



HAL
open science

Pharmacologie comparée des anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme et les carnivores domestiques dans le traitement de la douleur arthrosique

Florian Debaene

► **To cite this version:**

Florian Debaene. Pharmacologie comparée des anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme et les carnivores domestiques dans le traitement de la douleur arthrosique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03876207

HAL Id: dumas-03876207

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03876207>

Submitted on 13 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 085

**PHARMACOLOGIE COMPARÉE DES ANTICORPS
MONOCLONAUX ANTI-NGF CHEZ L'HOMME ET LES
CARNIVORES DOMESTIQUES DANS LE TRAITEMENT DE
LA DOULEUR ARTHROSIQUE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 4 novembre 2022
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

DEBAENE Florian

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 085

**PHARMACOLOGIE COMPARÉE DES ANTICORPS
MONOCLONAUX ANTI-NGF CHEZ L'HOMME ET LES
CARNIVORES DOMESTIQUES DANS LE TRAITEMENT DE
LA DOULEUR ARTHROSIQUE**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 4 novembre 2022
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

DEBAENE Florian

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (14-09-2022)

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Dr	BECKER	Claire	Maître de conférences
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHAMEL	Gabriel	Maître de conférences
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Dr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Maître de conférences
Pr	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur
Pr	PONCE	Frédérique	Professeur
Pr	PORTIER	Karine	Professeur
Dr	POUZOT-NEVORET	Céline	Maître de conférences
Pr	PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr	REMY	Denise	Professeur
Dr	RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences

Pr ROGER	Thierry	Professeur
Dr SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Pr VIGUIER	Eric	Professeur
Dr VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Chargé d'enseignement contractuel
Pr ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements jury

À Monsieur le Professeur François MION,

De l'UFR médecine Lyon Est Claude Bernard, m'ayant fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse. Pour sa bienveillance et sa très grande réactivité, mes hommages les plus respectueux.

À Monsieur le Docteur Stéphane JUNOT,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon, qui m'a fait l'honneur de juger ce travail et de participer à ce jury de thèse. Pour sa disponibilité et son dévouement en temps et en heure, qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus sincère.

À Madame le Docteur Vanessa LOUZIER,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon, pour m'avoir soutenue le long de ce projet, pour m'avoir guidée dans l'organisation et la rédaction de cette étude, pour son investissement en temps et en travail, vous trouverez ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Table des matières

Table des figures	11
Table des tableaux.....	13
Liste des abréviations.....	15
Introduction.....	17
Partie I : Implication du Nerve Growth Factor dans la physiopathologie de la douleur arthrosique chez l'homme, le chien et le chat.....	19
1) Généralités sur le NGF (Nerve growth factor)	20
2) Définition de la douleur et ses différentes origines.....	22
3) Voies nerveuses, inflammation, NGF et douleur arthrosique	23
4) L'action du NGF sur le système nerveux	27
Partie II : Les anticorps monoclonaux anti-NGF, de la conception À la production	35
1) Structure et fonctionnement des anticorps monoclonaux	36
2) Fabrication d'un anticorps monoclonal de rat anti-NGF de souris.....	38
3) Fabrication d'anticorps anti-NGF « caninisés » et « félinisés »	41
4) Fabrication d'un anticorps monoclonal anti-NGF humain : le Tanézumab	44
Partie III : Étude pharmacocinétique du bedinvetmab, du frunvetmab et du tanezumab ...	47
1) Généralités sur la thérapeutique par les anticorps monoclonaux	48
2) Absorption.....	48
3) Distribution	50
4) Élimination	53
5) Variabilités interindividuelles.....	56
Partie IV : Pharmacodynamique, résultats cliniques et sécurité des anticorps monoclonaux	61
1) Attentes et généralités	62
2) Les grilles d'évaluation de la douleur.....	63
A) La grille CBPI (Canine Brief Pain Inventory).....	63
b) La grille LOAD (Liverpool Osteoarthritis in Dogs)	65
c) La grille CSOM (Client Specific Outcome Measures)	67
d) Le FMPI (Feline Musculoskeletal Pain Index)	68
e) La grille WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index)	73
3) Efficacité des différents anticorps anti-NGF	75
a) Efficacité du bedinvetmab et du ranevetmab	75
b) Efficacité du frunvetmab	79
c) Efficacité comparée du tanezumab, du fasinumab et du fulranumab	83
4) Sécurité comparé des anticorps anti-NGF	85

a) L'immunogénicité	85
b) Effets indésirables.....	86
Partie V : Discussion	91
1) Tableau récapitulatif	92
2) Discussion sur l'efficacité du frunvetmab	93
3) Les effets secondaires chez le chien et le chat difficile à évaluer par rapport à l'homme ..	93
4) Discussion sur le prix du bedinvetmab	94
Conclusion	95
Bibliographie	96
Annexe.....	106

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de la protéine NGF

Figure 2 : Importance du NGF dans l'inflammation et la douleur lors de lésions arthrosiques

Figure 3 : NGF et sensibilisation du système nerveux central (Mantyh *et al.*, 2011)

Figure 4 : Modifications d'une synapse de la corne dorsale après endocytose du complexe NGF/TrkA (Mantyh *et al.*, 2011)

