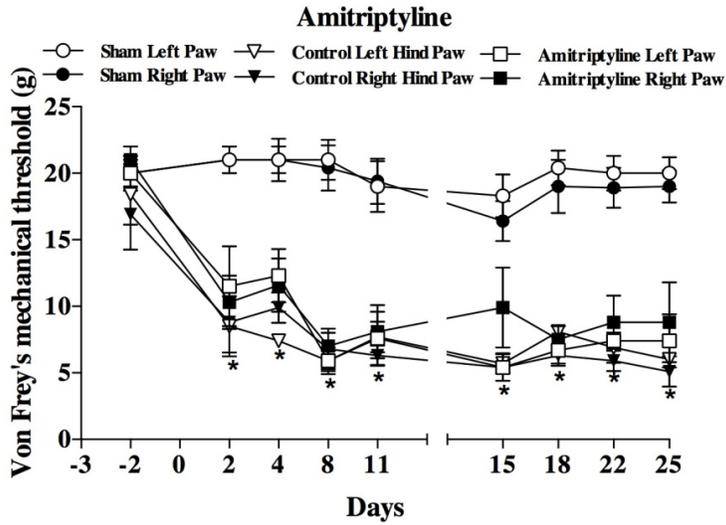
30. Takami K, Fujita-Hamabe W, Harada S, Tokuyama S: Abeta and Adelta but not C-fibres are involved in stroke related pain and allodynia: an experimental study in mice. *J Pharm Pharmacol* 2011, 63(3):452-456.
31. Kim JS: Delayed-onset ipsilateral sensory symptoms in patients with central poststroke pain. *Eur Neurol* 1998, 40(4):201-206.
32. Coghill RC, Sang CN, Maisog JM, Iadarola MJ: Pain Intensity Processing Within the Human Brain: A Bilateral, Distributed Mechanism. *J Neurophysiol* 1999, 82:1934-1943.
33. Hsieh JC, Belfrage M, Stone-Elander S, Hansson P, Ingvar M: Central representation of chronic ongoing neuropathic pain studied by positron emission tomography. *Pain* 1995, 63(2):225-236.
34. Cliffer KD, Burstein R, Giesler GJ, Jr.: Distributions of spinothalamic, spinohypothalamic, and spinotelencephalic fibers revealed by anterograde transport of PHA-L in rats. *J Neurosci* 1991, 11(3):852-868.
35. Kleveland AG, Willis WD: Collaterals of Spinothalamic Cells in Rats. *J Comp Neurol* 1983, 215:453-464.
36. Craig AD: A new version of the thalamic disinhibition hypothesis of central pain. *Pain Forum* 1998, 7:1-14.
37. Willis WD: Spinothalamocortical Processing of Pain. In: *The Pain System in Normal and Pathological States: A primer for Clinicians, Progress in Pain Research and Management*. edn. Edited by Villanueva L DA, Ollat H. Seattle: IASP Press; 2004: 155-174.
38. Sessle BJ: Mechanisms of Pain. In: *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. edn. Edited by Henry JL PA, Yashpal K. Seattle: IASP Press; 2007: 67-79.
39. Vestergaard K, Nielsen J, Andersen G, Ingeman-Nielsen M, Arendt-Nielsen L, Jensen TS: Sensory abnormalities in consecutive, unselected patients with central post-stroke pain. *Pain* 1995, 61(2):177-186.

40. Quintero JE, Dooley DJ, Pomerleau F, Huettl P, Gerhardt GA: Amperometric measurement of glutamate release modulation by gabapentin and pregabalin in rat neocortical slices: role of voltage-sensitive Ca<sup>2+</sup> alpha2delta-1 subunit. *J Pharmacol Exp Ther* 2011, 338(1):240-245.
- 41.Coderre TJ, Kumar N, Lefebvre CD, Yu JS: Evidence that gabapentin reduces neuropathic pain by inhibiting the spinal release of glutamate. *J Neurochem* 2005, 94(4):1131-1139.
42. Fink K, Dooley DJ, Meder WP, Suman-Chauhan N, Duffy S, Clusmann H, Gothert M: Inhibition of neuronal Ca(2+) influx by gabapentin and pregabalin in the human neocortex. *Neuropharmacol* 2002, 42(2):229-236.
43. Tuchman M, Barrett JA, Donevan S, Hedberg TG, Taylor CP: Central sensitization and Ca(V)alpha(2)delta ligands in chronic pain syndromes: pathologic processes and pharmacologic effect. *J Pain* 2010, 11(12):1241-1249.
44. Henry JL: An Animal Model of CPSP. In: *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. edn. Edited by James L. Henry AP, and Kiran Yashpal. Seattle: IASP Press; 2007: 171-180.
45. Hansson P: Post-stroke pain case study: clinical characteristics, therapeutic options and long-term follow-up. *Europ J Neurol* 2004, 11(Suppl. 1):22-30.
46. Paxinos G. WC: *The rat brain stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press; 1998.
47. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994, 53(1):55-63.
48. Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, Chung JM: Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 1994, 59(3):369-376.
49. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J: A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 1988, 32(1):77-88.

## Figures

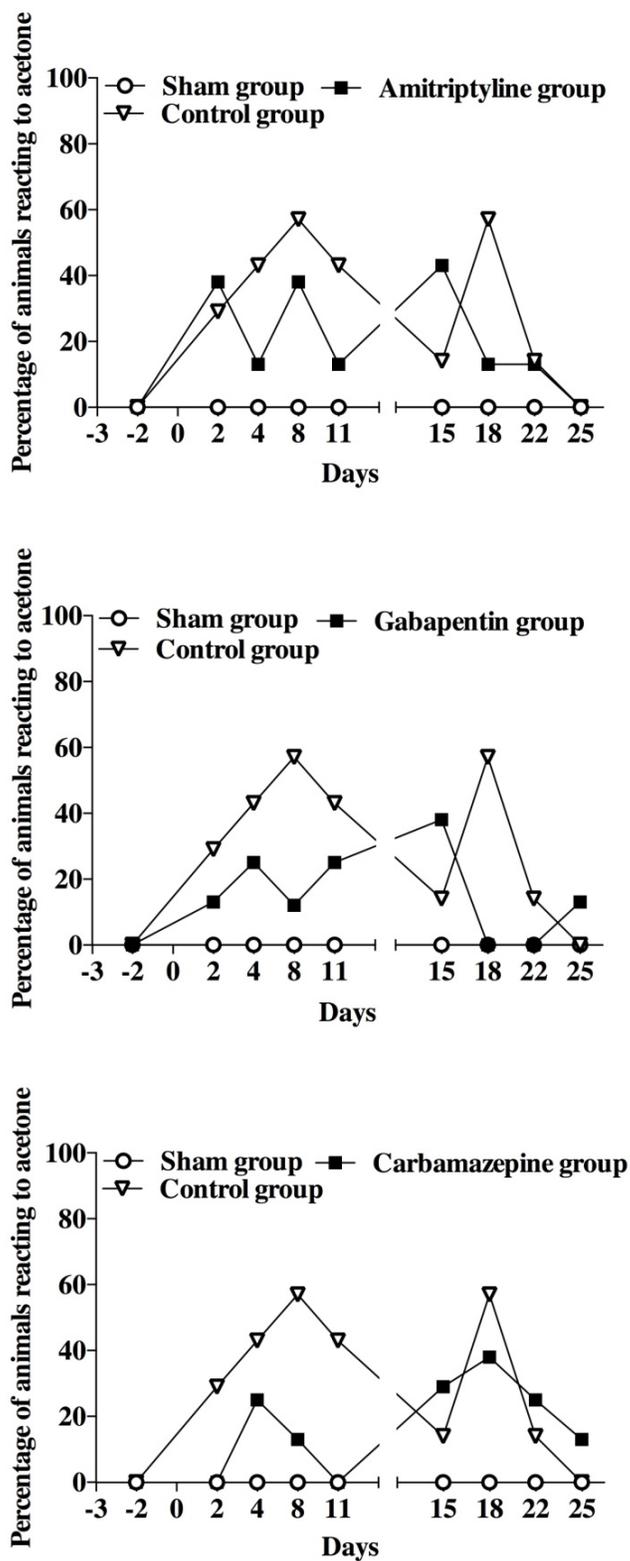


**Figure 1.** Motor coordination evaluated with the rotarod test in Sprague Dawley rats from the Sham, Control, Amitriptyline, Gabapentin and Carbamazepine groups showed no differences ( $F_{4, 31} = 3.29$ , ns). No significant difference was seen between all groups at baseline and at different post surgical time points ( $F_{8, 148} = 1.92$ ,  $p = ns$ ).



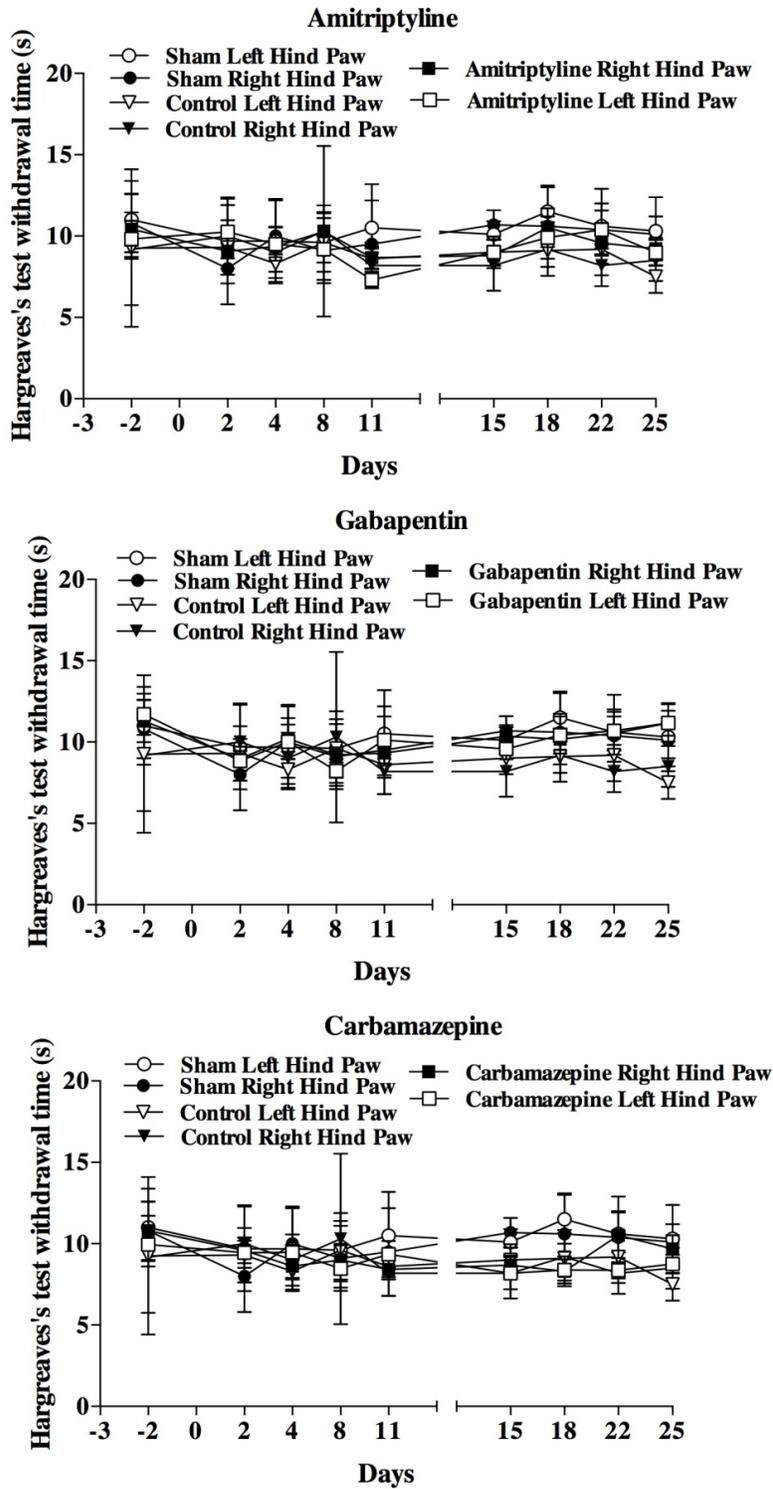
**Figure 2.** Results of mechanical allodynia using Von Frey filaments showed significant differences between groups for both hind limbs (right hind limb:  $F_{3, 28.1} = 8.33, p = 0.0004$ ; left:  $F_{3, 28.1} =$

22.68,  $p < 0.0001$  ). No significant difference was seen at baseline values between all groups. Post-surgery, a significant decrease in the mechanical threshold in both hind limbs was noted for the control (CTL), amitriptyline (AMI), carbamazepine (CARBA) and gabapentin (GBP) groups ( $p < 0.001$ ). The decrease persisted even after initiation of treatment (Vehicle, AMI or CARBA) from day 15 to 25 suggesting no significant effect of these drugs on bilateral mechanical allodynia induced by collagenase intrathalamic injection ( $p = ns$  when compared to day 11). However after initiation of treatment in the GBP group, reversal of mechanical sensitivity was observed in both hind limbs at all evaluation times ( $p = ns$ , when compared CTL's).

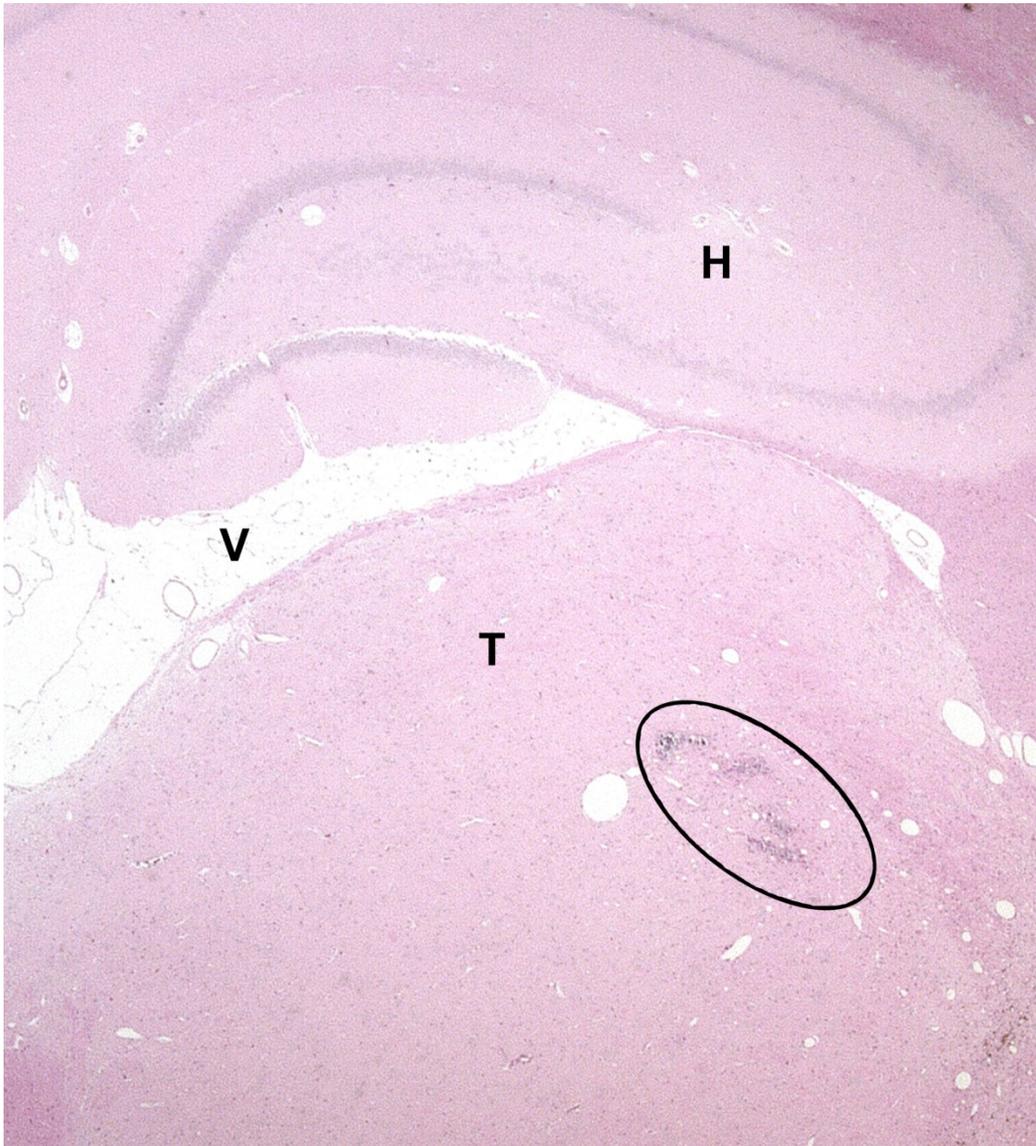


**Figure 3.** Evaluation of cold allodynia with the acetone test from the sham, control (CTL), amitriptyline (AMI), gabapentin (GBP) and carbamazepine (CARBA) groups. The results are presented as the percentage of animals reactive to acetone. Although not statistically significant, the percentage of reac-

tive animal in the CTL group appeared higher than for the SHAM. This increase in cold sensitivity returned to baseline at the end of the evaluation period (day 25)). When comparing the different treatments (AMI, GBP, and CARBA) with the SHAM and CTL groups, the great variability within and between groups does not allow us to draw any clear conclusion.



**Figure 4.** Results of thermal hyperalgesia using Hargreaves test showed no difference between groups (right:  $F_{3, 28.2} = 1.36$ , ns ; left :  $F_{3, 28.1} = 1.54$ , ns). There was no significant difference in the thermal thresholds before and after the surgery for all groups in both hind limbs ( $F_{8, 131} = 1.41$ ,  $p = ns$ ,  $F_{8, 121} = 1.68$ ,  $p = ns$ ).



**Figure 5.** Photomicrograph of a transverse rat brain section (4 $\mu$ m) showing a well circumscribed small lesion following a collagenase solution injection in VPL nucleus of the thalamus (Hematoxylin& Eosin stain, x12,5). H : hippocampus, V : ventricle, T : thalamus.

## DISCUSSION

La douleur centrale post-AVC (DCPA) est une douleur neuropathique qui se caractérise par des déficits sensoriels tels que de l'allodynie mécanique, de l'hypo- ou hypersensibilité à des stimuli thermiques (chaud ou froid), de l'hyperalgésie ou encore des dysesthésies (Andersen et al., 1995; Bowsher, 1996; Klit et al., 2009). Son traitement peut s'avérer complexe et jusqu'à récemment, l'absence de modèle animal fiable de cette condition rendait difficile l'étude de ses mécanismes intrinsèques et le développement de nouvelles approches thérapeutiques.

Le but de ce projet de maîtrise était de reproduire un modèle de douleur neuropathique centrale en induisant, chez des rats, une hémorragie localisée au niveau du noyau thalamique ventropostérolatéral par injection de collagénase. Ce modèle avait été préalablement décrit par Wasserman et Koeberle (2009). Nous souhaitions dans un premier temps, caractériser les changements comportementaux induits par ce type de lésion en terme de motricité, de sensibilité mécanique et de sensibilité thermique à la chaleur et au froid, changements nous indiquant la présence de douleur neuropathique. Une fois la neuropathie établie, nous voulions évaluer l'efficacité de trois différentes molécules à savoir, l'amitriptyline, la gabapentine et la carbamazépine sur ce type de douleur.