Figure 5 : Structure d'un anticorps inspiré de (Immcarle70, 2018) License Creative Commons

Figure 6 : Fabrication d'anticorps monoclonaux de rat anti-NGF de souris (Debaene Florian)

Figure 7 : Séquences d'anticorps NGF et anti-NGF (Gearing *et al.*, 2016)

Figure 8 : Protection des molécules d'immunoglobuline G (IgG) contre la dégradation lysosomale par la voie de récupération du récepteur de la fraction constante néonatal (FcRn) des IgG (Ryman and Meibohm, 2017) license CC-BY

Figure 9 : grille CBPI (Canine Brief Pain Inventory)

Figure : Graphique du changement moyen (activité moyenne de la dernière semaine moins la ligne de référence) du nombre d'activités par minute pour chaque heure de la journée dans le groupe bedinvetmab (ligne pointillée) et le groupe placebo (ligne continue) (Lascelles *et al.*, 2015)

Figure : Pourcentage de chiens souffrant d'arthrose ayant reçu du bedinvetmab (groupe bedinvetmab, $n = 89$) par injection mensuelle sous-cutanée pendant 9 mois, inclus dans les phases comparatives et de continuation de l'étude, et ont été classés par les propriétaires comme ayant un « mauvais », « passable », « bon », « très bon » ou « excellent » état global de qualité de vie (QoL) sur l'évaluation CBPI (Corral *et al.*, 2021)

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : L'impact des covariables sur le paramètre pharmacocinétique du tanezumab correspondant (Jonsson *et al.*, 2016)

Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la pharmacodynamique des différents anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme, le chien et le chat

Tableau 3 : Tableau comparatif des prix du librella et des AINS classiquement utilisés pour le traitement de la douleur arthrosique selon la posologie conseiller dans le RCP (prix de vente de Vetagro-sup)

LISTE DES ABREVIATIONS

ADA = Anti-Drug Antibodies

ADCC = Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

AINS = Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

ADNc = Acide DésoxyriboNucléique complémentaire

ARNm = Acide RiboNucléique messenger

ASIC = Acid-Sensing Ion Channel

ATP = Adénosine Tri Phosphate

BDNF = Brain Derived Nerve Factor = Facteur neurotrophique dérivé du cerveau

BHE= barrière hémato-encéphalique

CBPI = Canine Brief Pain Inventory

CDRs = Complementarity-Determining Regions = région déterminant la complémentarité

CHO = Ovaire de Hamster Chinois (Chinese Hamster Ovary)

COXIB = inhibiteur de cyclo-oxygénase 2

CRPG = Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) = peptide relié au gène calcitonine

CSOM = Client Specific Outcome Measures

DAMP = Damage-Associated Molecular Patterns (molécules associées aux dommages cellulaires)

DHFR = dihydrofolate réductase

ES = Effect Size

Fc = Fraction Constante (d'un anticorps)

FcRn = récepteur néonatal de la fraction constant

FDA = Food and Drug Administration

FMPI = Feline Musculoskeletal Pain Index

HGPRT = Hypoxanthine-Guanine-PhosphoRibosylTransférase

IASP = International Association for the Study of Pain (Association Internationale sur l'étude de la Douleur)

Ig = Immunoglobuline

l'IL-1 β = Interleukine 1 β

KD = constante de dissociation d'équilibre

LOAD = Liverpool Osteoarthritis in Dogs

LSM = Library Scanning Mutagenesis

MIA= mono-iodoacetate

NGF = Nerve Growth Factor (facteur de croissance nerveuse)

PCR = Polymerase Chain Reaction

PRRs = Pattern Recognizing Receptor (Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires)

RCP = Résumé Caractéristiques Produit

RPOA = Rapidly Progressive Osteoarthritis

SDMA = diméthylarginine symétrique

SNC = Système Nerveux Central

SP = substance P

TMDD = target-mediated drug disposition

TrkA = Tropomyosine récepteur kinase A

TRPV1 = Transient Receptor Potential Vanilloïd 1 (recepteur polymodal de transition de potentiel à la vanilloïd)

WOMAC = Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index

INTRODUCTION

Que ce soit chez l'homme ou les carnivores domestiques comme le chien et le chat, l'arthrose est une affection particulièrement courante notamment en gériatrie. Elle se définit par « une maladie articulaire dégénérative qui résulte de la dégradation du cartilage articulaire et de l'os sous chondral » (Arden *et al.*, 2015). Chez l'Homme l'arthrose touche une personne sur trois de plus de 65 ans et plus particulièrement les femmes (Hawker, 2019). Chez le chien une étude au Royaume-Uni a rapporté que la prévalence annuelle de chiens arthrosiques est de 2.5% soit environ 200 000 chiens au Royaume-Uni en 2017 (Anderson *et al.*, 2018). Chez le chat il a été montré (sur 100 individus) que 61% des chats de plus de 6 ans présentaient des signes radiographiques d'arthrose (Slingerland *et al.*, 2011). L'importance des lésions arthrosiques n'est pas forcément corrélée à la douleur ressentie par le patient. On peut cependant imaginer que cette douleur arthrosique reste d'importance majeure en gériatrie.