A la suite de cette première étude, soit après 28 jours, les animaux du groupe contrôle (ayant reçu la collagénase intrathalamique puis le véhicule per os, n=7) recevaient une injection intrapéritonéale (IP) de kétamine à doses croissantes et à 2 jours d'intervalle afin d'évaluer l'effet de cette drogue sur la neuropathie. Une analyse de la concentration plasmatique à 30 minutes, 1 et 2 heures post administration était effectuée par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse.

Une fois l'évaluation comportementale terminée, les animaux étaient sacrifiés. Les cerveaux étaient collectés et sectionnés puis montés sur lame. Différentes colorations afin de visualiser la lésion et de caractériser les différents changements pathologiques associés étaient réalisées avant évaluation microscopique.

### Evaluation de la motricité

Nous avons décidé d'évaluer la motricité des rats après l'injection intrathalamique de collagénase à l'aide du Rotarod. En effet, si la chirurgie modifiait la coordination motrice des animaux, ceci aurait pu altérer les réponses comportementales pour les autres tests et fausser nos résultats. De même, ce test nous permettait d'évaluer si les différents traitements administrés pouvaient avoir un effet sur la motricité car ceci pouvait également modifier notre interprétation des résultats des autres tests.

Nous avons observé que la chirurgie n'avait pas d'effet sur la coordination motrice des animaux. Donc si la chirurgie n'a pas d'effet sur la motricité, alors les modifications comportementales observées lors des autres tests effectués sont bien attribuables à des déficits sensoriels et non à une incapacité motrice des animaux à bouger leurs membres. Les différents traitements administrés n'ont également pas provoqué d'altération de la motricité à l'exception de la kétamine à haute dose (25mg/kg). En ce qui concerne la kétamine, le groupe témoin (ou sham) (ayant reçu une injection de saline intrathalamique) et le groupe contrôle (ayant reçu la collagénase intrathalamique) présentaient tout deux une altération de la coordination motrice confirmant que l'effet observé était bien dû au traitement et non au type de chirurgie.

#### Allodynie mécanique persistante à la suite de l'administration de collagenase intrathalamique

Pour évaluer le développement d'allodynie mécanique, les rats ont été acclimatés à l'environnement et entraînés au test de Von Frey préalablement décrit pendant une semaine et des valeurs de base ont été acquises avant la chirurgie. Les animaux ont été ensuite re-testés régulièrement après la chirurgie à partir du 2ème jour (soit à J2, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 post chirurgie). Les deux membres postérieurs étaient évalués alternativement pour éviter un effet d'apprentissage des animaux.

Dès le 2ème jour après l'injection de collagenase, une diminution significative du seuil de retrait de la patte suite à l'application d'un filament de nylon a été notée. Cette diminution n'était pas observée dans le groupe témoin ayant reçu une administration de saline intrathalamique. Cette diminution du seuil de retrait de la patte, c'est à dire une réponse à l'application d'un filament de rigidité inférieure à la valeur de base peut être qualifiée d'allodynie mécanique puisqu'en temps normal, l'application de ce filament ne provoque pas de réaction de l'animal.

Cette allodynie mécanique se maintenait dans le temps puisqu'elle persistait au moins jusqu'au 25ème jour après la chirurgie pour le groupe contrôle (groupe ayant reçu la collagenase intrathalamique et le véhicule comme traitement per os).

Il est particulièrement intéressant de préciser que cette allodynie mécanique était présente au niveau du membre controlatéral (membre gauche) mais aussi du membre ipsilatéral (membre droit) à la lésion alors que l'on s'attendrait à n'avoir que des déficits controlatéraux à la lésion.

Ces résultats nous montrent que ce modèle animal nous permet de reproduire de l'allodynie mécanique, un symptôme fréquemment observé chez les patients atteints de DCPA (Andersen et al., 1995; Boivie et al., 1989; Greenspan et al., 2004; Klit et al., 2011; Leijon et al., 1989).

Ces résultats sont également concordants avec l'étude de Wasserman et Koeberle (2009) qui observaient également une sensibilité mécanique pendant les 7 jours d'évaluation suivant l'administration de collagenase. De manière similaire, le développement d'allodynie mécanique a été rapportée suite à l'administration de kainate dans le VPL de rats (LaBuda et al., 2000). Cependant cette étude était de courte durée, 48h seulement, et ne précisait pas si les 2 membres pelviens étaient affectés.

Dans l'étude de Wasserman et Koeberle (2009), seul le membre controlatéral était affecté ce qui diffère de notre étude pour laquelle l'allodynie mécanique est observée bilatéralement. Cette divergence de résultats peut être attribuable à une méthodologie différente entre les deux études notamment puisque Wasserman et Koeberle n'ont pas mesuré de valeurs de base avant la chirurgie, que les deux membres étaient comparés l'un par rapport à l'autre et que l'évaluation était réalisée sur une durée plus courte.

#### Allodynie au froid transitoire chez certains sujets

Chez l'homme, la sensibilité au froid et plus particulièrement l'allodynie, font partie des anomalies sensorielles observées lors de DCPA (Andersen et al., 1995; Greenspan et al., 2004; Leijon et al., 1989). L'allodynie au froid a été rapporté chez 23% à 40% des patients (Greenspan et al., 2004; Klit et al., 2011). Dans certains cas, c'est une hypoesthésie pour la détection du froid qui est observée (Greenspan et al., 2004; Vestergaard et al., 1995).

Dans notre étude, nous avons évalué le développement d'allodynie au froid à l'aide du test à l'acétone. La goutte d'acétone était appliquée sur chaque membre postérieur de manière aléatoire. Bien que nos résultats ne soient pas statistiquement significatifs, ils méritent cependant d'être commentés.

Nous avons pu observer que certains sujets développaient des réactions relativement sévères suite à l'application de l'acétone. Ces réactions pouvaient se traduire par une augmentation marquée du nombre de mouvements (jusqu'à plus de 20 mouvements) ou une durée importante pendant laquelle l'animal tenait son membre relevé (plus de 20 s). Le membre postérieur gauche semblait un peu plus souvent atteint. Le pourcentage d'animaux réagissant à l'acétone variait de 10 à environ 30% sur toute la période d'évaluation. Bien que ce pourcentage d'animaux soit assez faible ce qui pourrait expliquer l'absence de différence statistiquement significative avec le groupe témoin, on ne peut s'empêcher de constater la similitude entre ce pourcentage et les pourcentages rapportés en médecine humaine.

Dans notre étude, l'allodynie au froid était seulement transitoire puisque vers la fin de la période d'évaluation, le pourcentage d'animaux réagissant à l'acétone tendait de nouveau vers 0%. Nous n'avons pas d'explication claire pour expliquer ce phénomène qui semble au contraire persistant chez

l'homme. Quelques cas de douleur centrale réversible ont cependant été décrits (Canavero, 1996). Il est possible que notre lésion soit bien moins extensive que celles que l'on peut observer chez les patients souffrant d'allodynie au froid et qu'elle n'ait pas produit de dommages tissulaires assez sévères pour induire de manière permanente une hyperesthésie au froid. En effet, on peut supposer que l'œdème associé à l'hématome compromettant de manière transitoire les fibres nerveuses responsables de la modulation de la sensibilité au froid, s'est progressivement résorbé induisant ainsi une allodynie uniquement transitoire.

#### Absence d'hyperalgésie au chaud

Parmi les différents tests comportementaux réalisés, nous avons choisi d'évaluer la présence d'hyperalgésie induite par la chaleur à l'aide du test de Hargreaves car ce symptôme est rapporté dans différents modèles animaux de douleur neuropathique et notamment dans les modèles de douleur centrale par injection intrathalamique de collagenase pour induire une hémorragie ou par injection de kaïnate (LaBuda et al., 2000; Roy et al., 2011; Wasserman and Koeberle, 2009). Les études en médecine humaine rapportent également des déficits sensoriels associés aux stimuli thermiques chez les patients atteints de DCPA. Si de l'allodynie et des dysesthésies associées aux stimuli mécaniques et au froid ont été rapportées, il semble cependant que ça ne soit pas le cas pour le chaud (Andersen et al., 1995). Les patients démontreraient en revanche de l'hypoesthésie au chaud (Andersen et al., 1995), donnée également rapportée par Leijon et al. (1989). Dans une autre étude, il semble que le seuil de détection des stimuli thermiques non douloureux soit augmenté chez la plupart des patients, en revanche le seuil de détection des températures nociceptives élevées demeure la plupart du temps inchangé (Greenspan et al., 2004). Ceci traduit donc une hypoesthésie à la chaleur non nociceptive mais une sensibilité normale à la chaleur nociceptive.

Dans notre étude, les animaux étaient préalablement habitués à l'environnement et entraînés au test de Hargreaves. Trois jours avant la chirurgie, nous déterminions un seuil de base de retrait de la patte suite à l'application d'une source de chaleur nociceptive sur la face plantaire du membre pelvien (les 2 membres étaient testés de manière alternative). Les animaux étaient testés de nouveau régulièrement après la chirurgie pour déterminer si une hypersensibilité à la chaleur nociceptive ou hyperalgésie, était présente. Les résultats de notre étude révèlent l'absence de modification du seuil de retrait de la patte suite à l'application de chaleur après la chirurgie. Il n'y avait pas non plus de différence entre le groupe témoin et le groupe contrôle. Ces résultats diffèrent des études précédentes chez les rongeurs qui elles

rapportaient le développement d'hyperalgésie au chaud sur un délai variant de 2 à 21 jours (LaBuda et al., 2000; Wasserman and Koeberle, 2009). En revanche, nos résultats se rapprochent des observations chez l'homme puisque l'hyperalgésie thermique ne semble pas être une anomalie sensorielle fréquente dans les cas de DCPA (Andersen et al., 1995; Greenspan et al., 2004). Dans notre étude, une hyposensibilité à la chaleur qui semble bien plus fréquente n'a pas pu être mise en évidence (Greenspan et al., 2004).

On peut tenter d'expliquer la différence entre nos résultats et les autres études chez les rongeurs utilisant des modèles similaires, par des variations dans la méthode d'évaluation. Le délai très court de l'étude de LaBuda et al. (2000) ne nous permet pas de réellement la comparer avec notre étude. Wasserman et Koeberle montrent dans leur étude, la photo d'une de leur lésion qui est beaucoup plus extensive que celle que nous avons pu observer chez nos animaux. De plus, le test utilisé pour déterminer l'hyperalgésie thermique est différent puisqu'il s'agit du test de la plaque chaude. Dans ce test, l'animal est placé dans une boîte dont le planché est préchauffé à une température élevée (50°C). L'animal est déposé sur la plaque et les réactions telles qu'un retrait d'une patte ou un léchage de celle-ci sont prises en compte. Le temps de latence pour observer ces comportements est mesuré. Encore une fois, dans cette étude, il n'y avait pas de valeurs de base prises avant la chirurgie. Les résultats étaient interprétés en comparant un membre par rapport à l'autre. Cette méthode ne permet donc pas réellement de différencier entre une hypersensibilité d'un côté ou plutôt une hyposensibilité du côté opposé.

### Bilatéralité des signes

Une particularité de notre étude par rapport aux précédentes sur les modèles de douleur neuropathique centrale est la bilatéralité des modifications comportementales observées et plus particulièrement de l'allodynie mécanique. Dans la plupart des études chez l'homme et chez l'animal, les signes cliniques et les déficits sensoriels sont unilatéraux et controlatéraux au côté de la lésion (Greenspan et al., 2004; Vestergaard et al., 1995; Wasserman and Koeberle, 2009). Cependant certaines études rapportent une bilatéralité des signes chez certains patients (Canavero, 1996; Kim, 1998). Une hypoesthésie bilatérale au chaud et au froid a également été rapportée (Greenspan et al., 2004). Chez l'animal, cette bilatéralité a également été documentée (Roy et al., 2011; Wang and Thompson, 2008). De manière intéressante, dans un modèle d'AVC de type ischémique par occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez la souris, une hyperesthésie bilatérale ainsi qu'une allodynie mécanique uniquement ipsilatérale sont rapportées (Takami et al., 2011).

Une limitation fréquemment observée dans les différentes études tant humaines qu'animales est l'absence de contrôle par rapport à des valeurs de base prises avant l'AVC. Si cette limitation se conçoit complètement pour les études chez l'homme, elle est moins évidente pour les modèles animaux. Ces études comparent souvent un membre par rapport à l'autre ce qui peut biaiser les résultats d'autant plus que l'on sait que la DCPA peut se traduire soit par de l'hyperesthésie, soit par de l'hypoesthésie soit par un seuil de sensibilité inchangé et ce du côté controlatéral ou ipsilatéral à la lésion ou même bilatéralement (Greenspan et al., 2004).

Nous n'avons pas de théorie précise pouvant expliquer pourquoi les animaux de notre étude étaient majoritairement affectés bilatéralement quand cette anomalie ne semble pas faire l'unanimité chez les patients atteints de DCPA. En revanche force est de constater qu'il existe bien un processus bilatéral de traitement de l'information nociceptive chez l'homme (Coghill et al., 1999). Chez le rat, il existe également des projections spinothalamiques bilatérales vers le thalamus qui peuvent être à l'origine des signes bilatéraux (Cliffer et al., 1991; Klevetter and Willis, 1983).

Les noyaux thalamiques intralaminaires regroupent des neurones nociceptifs possédant de larges champs réceptifs bilatéraux (Willis, 2004). Une désinhibition de ces neurones pourrait expliquer la bilatéralité des signes (Willis, 2004). Cette théorie de désinhibition proposée par Craig (1998) suppose qu'une lésion de la voie spinothalamique et donc par exemple des neurones inhibiteurs du thalamus latéral ou de leur fibres de projection vers les noyaux intralaminaires lors d'hémorragie dans le VPL pourrait conduire à la levée de l'inhibition de neurones nociceptifs appartenant notamment au système limbique et jouant un rôle dans la thermorégulation (Craig, 2007).

Une autre hypothèse possible est qu'il existerait un réseau descendant de fibres antinociceptives inhibant ipsilatéralement des neurones spinothalamiques ayant des champs réceptifs bilatéraux et symétriques. Une destruction de ces fibres inhibitrices suite à un AVC, libérerait ces neurones conduisant à des signes bilatéraux (Kim, 1998). Ces hypothèses demeurent cependant spéculatives et nécessiteraient des études additionnelles pour les confirmer ou au contraire les infirmer.

#### Histopathologie et rôle des astrocytes

A la fin de l'étude comportementale, les animaux étaient sacrifiés. Les cerveaux étaient prélevés et fixés dans du formol avant d'être mis en paraffine et coupés en section de 4µm à l'aide d'un microtome. Des colorations à l'Hématoxyline-Éosine (H&E) et au Cresyl Violet étaient réalisées. De l'immunohistochimie pour mettre en évidence le GFAP, marqueur des astrocytes, était également effectuée. L'H&E nous permet de repérer les noyaux et le cytoplasme des différentes cellules. Le Cresyl

Violet colore la substance de Nissl dans le cytoplasme des neurones et permet de mettre en évidence les fibres neuronales et plus particulièrement le neuropile. L'analyse des sections au microscope nous a permis d'observer que chez les animaux ayant reçu l'injection de collagenase, une lésion de petite taille, bien localisée au niveau des noyaux caudaux du thalamus incluant le VPL était présente. Il n'y avait aucune lésion dans le groupe ayant reçu l'injection intrathalamique de saline. Les sections teintées au Cresyl Violet révèlent que dans la zone lésée, il y a une perte importante de substance neuronale. On observe un nombre important de neurones dégénérés ce qui n'est pas le cas en périphérie de la lésion. Enfin l'observation du GFAP révèle la présence de nombreux astrocytes qui semblent réactionnels car très proéminents. Leur nombre est augmenté en périphérie de la lésion suggérant une astrocytose marquée persistante dans le temps à la suite d'une hémorragie intrathalamique.

Wasserman et Koeberle (2009) ont bien caractérisé les changements histopathologiques associés à une hémorragie intrathalamique aux jours 1, 3, et 7 après l'induction de la lésion. Une augmentation dans le temps de l'immunoréactivité pour le GFAP associée à une diminution des cellules positives à la coloration TUNEL (qui met en évidence les cellules apoptotiques) était observée. Après 7 jours, les astrocytes et la microglie formaient une barrière entre le centre nécrotique de l'hématome et les tissus environnants. Ces changements s'observent également dans notre étude après 30 jours, du moins en ce qui concerne les astrocytes puisque la microglie n'a pas été colorée. On sait que les astrocytes jouent un rôle dans le maintien de l'homéostasie dans l'environnement neuronal et au maintien de la concentration cellulaire en glutamate à un niveau faible (Calvino, 2007). Ils possèdent des récepteurs à différents neurotransmetteurs et peuvent eux même sécréter divers messagers chimiques. L'activation des astrocytes suite à des stimuli nociceptifs répétés, provoque des cascades de réactions moléculaires à l'origine de la libération de glutamate ou même de cytokines pro-inflammatoires (IL1, IL6 et TNF $\alpha$ ) (Calvino, 2007). Ces réactions potentialisent la libération de molécules neuroexcitatrices par les neurones et favorisent ainsi la mise en place de boucles de rétrocontrôle positif sur les fibres nociceptives (Calvino, 2007). Ce phénomène entretient donc l'état de sensibilisation centrale et participe ainsi à l'apparition de douleur neuropathique chronique.

On peut donc se demander dans quelles mesures l'activation marquée des astrocytes à la suite d'une hémorragie intrathalamique participe à la mise en place voire au maintien de la DCPA. Des études supplémentaires pour préciser le rôle des astrocytes dans cette condition particulière sont donc nécessaires.

## Effet de la kétamine et implications thérapeutiques

La kétamine est un antagoniste des récepteurs NMDA utilisée pour traiter la douleur neuropathique dans différentes conditions (Backonja et al., 1994; Eide et al., 1995; Felsby et al., 1996). Une fois la première partie de l'étude réalisée, soit l'évaluation comportementale des animaux ayant reçu une injection intrathalamique de collagenase et l'administration orale de véhicule jusqu'au 25ème jour après la chirurgie, nous avons voulu évaluer l'effet de la kétamine administrée par voie intrapéritonéale à différentes doses. Les administrations étaient réalisées à J28, J30 et J32 post chirurgie aux doses de 1, 10 et 25 mg/kg respectivement. Les animaux étaient testés sur les différents tests comportementaux dans la demi-heure qui suivait l'administration. Dans un second temps, la concentration plasmatique à 30 minutes, 1h et 2h après l'administration de kétamine IP à 10 et 25 mg/kg était mesurée par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse. Pour cela, les animaux recevaient l'injection de kétamine à une dose donnée puis étaient placés sous anesthésie gazeuse et des prises de sang jugulaires étaient réalisées aux différents temps pré-cités. Le sang était rapidement centrifugé puis le plasma était recueilli puis congelé pour être analysé par la suite.

Nous avons observé que seule la plus forte dose de kétamine renversait de manière significative l'allodynie mécanique. Cependant cet effet analgésique s'accompagnait d'une altération marquée de la coordination motrice ce qui représente un effet indésirable majeur.