L'arthrose est bien entendu une maladie liée à l'âge de par son caractère dégénératif quel que soit l'espèce. De même, dans toutes les espèces mais en particulier chez l'homme, les principaux facteurs de risques de l'arthrose sont l'obésité et la sédentarité (Hawker, 2019). A ceux-ci on peut ajouter chez le chien, la prédisposition raciale (labrador, berger allemand etc...) et les dysplasies congénitales (King, 2017). Aucune preuve d'étiologie raciale n'a été démontrée chez le chat.

Même si l'arthrose n'engage pas le pronostic vital cela reste une maladie qui diminue la qualité de vie des individus atteints, notamment à cause de la douleur et la limitation de mouvement associée. Chez les carnivores domestiques cette affection a des conséquences également chez les propriétaires des animaux atteints et elle peut devenir un motif d'euthanasie. Il a été montré chez le chien qu'elle réduisait la durée de vie des individus atteints de 11,4% (Anderson *et al.*, 2018). Cela montre l'importance de la diminution du bien-être animal chez nos carnivores domestique et laisse imaginer les conséquences physiques et psychologiques que l'arthrose entraîne chez l'homme. Chez l'homme, l'arthrose est souvent associée à d'autres maladies chroniques du fait de la sédentarité qu'elle oblige : 59 à 87 % des personnes atteintes d'arthrose ont au moins une autre maladie chronique, en particulier une maladie cardiaque. L'arthrose, lorsqu'elle est symptomatique, peut altérer la capacité des personnes atteintes de troubles cardiaques à faire de l'exercice et à perdre du poids, entraînant un cercle vicieux et un risque accru de complications et d'échecs thérapeutiques (Hawker, 2019).

L'enjeu principal de l'arthrose est son traitement mais à l'heure actuelle aucune technique ne permet de reconstruire le cartilage dégradé. Le traitement de choix actuellement chez l'homme est la prothèse articulaire. Celle-ci a de très bons résultats puisque 95% des prothèses totales de hanche permettent de restaurer la fonctionnalité de la hanche et de retrouver une mobilité indolore (contre 57% pour le genou). Les inconvénients de cette chirurgie sont la luxation de la prothèse (2 %), le risque infectieux (1 % jusqu'à la dixième année et augmente au-delà jusqu'à 2 à 3 %). Ces prothèses sont conçues pour durer 20 ans ou plus mais leur durée de vie peut être limitée par l'usure (Hernigou, 2018). De plus l'incidence d'évènements thrombo-emboliques reste relativement élevée après la pose d'une prothèse totale de hanche et donc l'incidence d'accident vasculaire cérébral aussi. En effet une étude de 2012 a montré que le taux de thrombo-embolie veineuse symptomatique était

de 1/200 après une chirurgie de prothèse totale de hanche (Januel et al., 2012). A tout cela s'ajoute un autre problème chez les carnivores domestique : le prix. Chez l'homme la chirurgie d'une prothèse de hanche coûte entre 10 000 et 20 000 euros, chez le chien elle coûte entre 1000 et 3000 euros. Ce prix qui peut paraître bien moins important chez le chien par rapport à l'homme n'est cependant pas négligeable pour les propriétaires. Il explique la nécessité de trouver d'autres pistes thérapeutiques.

Ne pouvant pas traiter la cause de la maladie l'objectif des traitements actuels consiste à limiter ses symptômes et notamment à réduire la douleur. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont longtemps été utilisés pour diminuer l'inflammation et les symptômes de douleur arthrosique mais leurs effets secondaires importants (gastro-intestinaux et infarctus du myocarde chez l'homme) ne permettent pas de les utiliser sur le long terme. Les AINS sélectifs de la cyclo-oxygénase 2 ont montré leur intérêt en diminuant significativement ces effets secondaires (Chen *et al.*, 2008) et sont donc beaucoup plus utilisés. Malgré tout, leur efficacité à long terme reste controversée (Bae *et al.*, 2003).

Les progrès de l'immunothérapie grâce notamment à l'utilisation d'anticorps monoclonaux, ont ouvert la voie à de nouvelles stratégies thérapeutiques dans de nombreux domaines (dermatologie, rhumatologie, etc...) et notamment dans la gestion de la douleur arthrosique. En effet les anticorps anti-NGF comme le tanézumab (Pfizer) et le fulranumab (Janssen) semblent avoir des résultats cliniques prometteurs chez l'homme pour diminuer la douleur arthrosique sans effets secondaires. Plus récemment, ces médicaments ont été mis sur le marché pour les carnivores domestiques. Ainsi en 2020 le bedinvetmab (Librelva ND), un anticorps anti-NGF pour chiens est mis sur le marché et en 2021 c'est au tour du frunévetmab (Solensia) un anticorps anti-NGF pour chats. Ces deux produits aux résultats cliniques particulièrement intéressants, nous ont conduit à nous intéresser de plus près à cette nouvelle stratégie thérapeutique anti-arthrosique.

Ce document a pour objectif de faire une revue bibliographique de l'intérêt des anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme, le chien et le chat, de décrire leur pharmacologie et de comparer leur efficacité par rapport aux traitements actuels.

Ainsi après un rappel sur le rôle du NGF dans la douleur arthrosique nous allons expliquer comment sont produits les anticorps monoclonaux et comparer leur pharmacologie et efficacité chez l'homme, le chien et le chat.