En ce qui concerne la mesure des concentrations plasmatiques, on a pu observer que la concentration minimale effective de kétamine (d'environ 200ng/mL) était atteinte seulement lors de l'administration de la plus haute dose de kétamine soit 25mg/kg. Cette concentration plasmatique est rapportée comme étant la concentration nécessaire pour le traitement de la douleur neuropathique chez l'homme (Wallace et al., 2002). Ceci peut expliquer pourquoi c'est seulement l'administration d'une forte dose de kétamine (25mg/kg) qui a eu un effet sur l'allodynie mécanique. Cependant, il demeure possible qu'une administration répétée de doses plus faibles puisse moduler la plasticité synaptique et soulager la DCPA, ce qui mériterait d'être évalué. Chez l'homme, l'utilisation de kétamine peut conduire au développement de plusieurs effets néfastes. Ces effets en limitent son usage à des fins thérapeutiques et la kétamine ne devrait donc être utilisée qu'en dernier recours pour le traitement de la DCPA.

Ces résultats nous apprennent cependant que les récepteurs NMDA semblent jouer un rôle dans les mécanismes de DCPA puisque leur blocage a permis de soulager l'allodynie mécanique induite par la lésion. Leur rôle reste cependant à préciser. On sait tout de même que ces récepteurs participent à la sensibilisation centrale (Ji et al., 2003). On peut donc supposer que comme pour d'autres conditions douloureuses, la sensibilisation centrale favoriserait le développement de DCPA.

Un excès de glutamate peut avoir des effets neurotoxiques (Kandel and Siegelbaum, 2000). Plus particulièrement, l'activation des récepteurs NMDA peut conduire à une neurotoxicité des systèmes inhibiteurs (interneurones). Cette mort apoptotique a été observée au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière, les cellules les plus concernées par cette apoptose étant les neurones GABA-ergiques dont le rôle inhibiteur est bien connu (Mao et al., 2002). Ces processus neuronaux excitotoxiques conduisent à des remaniements des circuits neuronaux impliqués dans la douleur et sa modulation et favorisent une augmentation de la sensibilité à la douleur (Mao et al., 2002). Cette neuroplasticité provoque des modifications permanentes des voies de la douleur (par mort de certains neurones et dégénérescence d'axones) à l'origine de l'apparition d'états de douleurs chroniques. Ainsi, il est possible que l'apparition de DCPA soit la conséquence d'un mécanisme similaire qui se produirait au niveau cérébral.

#### Effet de la gabapentine et implications thérapeutiques

La gabapentine est communément utilisée pour le traitement de la douleur neuropathique associée à différentes conditions (Attal et al., 1998, Mao and Chen, 2000). C'est pourquoi nous avons souhaité évaluer son effet sur notre modèle de DCPA. Après une première période d'évaluation comportementale pour déterminer si les animaux étaient bien neuropathiques, un groupe de rats (n=8) ayant reçu l'administration de collagenase intrathalamique, recevait une solution de gabapentine par voie orale à la dose de 60mg/kg. Cette dose a été choisie car elle s'était révélée efficace dans des études précédentes chez le rat (Chogtu et al., 2011). Les animaux étaient traités quotidiennement du 15ème au 25ème jour après la chirurgie et les évaluations comportementales avaient lieu à J15, J18, J22 et J25.

Dès le début du traitement, la gabapentine a renversé l'allodynie mécanique bilatérale au point que les animaux traités ne montraient plus de différence avec le groupe Sham.

L'efficacité de la gabapentine sur ce type de neuropathie nous permet de faire des hypothèses sur certains mécanismes pouvant entrer en jeu dans cette condition.

On sait que la gabapentine possède différents mécanismes d'action. Parmi eux, il semble que la fixation à la sous-unité  $\alpha 2\delta$  de canaux calciques voltage dépendants (CavC) soit le plus important pour expliquer la modulation de la douleur neuropathique (Bennett and Simpson, 2004). Cette fixation à cette sous-unité serait responsable de l'effet inhibiteur de la gabapentine sur la libération de glutamate induite par les stimuli nociceptifs (Quintero et al., 2011). Ainsi, la gabapentine préviendrait indirectement la sensibilisation centrale en réduisant notamment l'activité des récepteurs NMDA au glutamate (Bennett and Simpson, 2004;Coderre et al., 2005). La gabapentine serait particulièrement efficace pour

réduire la libération de neurotransmetteurs induite par des stimulations prolongées, situation observée surtout lors d'hyperexcitabilité associée aux états pathologiques produisant de la douleur chronique, et non de manière physiologique (Dooley et al., 2007).

On peut donc supposer que les mécanismes de sensibilisation centrale qui ont lieu lors de DCPA peuvent être bloqués par l'administration de gabapentine.

#### Explications possibles de l'absence d'effet de l'amitriptyline et de la carbamazépine

Nous avons évalué l'efficacité de l'amitriptyline et de la carbamazépine sur notre modèle de douleur centrale. Ces deux médicaments ont en effet démontré une certaine efficacité dans le traitement de certaines conditions de douleur neuropathique (Boyle et al., 2012; Kopsky et al., 2012; Wiffen et al., 2011). Tout comme pour l'évaluation de la gabapentine, les rats ayant reçu la collagenase étaient subdivisés en sous-groupes (n= 8 par drogue). A partir du 15<sup>ème</sup> jour après la chirurgie, ils recevaient quotidiennement une solution orale d'amitriptyline ou de carbamazépine jusqu'à 25 jours post-chirurgie. Les doses administrées étaient 10 mg/kg et 100mg/kg pour l'amitriptyline et la carbamazépine respectivement. Ces doses avaient démontré un effet dans des études préalables chez le rat (Chogtu et al., 2011; Densmore et al., 2010). L'évaluation comportementale était de nouveau réalisée aux jours 15, 18, 22 et 25.

Lors de l'évaluation comportementale, aucun effet significatif de chacun des deux médicaments n'a été noté par comparaison au groupe contrôle qui recevait le véhicule.

En ce qui concerne la carbamazépine, son absence d'effet significatif sur la DCPA avait été rapportée chez l'homme (Leijon and Boivie, 1989) et donc nos résultats semblent concordants avec cette étude. On ne peut cependant exclure que la dose administrée et la durée du traitement n'aient été insuffisantes pour permettre de visualiser un effet de cette molécule.

Au contraire, dans cette même étude par Leijon et Boivie (1989), l'amitriptyline avait montré un effet significatif chez les patients. Un autre rapport de cas de DCPA fait état d'un soulagement de la douleur par l'amitriptyline (Hansson, 2004). Il est possible que dans notre étude, la dose administrée et la durée d'administration n'aient pas permis d'observer un effet bénéfique de cette drogue sur la neuropathie. En effet, chez l'homme, l'amitriptyline est souvent titrée à effet et selon le développement de symptômes indésirables et ce sur plusieurs semaines (Hansson, 2004). De plus, le soulagement partiel rapporté se traduisait par une différence de un point sur l'échelle d'évaluation de la douleur (Leijon and Boivie, 1989). Si cette différence peut être appréciée chez l'homme, elle n'est probablement pas suffisante pour produire des changements significatifs sur nos tests comportementaux chez l'animal.

Des études supplémentaires en augmentant les doses administrées ou en allongeant la durée d'administration en utilisant notre modèle animal, pourraient éventuellement offrir plus d'informations sur l'efficacité réelle de ce médicament sur la DCPA.

#### Limites de l'étude et perspectives à long terme

Notre étude possède certaines limites qu'il convient d'évoquer et de discuter. La DCPA est une douleur neuropathique de type chronique. On qualifie le plus souvent la douleur chronique par une douleur qui perdure depuis au moins plus de 3 mois (Sessle, 2007). Nous avons évalué les animaux sur une période de 1 mois après l'insulte initiale. Ainsi, on ne peut parler de ce modèle de douleur neuropathique comme un modèle de douleur chronique au sens stricte puisqu'il aurait fallu évaluer les animaux pendant 2 mois supplémentaires. Cependant, nos observations sur l'allodynie mécanique et l'allodynie au froid ainsi que la réponse aux différents traitements nous offrent une meilleure idée des mécanismes de la DCPA et font de ce modèle, un moyen tout de même intéressant pour approfondir nos connaissances sur cette condition.

Chez l'homme, certaines études rapportent que la DCPA peut s'exprimer dans l'hémicorps ou juste les extrémités hautes (Greenspan et al., 2004; Vestergaard et al., 1995). Elle peut donc affecter les membres supérieurs. De ce fait, il aurait pu être intéressant d'évaluer également les différents seuils de retraits au niveau des membres antérieurs chez nos animaux.

Notre évaluation de la présence d'allodynie au froid ne nous a pas permis d'obtenir de résultats statistiquement significatifs. Il est possible qu'en utilisant un plus grand nombre d'animaux on puisse obtenir une force statistique plus importante nous permettant ainsi une interprétation plus objective de ces résultats. Le test de la goutte d'acétone évalue la réaction au froid mais dans une gamme de température associée à de la douleur (de l'ordre de quelques degrés). Il ne permet pas d'évaluer la réaction de l'animal au frais (température de l'ordre d'une vingtaine de degrés). Plus précisément, c'est l'évaporation rapide de l'acétone qui donne une sensation de froid sur une courte période seulement. Il est donc possible que ce test ne soit pas suffisamment fiable pour détecter de manière sensible l'allodynie au froid. Nous avons pu observer une résolution de l'allodynie au froid vers la fin de l'étude. Nous n'avons pas d'explication précise de ce phénomène. Il conviendrait d'évaluer ce comportement pour une période plus longue pour pouvoir en tirer une conclusion réelle.

Le test de Hargreave évalue la sensibilité à la chaleur mais également dans une gamme de température associée à de la douleur. On évalue donc la sensibilité au chaud nociceptif.

Chez l'homme, l'hyposensibilité à certains stimuli, en particulier ceux de nature thermique, est un déficit sensoriel fréquemment rapporté lors de DCPA (Greenspan et al., 2004). Malheureusement nos tests ne nous permettent pas de mettre en évidence un tel déficit. En effet, il est difficile d'évaluer chez l'animal des déficits de sensibilité à des températures non nociceptives puisque l'animal ne peut verbaliser ses sensations et nous dire s'il ressent du chaud ou du froid contrairement à l'homme. Ce que l'on évalue réellement chez l'animal, ce sont les réactions stéréotypées suite à l'application d'un stimulus douloureux. On cherche finalement à percevoir une réaction de sa part qui ne s'observera que si la sensation est désagréable et induit un réflexe de retrait.

Lors de l'observation histologique des coupes de cerveaux, nous avons pu observer la réaction astrocytaire marquée au pourtour de la lésion.

Il aurait pu être intéressant d'évaluer également la microglie à l'aide d'un autre type de marquage. En effet, il semble que la microglie participerait au maintien de certaines conditions douloureuses notamment par la synthèse et la libération dans l'espace intercellulaire de molécules pronociceptives (Calvino, 2007). La microglie activée serait notamment responsable de la libération de cytokines proinflammatoires, de prostaglandines, d'acides aminés excitateurs, et de Brain-Derived-Neurotrophic-Factor (BDNF) (De Koninck, 2007). Le BDNF induirait entre autre une modification du gradient de chlore de certains neurones notamment en agissant sur un canal excréteur de chlore le KCC2. Il en résulterait une accumulation de chlore intracellulaire à l'origine d'un gradient de concentration de l'intérieur vers l'extérieur du neurone. Ce phénomène bloquerait l'effet hyperpolarisant inhibiteur du GABA et de la glycine par déplacement du potentiel membranaire vers des valeurs plus négatives. Au contraire, cette accumulation intracellulaire de Cl<sup>-</sup> conduirait à une inversion du flux de cet ion qui au lieu de rentrer dans la cellule en sortirait selon le gradient de concentration. Cet efflux d'ions chlorés chargés négativement à travers les canaux GABA ou glycine dépendant conduit à une dépolarisation membranaire pouvant se traduire par un état excitable du neurone. Ainsi l'action du GABA n'est plus inhibitrice mais au contraire elle est devenue excitatrice (De Koninck, 2007).

C'est par ce mécanisme parmi d'autres que l'activation de la microglie pourrait favoriser l'apparition de douleur centrale et donc il pourrait être intéressant de vouloir la visualiser dans l'étude histopathologique de notre modèle de douleur neuropathique centrale.

Les états de douleur chronique s'accompagnent souvent de dépression (Bair et al., 2003). Une étude utilisant un modèle de douleur neuropathique périphérique chez le rat a révélé qu'un état dépressif pouvait s'observer à la suite de la lésion et semblait persister dans le temps (Wang et al., 2011). Cet état pouvait être renversé à la suite de l'administration d'une seule faible dose de kétamine (10mg/kg) et cet effet persistait dans le temps. Les patients atteints de DCPA semblent également susceptibles de développer de la dépression (Appelros, 2006). Dans notre étude, il aurait été intéressant d'évaluer les animaux pour la présence de dépression. Si les animaux présentaient des signes compatibles avec un état dépressif alors l'effet de la kétamine à faible dose sur la dépression pourrait être également évalué dans ce modèle de douleur neuropathique centrale.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce projet de maîtrise a permis de caractériser les changements comportementaux associés à une hémorragie intrathalamique dans un modèle animal. Il nous a également permis d'évaluer l'efficacité de quatre médicaments fréquemment utilisés pour le traitement de la douleur neuropathique centrale sur notre modèle. L'injection de collagenase dans le VPL thalamique droit produit une hémorragie de petite taille bien localisée au niveau de la zone d'intérêt et provoque chez les animaux, des modifications sensorielles caractéristiques. Ces modifications sont de l'allodynie mécanique bilatérale persistante dans le temps ainsi que de l'allodynie au froid transitoire. Le gabapentin et la kétamine (à forte dose pour cette dernière) peuvent renverser l'allodynie mécanique. Ces résultats nous suggèrent que la douleur centrale post AVC résulterait d'un phénomène complexe à l'origine de déficits sensoriels pouvant s'exprimer bilatéralement et impliquant éventuellement les récepteurs NMDA et la sous-unité  $\alpha 2\delta$  de récepteurs calciques voltages-dépendant. Il en résulterait une modulation anormale de l'information transmise par des mécanorécepteurs et des thermorécepteurs aux centres supérieurs par l'intermédiaire de la voie spinothalamique.

Ce projet pose les bases pour de nombreuses études futures à l'aide de ce modèle animal de la DCPA. Il serait particulièrement intéressant d'employer ce dernier pour évaluer l'efficacité thérapeutique d'autres composés n'appartenant pas nécessairement à la classe des antidépresseurs et anticonvulsivants, voir même d'autres méthodes thérapeutiques non pharmacologiques.

Le rôle des astrocytes et de la microglie dans la mise en place et le maintien de la DCPA mérite également qu'on lui consacre des études supplémentaires pour permettre de mieux préciser son importance.

## Bibliographie

Absher, J.R., 2002. Cerebrovascular disease. In: Ramachandran, V. (Ed.), *Encyclopedia of the Human Brain*. Academic Press, Salt Lake City, 733-757.

Andersen, G., Vestergaard, K., Ingeman-Nielsen, M., Jensen, T.S., 1995. Incidence of central post-stroke pain. *Pain* 61, 187-193.

Appelros, P., 2006. Prevalence and predictors of pain and fatigue after stroke: a population-based study. *International journal of rehabilitation research* 29, 329-333.

Attal, N., Brasseur, L., Parker, F., Chauvin, M., Bouhassira, D., 1998. Effects of gabapentin on the different components of peripheral and central neuropathic pain syndromes: a pilot study. *European Neurology* 40, 191-200.

Backonja, M., Arndt, G., Gombar, K.A., Check, B., Zimmermann, M., 1994. Response of chronic neuropathic pain syndromes to ketamine: a preliminary study. *Pain* 56, 51-57.

Bair, M.J., Robinson, R.L., Katon, W., Kroenke, K., 2003. Depression and pain comorbidity: a literature review. *Archives of internal medicine* 163, 2433-2445.

Balami, J.S., Chen, R.L., Buchan, A.M., 2013. Strokes syndromes and clinical management. *QJM* Published Online, Advanced Access.

Basbaum, A.I., Fields, H.L., 1984. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual review of neuroscience* 7, 309-338.

Basbaum, A.I., Jessell, T.M., 2000. The Perception of Pain. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (Eds.), *Principles Of Neurosciences*. McGraw-Hill Companies, 472-491.

Beaulieu, P., Rice, A.S.C., 2003. Applied Physiology of Nociception. . In: Rowbotham, D.J., Macintyre, P.E. (Eds.), *Clinical Pain Management - Acute Pain*. Arnold Publishers, London, 3-16.

- Bell, R.F., 2009. Ketamine for chronic non-cancer pain. *Pain* 141, 210-214.
- Bennett, G.J., 2000. Update on the neurophysiology of pain transmission and modulation: focus on the NMDA-receptor. *Journal of pain and symptom management* 19, S2-6.
- Bennett, M.I., Simpson, K.H., 2004. Gabapentin in the treatment of neuropathic pain. *Palliative Medicine* 18, 5-11.
- Bittar, R.G., Kar-Purkayastha, I., Owen, S.L., Bear, R.E., Green, A., Wang, S., Aziz, T.Z., 2005. Deep brain stimulation for pain relief: a meta-analysis. *Journal of clinical neuroscience* 12, 515-519.
- Boivie, J., Leijon, G., Johansson, I., 1989. Central post-stroke pain--a study of the mechanisms through analyses of the sensory abnormalities. *Pain* 37, 173-185.
- Bowsher, D., 1996. Central pain: clinical and physiological characteristics. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 61, 62-69.
- Boyle, J., Eriksson, M.E., Gribble, L., Gouni, R., Johnsen, S., Coppini, D.V., Kerr, D., 2012. Randomized, placebo-controlled comparison of amitriptyline, duloxetine, and pregabalin in patients with chronic diabetic peripheral neuropathic pain: impact on pain, polysomnographic sleep, daytime functioning, and quality of life. *Diabetes care* 35, 2451-2458.
- Bridges, D., Thompson, S.W., Rice, A.S., 2001. Mechanisms of neuropathic pain. *British journal of anaesthesia* 87, 12-26.
- Budsberg, S.C., 2005. Pain Management. In: Ettinger, S., Feldman, E.C. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, 22-23.
- Calvino, B., 2007. Interaction Système Nerveux/Système Immunitaire. Institut UPSA Pour la Douleur, Paris.

Canadian Stroke Network. The Quality of Stroke Care in Canada. 2011

Canavero, S., 1996. Bilateral central pain. *Acta neurologica Belgica* 96, 135-136.

Canavero, S., Bonicalzi, V., 2001. Reversible central pain. *Neurological sciences* 22, 271-273.

Casey, K.L., 2007. Pathophysiology of Central Poststroke Pain: The Contribution of Functional Imaging and a Hypothesis. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Post-stroke Pain*. IASP Press, Seattle.

Chaplan, S.R., Bach, F.W., Pogrel, J.W., Chung, J.M., Yaksh, T.L., 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *Journal of Neurosciences Methods* 53, 55-63.

Chauvin, M., 2006. Physiologie et Pharmacologie de la Douleur. In: *Réanimation*, S.F.d.A.e.d. (Ed.), Les Essentiels. Elsevier Masson SAS, 323-334.

Chogtu, B., Bairy, K.L., Smitha, D., Dhar, S., Himabindu, P., 2011. Comparison of the efficacy of carbamazepine, gabapentin and lamotrigine for neuropathic pain in rats. *Indian journal of pharmacology* 43, 596-598.

Choi, Y., Yoon, Y.W., Na, H.S., Kim, S.H., Chung, J.M., 1994. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain* 59, 369-376.