**PARTIE I : IMPLICATION DU NERVE GROWTH FACTOR DANS LA
PHYSIOPATHOLOGIE DE LA DOULEUR ARTHROSIQUE CHEZ
L'HOMME, LE CHIEN ET LE CHAT**

1) Généralités sur le NGF (Nerve growth factor)

Le NGF est un complexe protéique de 130kDa composé de 3 sous unités Alpha-NGF, Beta-NGF et Gamma-NGF (figure 1). En réalité, ce qu'on appelle NGF n'est que la sous unité bêta de 26kDa qui est la seule unité active. Il a été découvert et isolé pour la première fois en 1936 par Rita Levi-Montalcini et Stanley Cohen, ce qui leur a valu un prix Nobel en 1986. Depuis, le NGF a énormément été étudié, ce qui a permis la découverte de son rôle dans le développement embryonnaire, la modulation immunitaire et la douleur. Le NGF fait partie d'une famille de molécules appelées les neurotrophines. Ce sont des protéines d'environ 12,5 kDa qui forment des homodimères étroitement liés. Ces protéines ligand ont pour fonction principale de réguler le maintien, le fonctionnement et le développement des neurones sensoriels et sympathiques.

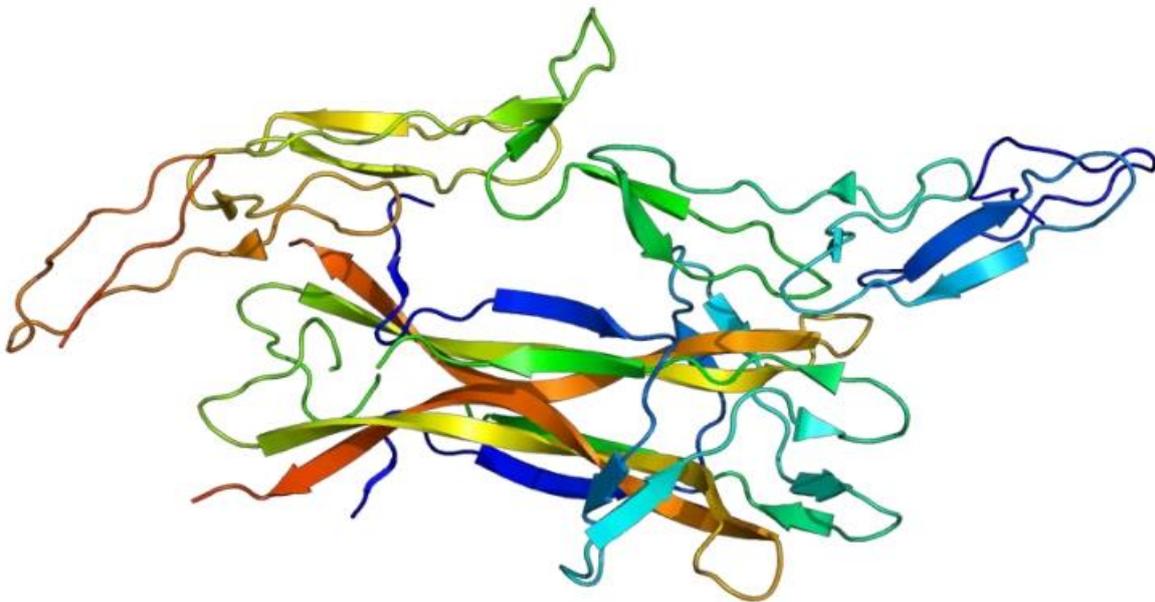


Figure 1 : Structure tridimensionnelle de la protéine NGF

Légende : Les flèches indiquent le sens de lecture N- COOH de la protéine

Source : (Emw, 2009)

Le NGF possède un récepteur spécifique le récepteur Tropolymyosine kinase A (TrkA tropomyosine receptor) et un récepteur non spécifique p75 qui lui peut se lier à toutes les neurotrophines (Mantyh *et al.*, 2011). Ces deux récepteurs sont des protéines membranaires. Le NGF via son récepteur TrkA jouent un rôle essentiel dans le développement du système nerveux périphérique en favorisant la croissance et la survie de certaines cellules dérivées de la crête neurale dans les embryons en développement, en particulier si ces cellules sont des précurseurs de neurones sensoriels et sympathiques. Il a été montré que des mutations sélectives des gènes NGF ou TrkA provoquaient une insensibilité congénitale à la douleur chez l'homme et une perte des comportements considérés comme douloureux selon l'expérimentateur chez les souris génétiquement modifiées. L'insensibilité congénitale à la douleur avec anhidrose chez l'homme en est l'illustration. C'est une maladie génétique liée à

une mutation du gène de la protéine TrkA la rendant inactive. Généralement les personnes atteintes ont une proprioception normale, une sensation normale à une pression inoffensive mais une incapacité à ressentir la douleur et la température, ainsi qu'une transpiration diminuée ou absente. De même, Mantyh *et al* ont montré que des souris génétiquement modifiées dépourvues du gène NGF ou TrkA naissaient avec une absence pratiquement totale de neurones sensoriels primaires de petit calibre (responsable de la douleur). Elles étaient donc profondément insensibles aux stimuli nociceptifs. (Mantyh *et al.*, 2011)

Le NGF a suscité également un intérêt dans la recherche sur les maladies du système nerveux comme la maladie d'Alzheimer. Des études chez le rat ont démontré que le NGF était capable de favoriser la survie des neurones cholinergiques du cerveau antérieur basal, connus pour dégénérer dans les troubles liés à l'âge (Fischer *et al.*, 1987). Malheureusement les essais cliniques d'injection intracérébral de NGF n'ont pas été concluants pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (Tuszynski *et al.*, 2005).

Fait amusant, des études chez l'homme ont même montré que certaines caractéristiques comportementales comme la passion irrationnelle associées au début d'une relation amoureuse pouvaient être liées à une augmentation de la concentration plasmatique de NGF. Cette concentration était doublée lors de la première année de la relation amoureuse avant de revenir ensuite à son taux initial, ce qui n'était pas le cas des autres neurotrophines (Emanuele *et al.*, 2006).

Outre leur action sur le système nerveux, le NGF et son récepteur TrkA sont exprimés par de nombreux tissus de l'œil. Il a été démontré que le NGF en application topique dans l'œil améliorait les symptômes des maladies neurodégénératives oculaires, comme le glaucome et la kératite neurotrophique chez l'homme (Wang *et al.*, 2014). L'administration topique de NGF dans les yeux améliorait également la libération des larmes chez les humains et les bouledogues souffrant de sécheresse oculaire (Luigi *et al.*, 2015).

Enfin, il a été montré que le NGF améliorerait la cicatrisation des tissus (ulcères cutanés et cornéens) ainsi que les symptômes de cardiomyopathie et de l'ischémie myocardique (Enomoto *et al.*, 2019).

On comprend pourquoi, du fait de son rôle dans le système nerveux sensoriel et ses nombreuses autres applications, le NGF a été identifié comme cible potentielle dans la prise en charge de la douleur.

2) Définition de la douleur et ses différentes origines

Pour comprendre d'où vient la douleur arthrosique et le rôle du NGF dans celle-ci, il faut tout d'abord comprendre ce qu'est réellement la douleur et son évaluation. L'IASP (International Association for the Study of Pain) a récemment renouvelé sa définition de la douleur. En effet, en septembre 2020, l'IASP parlait de la douleur comme d'« Une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée ou ressemblant à celle associée à des lésions tissulaires réelles ou potentielles » (Raja *et al.*, 2020). Cette définition est accompagnée de six points ajoutant certaines précisions :

- La douleur est toujours une expérience personnelle qui est influencée à des degrés divers par des facteurs biologiques, psychologiques et sociaux.
- La douleur et la nociception sont des phénomènes différents. La douleur ne peut être déduite uniquement de l'activité des neurones sensoriels.
- À travers leurs expériences de vie, les individus apprennent le concept de la douleur.
- Le rapport d'une personne sur une expérience de douleur doit être respecté.
- Bien que la douleur joue généralement un rôle d'adaptation, elle peut avoir des effets négatifs sur le fonctionnement et le bien-être social et psychologique.
- La description verbale n'est qu'un des nombreux comportements permettant d'exprimer la douleur ; l'incapacité à communiquer n'exclut pas la possibilité qu'un être humain ou un animal non humain éprouve de la douleur.

En d'autres termes cette sensation douloureuse peut être produite par une altération physique observable comme une « lésion tissulaire » ou non observable comme une neuropathie. Il faut aussi différencier la douleur et la nociception et donc l'aspect individuelle de cette sensation. En effet, les expériences vécues par l'individu influent sur l'intensité de la douleur et ses conséquences. Dans l'arthrose il est fait mention de douleur chronique ce qui signifie que cette sensation se prolonge dans le temps. L'ancienne définition parlait de la douleur chronique comme d'une douleur persistant depuis plus de trois mois, dorénavant on s'intéresse plus au mécanisme d'action de la douleur prolongé plutôt que la durée elle-même.

Il existe trois grands mécanismes expliquant l'apparition de la douleur chronique : la nociception, la neuropathie et la douleur nociplastique. (Trouvin and Perrot, 2019)

La nociception correspond à l'activation de nocicepteurs présents sur les fibres nerveuses par des chimiokines induisant un signal douloureux. Elle résulte de la traduction d'une altération physique (inflammation ou mécanique), en signal chimique puis en signal

nerveux qui entraîne la sensation douloureuse. Nous reviendrons sur ce mécanisme plus précisément dans la prochaine partie.

La neuropathie correspond à une « douleur causée par une lésion ou une maladie du système nerveux somatosensoriel » (Trouvin and Perrot, 2019). La perturbation fonctionnelle ou structurale nerveuse entraîne l'envoi de signaux douloureux sans activation des nocicepteurs.

La douleur nociplastique anciennement appelée douleur dysfonctionnelle désigne une douleur chronique présente sans activation de nocicepteur, sans lésion ni maladie nerveuse. Ce terme est très récent et est utilisé pour décrire certaines douleurs arthrosiques chez l'homme. Peu de recherches concernant ce mécanisme ont été conduites chez l'animal.

Dans l'arthrose humaine les trois mécanismes ont été mis en évidence dans l'apparition de la douleur. Ces mécanismes peuvent se combiner : on parle de douleur mixte (Carvès, Trouvin and Perrot, 2021). En ce qui concerne les carnivores domestiques comme le chien et le chat, les douleurs nociceptives et neuropathiques ainsi que la combinaison des deux sont les mécanismes principalement décrits.

Pour étudier ces mécanismes on utilise des modèles comme les souris ou les rats puis des hypothèses et des essais thérapeutiques sont effectués avec les espèces cibles pour en déduire des similitudes. Malfait et ses collaborateurs (Malfait, Little and McDougall, 2013) ont étudié la corrélation entre modèles animaux et résultats thérapeutiques. Il ont montré que, malgré certaines incohérences lors d'essais cliniques, les modèles animaux offraient un grand intérêt pour étudier la physiopathologie de la douleur arthrosique humaine. Dans la suite de notre étude nous partirons du principe que les mécanismes de la douleur arthrosique sont similaires chez le chien, le chat et l'homme.

Pour résumé :

Deux mécanismes sont principalement responsables de la douleur arthrosique chez le chien, le chat et l'homme :

- La nociception (activation des nocicepteurs)
- La neuropathie (trouble de la fonction nerveuse)

Le NGF étant une protéine intrinsèque au système nerveux, son implication dans la nociception et la neuropathie est fortement étudiée.

Nous allons donc développer ces mécanismes et le rôle du NGF dans ceux-ci.

3) Voies nerveuses, inflammation, NGF et douleur arthrosique

Pour générer une douleur nociceptive il faut un stimulus (augmentation de la pression intra-articulaire ou médiateur de l'inflammation) et un récepteur situé sur l'extrémité d'une fibre nerveuse sensitive. Cette fibre nerveuse conduira un signal électrique au système nerveux central qui le traduira en douleur. Or seules certaines fibres possèdent ces propriétés de nociception, ce sont principalement les terminaisons libres de fibres C non myélinisées (groupe IV) et secondairement les fibres Ad myélinisées de petit calibre (groupe III). (Carvès, Trouvin and Perrot, 2021). Dans le cas de l'arthrose, la destruction du cartilage est la lésion

principale. Or il s'avère que le cartilage articulaire et les deux tiers internes des ménisques ne sont pas innervés. Il est alors important de savoir que le signal de douleur vient en réalité des structures péri-cartilagineuses comme la membrane synoviale, la capsule articulaire, les ligaments, le périoste, l'os sous chondral et le tiers externe des ménisques qui eux sont innervés (Mapp and Walsh, 2012)

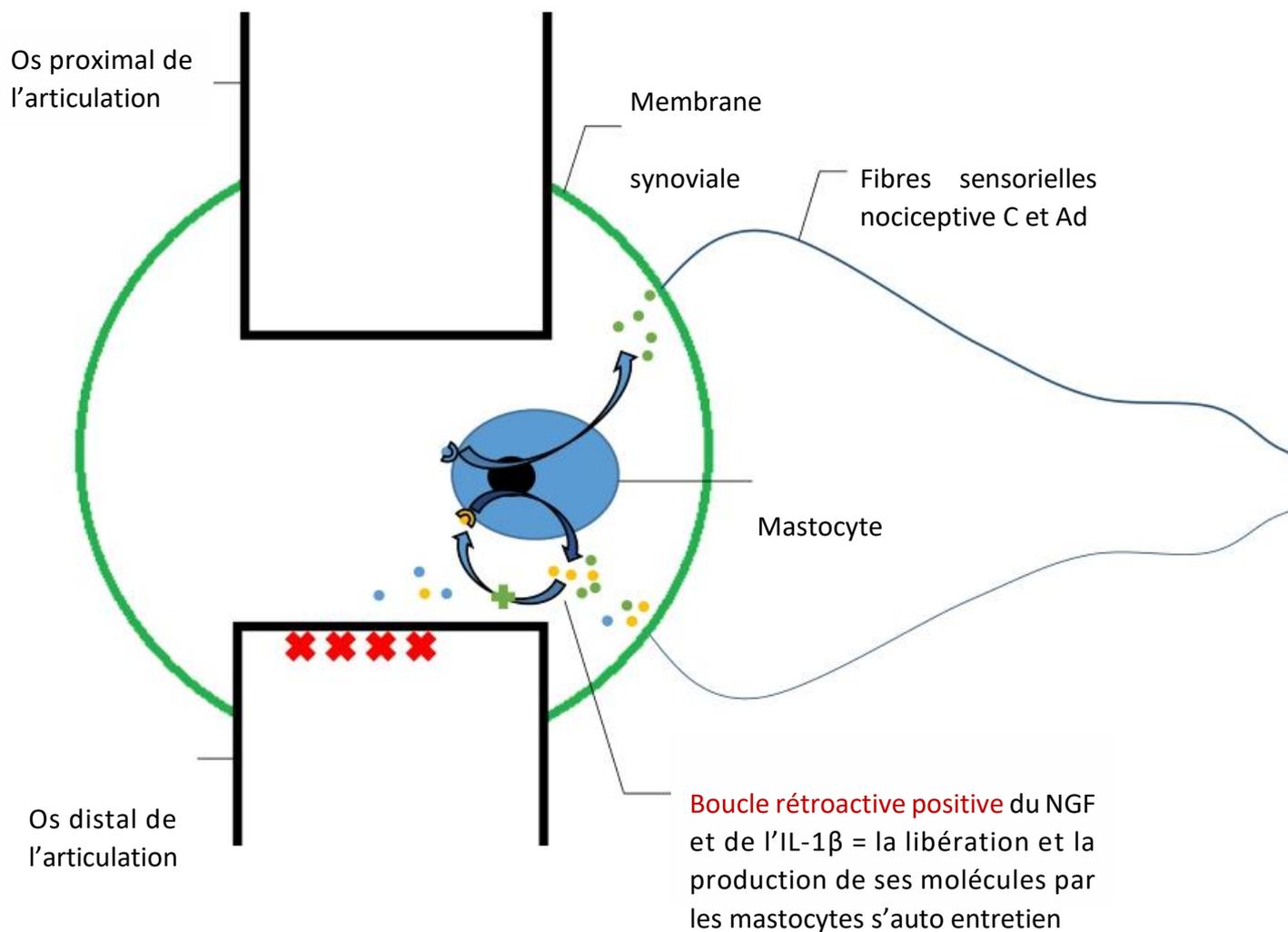
Le stimulus nociceptif est donc consécutif à la destruction du cartilage articulaire. Cette destruction entraîne l'apparition de DAMPs (Motif moléculaire associé aux dégâts/Damage-Associated Molecular Patterns) qui correspondent aux molécules libérées lors de souffrance cellulaire. Ces DAMP vont se fixer sur des récepteurs appropriés : les PRRs (Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires/Pattern Recognizing Receptor). Miller et col. ont montré que les fibres sensorielles nociceptives peuvent exprimer ces récepteurs et que leur activation entraînent un signal de douleur en particulier le récepteur TLR4 (Miller, Malfait and Miller, 2020). Les PRRs sont aussi exprimés par les leucocytes de l'immunité innée comme les macrophages tissulaires, les cellules dendritiques et les mastocytes. L'activation des PRR's de ces cellules entraîne la production et la libération de chimiokines et cytokines (interleukine, histamine, prostaglandine...). Ces chimiokines et cytokines peuvent à la fois entretenir l'inflammation mais aussi activer les récepteurs PRRs des nerfs sensoriels et induire un signal de douleur. Il faut comprendre à cette étape que dans le cas de l'arthrose les DAMP sont produits en continu car rien n'arrête la destruction du cartilage et de ce fait la cascade inflammatoire et nociceptive perdure.

En réalité les nocicepteurs expriment une large gamme de récepteurs. Outre les récepteurs des DAMPs, des chimiokines et des cytokines il existe également des récepteurs nociceptifs pour les neuropeptides, la bradykinine, les prostaglandines, l'ATP (Adénosine Tri Phosphate) et bien entendu le NGF (Ji, Xu and Gao, 2014) qui fait l'objet de ce travail. Le NGF induit un signal de douleur d'une part du fait de sa liaison avec ses récepteurs sur les cellules nerveuses mais également du fait de son action sur l'inflammation.

Le NGF est produit et stocké par le parenchyme et les leucocytes de l'immunité innée. Les macrophages, les fibroblastes (Takano *et al.*, 2017) et les mastocytes en particulier (Leon *et al.*, 1994) produisent du NGF lorsqu'ils sont activés par les DAMPs. Isola et col. ont montré, chez le chien, que la concentration en NGF augmente significativement dans une articulation arthrosique par rapport à une articulation saine (Isola *et al.*, 2011). Chez l'homme (Miller, Malfait and Miller, 2020) et le chat les essais thérapeutiques à l'aide d'anti NGF ont également montré la présence du NGF dans les articulation arthrosique (Gearing *et al.*, 2016). Les mastocytes, qui produisent le NGF, sont habituellement situés dans les tissus conjonctifs mais peuvent être présent au sein du liquide synovial lors d'arthrose. En effet, il a été prouvé chez l'homme que la quantité de mastocytes dans le liquide synovial d'une articulation arthrosique est proportionnelle à la gravité de la lésion (de Lange-Brokaar *et al.*, 2016). Il s'avère que les mastocytes expriment le récepteur TrkA (Tropomyosine récepteur kinase A) en présence de NGF (Nilsson *et al.*, 1997). La fixation du NGF sur ce récepteur spécifique entraîne une production de NGF par les mastocytes formant ainsi une boucle de rétroaction positive (figure 2) (McKelvey, Shorten and O'Keefe, 2013). La fixation du NGF sur le récepteur TrkA des mastocytes entraîne également une production de Prostaglandine D2 et d'histamine qui sont à l'origine du signal douloureux dans l'articulation (McKelvey, Shorten and O'Keefe, 2013). Une étude a montré qu'une cytokine pro-inflammatoire comme l'IL-1 β (Interleukine 1 β) pouvait aussi augmenter la production de NGF au sein de l'articulation. Cette cytokine est

généralement produite par les leucocytes de l'immunité innée lors d'inflammation. Pecchi et col ont démontré que les inhibiteurs de cyclooxygénase n'influençaient pas cette production (Pecchi *et al.*, 2014). On peut donc penser que l'efficacité des AINS (Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien) sur la douleur arthrosique est limitée par ce mécanisme.

Dans une autre étude (Sousa-Valente *et al.*, 2018), des souris exprimant un gène muté du récepteur TrkA augmentant son efficacité ont reçu des injections de MIA (mono-iodoacetate) dans l'articulation du genou. Les injections de MIA sont connues pour provoquer de l'arthrose et sont considérées comme un bon modèle expérimental (Guzman *et al.*, 2003). Ici les souris mutées présentaient, une plus forte hypersensibilité, une augmentation de l'activité des neurones de la corne dorsale (zone de la douleur) et de la microglie, sept jours après l'injection, en comparaison des souris non mutées. Cette expérience montre que la fixation du NGF sur son récepteur TrkA entraîne une douleur importante lors d'arthrose. On pouvait aussi observer une infiltration significative de leucocytes et de mastocytes situés à proximité des fibres nociceptives synoviales. Ils ont aussi démontré une augmentation de la production de Prostaglandine D2 dans l'articulation source de douleur et d'inflammation. Cette expérience a montré l'implication du NGF dans l'augmentation de l'inflammation et de la douleur lors d'arthrose.



- ✘
 - Lésion chronique du cartilage (arthrose)
 - DAMP (Motif moléculaire associé aux dégâts)
 - NGF
 - ☞ PRR (récepteur des DAMP)
 - ☞ TrkA (récepteur du NGF)
- Histamine, Prostaglandine, chimiokines et cytokines (IL- β 1=interleukine β 1) = cocktail inflammatoire

Figure 2 : Importance du NGF dans l'inflammation et la douleur lors de lésions arthrosique

Source : Debaene Florian, schéma inspiré de (Miller, Malfait and Miller, 2020)

En résumé :

- Les lésions arthrosiques entraînent la libération de DAMP et de NGF qui se fixent sur les nocicepteurs situés dans les structures péri-cartilagineuses de l'articulation entraînant un signal nociceptif.
- Les DAMP se fixent aussi sur les PRRs des mastocytes et certaines cellules de l'immunité innée entraînant une libération d'histamine, prostaglandine, chimiokines et cytokines (cocktail inflammatoire). Ces molécules du cocktail inflammatoire se fixent sur les nocicepteurs entraînant aussi un signal de douleur. De plus elles activent les cellules de l'immunité innée entretenant l'inflammation.
- Le NGF quant à lui se fixe aussi sur les récepteurs TrkA des mastocytes ce qui entraîne à la fois la libération de molécules du cocktail inflammatoire mais aussi la production de NGF créant ainsi une boucle rétroactive positive qui augmentera l'inflammation et la douleur.
- La liaison NGF/TrkA entraîne aussi le recrutement et la multiplication d'autres leucocytes au niveau péri-cartilagineux et sur les fibres sensorielles. Ce recrutement sur les fibres permet la production de facteurs inflammatoires supplémentaires à proximité du ganglion de la racine dorsale des nerfs (nociception). Il y a une diminution du seuil d'activation des neurones sensoriels de cette zone à cause de la libération de chimiokines et de cytokines par ces leucocytes.
- De plus ces leucocytes mobilisés dans la corne dorsale de la moelle épinière par le NGF, entraînent l'activation de la microglie de cette racine nerveuse (zone de la douleur). Cela favorise la diminution du seuil d'activation des neurones de cette zone (Miller, Malfait and Miller, 2020). Donc en plus de produire un signal de douleur le NGF entretient l'inflammation et entraîne indirectement une plus grande sensibilité à la douleur.

Lors de lésions chroniques comme dans le cas de l'arthrose il y a continuellement production de DAMP et de NGF entraînant une cascade inflammatoire qui s'auto-entretient et qui diminue le seuil d'activation des neurones nociceptifs du SNC (système nerveux central).

4) L'action du NGF sur le système nerveux

Nous avons vu que les lésions d'arthrose entraînent la libération, la production et l'auto-entretien de NGF lui-même à l'origine de signaux nociceptifs en se fixant sur des nocicepteurs périphériques. Lorsque le NGF se fixe au récepteur TrkA des fibres nerveuses, le complexe NGF/TrkA est endocyté et transporté par voie rétrograde vers les corps des cellules neuronales. Une fois endocyté le complexe NGF/TrkA module l'expression des récepteurs de

la bradykinine, de ASIC 2 et 3 (acid-sensing ion channel 2 et 3 = canaux ionique acide dépendant), des canaux sodiques voltage-dépendants, et des canaux potentiels des récepteurs transitoires à la vanilloïde (Polymodal Transient Receptor Potential Vanilloid 1 = TRPV1) sur la membrane du neurone en question (Shang, Wang and Tao, 2017). L'augmentation de chacun de ces récepteurs diminue le seuil d'activation du neurone concerné. Ce neurone étant responsable de la nociception l'augmentation de son activité peut entraîner une neuropathie (voir figure 3).

Les récepteurs à la bradykinine sont de deux types $\beta 1$ et $\beta 2$, les deux étant bien connus pour leur propriété nociceptive. Une étude a démontré que dans un modèle de douleur neuropathique (constriction chronique du nerf sciatique du rat) l'antagoniste de ces récepteurs possédait de bonnes propriétés analgésiques. En effet les individus malades présentaient une hypersensibilité thermique qui disparaissait avec l'administration des antagoniste aux récepteurs de la bradykinine (