Cliffer, K.D., Burstein, R., Giesler, G.J., Jr., 1991. Distributions of spinothalamic, spinohypothalamic, and spinothalamic fibers revealed by anterograde transport of PHA-L in rats. *Journal of neuroscience* 11, 852-868.

Coderre, T.J., Kumar, N., Lefebvre, C.D., Yu, J.S., 2005. Evidence that gabapentin reduces neuropathic pain by inhibiting the spinal release of glutamate. *Journal of neurochemistry* 94, 1131-1139.

Coghil, R.C., Sang, C.N., Maisog, J.M., Iadarola, M.J., 1999. Pain Intensity Processing Within the Human Brain: A Bilateral, Distributed Mechanism. *Journal of neurophysiology* 82, 1934-1943.

Craig, A.D., 1998. A new version of the thalamic disinhibition hypothesis of central pain. *Pain Forum* 7, 1-14.

Craig, A.D., 2007. Mechanism of thalamic pain. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle.

Curzon, P., Zhang, M., Radek, R.J., Fox, G.B., 2009. The Behavioral Assessment of Sensorimotor Processes in the Mouse: Acoustic Startle, Sensory Gating, Locomotor Activity, Rotarod, and Beam Walking. In: Buccafusco, J.J. (Ed.), *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, Boca Raton (FL).

De Koninck, Y., 2007. Neuroimmune-Mediated Disinhibition: A Potential Mechanism for Central Poststroke Pain. In: Henry, J.L.P., A.; Yashpal, K. (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle.

De Lahunta, A., Glass, E., 2009. Upper Motor Neuron. *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*. Saunders Elsevier, St Louis, Missouri, 192-219.

Dejerine, J., Roussy, G., 1906. Le syndrome thalamique. *Revue neurologique* 14, 521-532.

Demasles, S., Peyron, R., Garcia Larrea, L., Laurent, B., 2008. [Central post-stroke pain]. *Revue neurologique* 164, 825-831.

Densmore, V.S., Kalous, A., Keast, J.R., Osborne, P.B., 2010. Above-level mechanical hyperalgesia in rats develops after incomplete spinal cord injury but not after cord transection, and is reversed by amitriptyline, morphine and gabapentin. *Pain* 151, 184-193.

Dickenson, A.H., Chapman, V., 1997. Neurotransmetteurs et Neuromodulateurs de la Douleur au niveau Spinal. . In: Brasseur, L., Chauvin, M., Guilbaud, G. (Eds.), *Douleurs, bases fondamentales, pharmacologie, douleurs aiguës, douleurs chroniques, thérapeutiques*. Edition Maloine, Paris, 39-45.

Dooley, D.J., Taylor, C.P., Donevan, S., Feltner, D., 2007. Ca<sup>2+</sup> channel alpha2delta ligands: novel modulators of neurotransmission. *Trends in pharmacological sciences* 28, 75-82.

Dostrovsky, J.O., 2007. The Thalamus and Human Pain. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle.

Dunham, N.W., Miya, T.S., 1957. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficits in rats and mice. *The Journal of American Pharmacists Association* 46, 208-209.

Eide, P.K., Stubhaug, A., Stenehjem, A.E., 1995. Central dysesthesia pain after traumatic spinal cord injury is dependent on N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Neurosurgery* 37, 1080-1087.

Felsby, S., Nielsen, J., Arendt-Nielsen, L., Jensen, T.S., 1996. NMDA receptor blockade in chronic neuropathic pain: a comparison of ketamine and magnesium chloride. *Pain* 64, 283-291.

Gardner, E.P., Martin, J.H., T.M., J., 2000. The Bodily Senses. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (Eds.), *Principles of Neural Sciences*. McGraw-Hill Company, 430-450.

Giniès, P., 1999. Généralités. In: Médical, L. (Ed.), *Atlas de La douleur. De la Douleur Imagée à la Prescription Commentée*. Houdé, Paris, 10.

Gonzales, G.R., 1995. Central pain: diagnosis and treatment strategies. *Neurology* 45, S11-16; discussion S35-16.

Gordon, A., 2007. Best Practice Guidelines for Treatment of Central Pain after Stroke. In: James L. Henry, A.P., and Kiran Yashpal (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle, 267-273.

Gorelick, P.B., Shanmugam, V., Pajean A.K., 2007. Stroke. In: Birren, J.E. (Ed.), *Encyclopedia of Gerontology (Second Edition)*. Academic Press. Salt Lake City, 565-574.

- Greenspan, J.D., Ohara, S., Sarlani, E., Lenz, F.A., 2004. Allodynia in patients with post-stroke central pain (CPSP) studied by statistical quantitative sensory testing within individuals. *Pain* 109, 357-366.
- Hahm, T.S., Ahn, H.J., Ryu, S., Gwak, M.S., Choi, S.J., Kim, J.K., Yu, J.M., 2012. Combined carbamazepine and pregabalin therapy in a rat model of neuropathic pain. *British journal of anaesthesia* 109, 968-974.
- Hansen, A.P., Marcussen, N.S., Klit, H., Andersen, G., Finnerup, N.B., Jensen, T.S., 2012. Pain following stroke: a prospective study. *European journal of pain* 16, 1128-1136.
- Hansson, P., 2004. Post-stroke pain case study: clinical characteristics, therapeutic options and long-term follow-up. *European journal of neurology* 11, 22-30.
- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., Joris, J., 1988. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain* 32, 77-88.
- Head, H., Holmes, G., 1911. Researches into sensory disturbances from cerebral lesions. *Brain* 34, 102-254.
- Hellyer, P.W., Robertson, S.A., Fail, A.D., 2007. Pain and Its Management. In: Tranquilli, W.J., Thurmon, J.C., Grimm, K.A. (Eds.), *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*. The Blackwell Publishing, Oxford, 31-55.
- Henry, J.L., 2007. An Animal Model of CPSP. In: James L. Henry, A.P., and Kiran Yashpal (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle, 171-180.
- Holland, C.T., Charles, J.A., Smith, S.H., Cortaville, P.E., 2000. Hemihyperaesthesia and hyperresponsiveness resembling central pain syndrome in a dog with a forebrain oligodendroglioma. *Australian veterinary journal* 78, 676-680.

- Jeanmonod, D., Magnin, M., Morel, A., 1996. Low-threshold calcium spike bursts in the human thalamus. Common physiopathology for sensory, motor and limbic positive symptoms. *Brain* 119 ( Pt 2), 363-375.
- Jensen, T.S., Lenz, F.A., 1995. Central post-stroke pain: a challenge for the scientist and the clinician. *Pain* 61, 161-164.
- Ji, R.R., Kohno, T., Moore, K.A., Woolf, C.J., 2003. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends in neurosciences* 26, 696-705.
- Kandel, E.R., Siegelbaum, S.A., 2000. Synaptic Integration. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (Ed.), *Principles of Neural Sciences*. McGraw-Hills Companies., 207-228.
- Kaur, H., Hota, D., Bhansali, A., Dutta, P., Bansal, D., Chakrabarti, A., 2011. A comparative evaluation of amitriptyline and duloxetine in painful diabetic neuropathy: a randomized, double-blind, cross-over clinical trial. *Diabetes care* 34, 818-822.
- Kim, J.H., Greenspan, J.D., Coghill, R.C., Ohara, S., Lenz, F.A., 2007. Lesions limited to the human thalamic principal somatosensory nucleus (ventral caudal) are associated with loss of cold sensations and central pain. *The Journal of neuroscience* 27, 4995-5004.
- Kim, J.S., 1998. Delayed-onset ipsilateral sensory symptoms in patients with central poststroke pain. *European Neurology* 40, 201-206.
- Kleveland, A.G., Willis, W.D., 1983. Collaterals of Spinothalamic Cells in Rats. *Journal of Comparative Neurology* 215, 453-464.
- Klit, H., Finnerup, N.B., Andersen, G., Jensen, T.S., 2011. Central poststroke pain: a population-based study. *Pain* 152, 818-824.

Klit, H., Finnerup, N.B., Jensen, T.S., 2007. Clinical Characteristics of Central Poststroke Pain. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain : Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle 27-41.

Klit, H., Finnerup, N.B., Jensen, T.S., 2009. Central post-stroke pain: clinical characteristics, pathophysiology, and management. *Lancet Neurology* 8, 857-868.

Kopsky, D.J., Liebrechts, R., Keppel Hesselink, J.M., 2012. Central neuropathic pain in a patient with multiple sclerosis treated successfully with topical amitriptyline. *Case reports in medicine* 2012, 471835.

Kohrs, R., Durieux, M.E., 1998. Ketamine: Teaching an Old Drug New Tricks. *Anesthesia Analgesia* 87, 1186-1193.

Kumar, B., Kalita, J., Kumar, G., Misra, U.K., 2009. Central poststroke pain: a review of pathophysiology and treatment. *Anesthesia and analgesia* 108, 1645-1657.

Kumar, G., Soni, C.R., 2009. Central post-stroke pain: current evidence. *Journal of the neurological sciences* 284, 10-17.

LaBuda, C.J., Cutler, T.D., Dougherty, P.M., Fuchs, P.N., 2000. Mechanical and thermal hypersensitivity develops following kainate lesion of the ventral posterior lateral thalamus in rats. *Neuroscience Letters* 290, 79-83.

Lampl, C., Yazdi, K., Roper, C., 2002. Amitriptyline in the Prophylaxis of Central Poststroke Pain: Preliminary Results of 39 Patients in a Placebo-Controlled, Long-Term Study. *Stroke* 33, 3030-3032.

Leijon, G., Boivie, J., 1989. Central post-stroke pain--a controlled trial of amitriptyline and carbamazepine. *Pain* 36, 27-36.

Leijon, G., Boivie, J., Johansson, I., 1989. Central post-stroke pain--neurological symptoms and pain characteristics. *Pain* 36, 13-25.

- Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R., 1989. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 20, 84-91.
- Leung, A., Wallace, M.S., Ridgeway, B., Yaksh, T., 2001. Concentration-effect relationship of intravenous alfentanil and ketamine on peripheral neurosensory thresholds, allodynia and hyperalgesia of neuropathic pain. *Pain* 91, 177-187.
- MacGowan, D.J., Janal, M.N., Clark, W.C., Wharton, R.N., Lazar, R.M., Sacco, R.L., Mohr, J.P., 1997. Central poststroke pain and Wallenberg's lateral medullary infarction: frequency, character, and determinants in 63 patients. *Neurology* 49, 120-125.
- Mackay, J., Mensah, G., 2004. The Global Burden of Stroke. In: *The Atlas of Heart Disease and Stroke*. World Health Association in collaboration with the Center for Disease Control and Prevention, 50-51.
- MacLellan, C.L., Paquette, R., Colbourne, F., 2012. A critical appraisal of experimental intracerebral hemorrhage research. *Journal of cerebral blood flow and metabolism* 32, 612-627.
- Mao, J., Chen, L.L., 2000. Gabapentin in pain management. *Anesthesia and analgesia* 91, 680-687.
- Mao, J., Sung, B., Ji, R.R., Lim, G., 2002. Neuronal apoptosis associated with morphine tolerance: evidence for an opioid-induced neurotoxic mechanism. *The Journal of neuroscience* 22, 7650-7661.
- Marchand, S., 2005. Neurophysiologie de la douleur. In: Beaulieu, P. (Ed.), *Pharmacologie de la Douleur*. Les Presses de l'Université de Montreal, Montréal, 3-37.
- McQuay, H., Carroll, D., Jadad, A.R., Wiffen, P., Moore, A., 1995. Anticonvulsant drugs for management of pain: a systematic review. *Bmj* 311, 1047-1052.
- Melzack R., Wall P.D., 1965. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 150, 971-979.

Merskey, H., Bogduk, N., 1994. Classification of Chronic Pain: Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definition of Terms. IASP Press, Seattle.

Millan, M.J., 1999. The induction of pain : An Integrative Review. *Progress in Neurobiology* 57, 1-164.

Mishra, S., Bhatnagar, S., Goyal, G.N., Rana, S.P., Upadhya, S.P., 2012. A comparative efficacy of amitriptyline, gabapentin, and pregabalin in neuropathic cancer pain: a prospective randomized double-blind placebo-controlled study. *The American journal of hospice & palliative care* 29, 177-182.

Mogil, J.S., 2009. Animal models of pain: progress and challenges. *Nature Reviews Neuroscience* 10, 283-294.

Netter F.H., 2007. Le thalamus. In : Rubin M. Safdieh J.E. (Ed.) *Netter`s Concise Neuroanatomy* . Sanders. 140.

Paciaroni, M., Bogousslavsky, J., 1998. Pure sensory syndromes in thalamic stroke. *European Neurology* 39, 211-217.

Panju, A., 2007. Brief historical aspects of central poststroke pain and a case history of a patient suffering from this condition. In: Henry, J.L., Panju A, Yaspal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle, 7-12.

Pineyro, G., Azzi, M., 2005. Pharmacologie des antidépresseurs et des anticonvulsivants. In: Beaulieu, P. (Ed.), *Pharmacologie de la Douleur*. Les Presses de l'Université de Montreal, Montréal, 213-234.

Pirotte, B., Voordecker, P., Baleriaux, D., Wikler, D., Levivier, M., 2007. Motor Cortex Stimulation in Central Poststroke Pain. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain: Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle, 237-248.

Platt, S.R., Garosi, L., 2003. Canine Cerebrovascular Disease: Do Dogs Have Strokes. *Journal of the American Animal Hospital Association* 39, 337-342.

Plumb, D.C., 2011. *Plumb's Veterinary Drugs Handbook*, 7th ed. PharmaVet Inc., Stockholm, WI.

Price, D.D., 2000. Psychological and Neural Mechanisms of the Affective Dimension of Pain. *Science* 288, 1769-1772

Quintero, J.E., Dooley, D.J., Pomerleau, F., Huettl, P., Gerhardt, G.A., 2011. Amperometric measurement of glutamate release modulation by gabapentin and pregabalin in rat neocortical slices: role of voltage-sensitive Ca<sup>2+</sup> alpha2delta-1 subunit. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 338, 240-245.

Rosenberg, G.A., Mun-Bryce, S., Wesley, M., Kornfeld, M., 1990. Collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 21, 801-807.

Rosenberg, G.A., Navratil, M.J., 1994. (S)-emopamil reduces brain edema from collagenase-induced hemorrhage in rats. *Stroke* 25, 2067-2071.

Roy, G., Lema, P., Vachon, P., 2011. Central pain following a collagenase-induced hematoma in the basal ganglia and thalamus can be reversed with gabapentin. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 38, 157-165.

Rusbridge, C., Jeffery, N.D., 2008. Pathophysiology and treatment of neuropathic pain associated with syringomyelia. *Veterinary journal* 175, 164-172.

Sessle, B.J., 2007. Mechanisms of Pain. In: Henry JL, P.A., Yashpal K (Ed.), *Central Neuropathic Pain : Focus on Poststroke Pain*. IASP Press, Seattle, 67-79.

Sinar, E.J., Mendelow, A.D., Graham, D.I., Teasdale, G.M., 1987. Experimental intracerebral hemorrhage: effects of a temporary mass lesion. *Journal of neurosurgery* 66, 568-576.

Siniscalchi, A., Gallelli, L., De Sarro, G., Malferrari, G., Santangelo, E., 2012. Antiepileptic drugs for central post-stroke pain management. *Pharmacological research* 65, 171-175.

Stein, C., Clark, J.D., Oh, U., Vasko, M.R., Wilcox, G.L., Overland, A.C., Vanderah, T.W., Spencer, R.H., 2009. Peripheral mechanisms of pain and analgesia. *Brain research reviews* 60, 90-113.

Takami, K., Fujita-Hamabe, W., Harada, S., Tokuyama, S., 2011. Abeta and Adelta but not C-fibres are involved in stroke related pain and allodynia: an experimental study in mice. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 63, 452-456.

Truelsen, T., Piechowski-Jozwiak, B., Bonita, R., Mathers, C., Bogousslavsky, J., Boysen, G., 2006. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data. *European journal of neurology* 13, 581-598.

Vestergaard, K., Nielsen, J., Andersen, G., Ingeman-Nielsen, M., Arendt-Nielsen, L., Jensen, T.S., 1995. Sensory abnormalities in consecutive, unselected patients with central post-stroke pain. *Pain* 61, 177-186.

Vick, P.G., Lamer, T.J., 2001. Treatment of central post-stroke pain with oral ketamine. *Pain* 92, 311-313.

Wagner, K.R., Xi, G., Hua, Y., Kleinholz, M., de Courten-Myers, G.M., Myers, R.E., Broderick, J.P., Brott, T.G., 1996. Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: rapid edema development in perihematomal white matter. *Stroke* 27, 490-497.

Walczack, J.S., Beaulieu, P., 2005. Nouvelles approches pharmacologiques dans le traitement de la douleur. In: Beaulieu, P. (Ed.), *Pharmacologie de la douleur*. Les Presses de l'Université de Montréal, Montréal, 236-279.

Wallace, M.S., Ridgeway, B.I., Leung, A., Schulteis, G., Yaksh, T.L., 2002. Concentration-Effect Relationships for Intravenous Alfentanil and Ketamine Infusions in Human Volunteers: Effects on Acute Thresholds and Capsaicin-Evoked Hyperpathia. *Journal of Clinical Pharmacology* 42, 70-80.

Wang, G., Thompson, S.M., 2008. Maladaptive homeostatic plasticity in a rodent model of central pain syndrome: thalamic hyperexcitability after spinothalamic tract lesions. *The Journal of neuroscience* 28, 11959-11969.

Wang, J., Goffer, Y., Xu, D., Tukey, D.S., Shamir, D.B., Eberle, S.E., Zou, A.H., Blanck, T.J., Ziff, E.B., 2011. A single subanesthetic dose of ketamine relieves depression-like behaviors induced by neuropathic pain in rats. *Anesthesiology* 115, 812-821.

Wasner, G., 2010. Central pain syndromes. *Current pain and headache reports* 14, 489-496.

Wasserman, J.K., Koeberle, P.D., 2009. Development and characterization of a hemorrhagic rat model of central post-stroke pain. *Neuroscience* 161, 173-183.

Wiffen, P.J., Derry, S., Moore, R.A., McQuay, H.J., 2011. Carbamazepine for acute and chronic pain in adults. *Cochrane database of systematic reviews*, CD005451.

Wilder-Smith, O.H., Arendt-Nielsen, L., 2006. Postoperative hyperalgesia: its clinical importance and relevance. *Anesthesiology* 104, 601-607.

Willis, W.D., 2004. Spinothalamocortical Processing of Pain. In: Villanueva L, D.A., Ollat H (Ed.), *The Pain System in Normal and Pathological States : A primer for Clinicians, Progress in Pain Research and Management*. IASP Press, Seattle, 155-174.

Woolf, C.J., Mannion, R.J., 1999. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms and management. *The Lancet* 353, 1959-1964.

Yamamoto, T., Katayama, Y., Hirayama, T., Tsubokawa, T., 1997. Pharmacological classification of central post-stroke pain: comparison with the results of chronic motor cortex stimulation therapy. *Pain* 72, 5-12.

**Sources internet**

- TCA action : CNS Forum. Consulté le 5 mai 2013.

[http://www.cnsforum.com/imagebank/item/Drug\\_MOAI\\_norm/default.aspx](http://www.cnsforum.com/imagebank/item/Drug_MOAI_norm/default.aspx)

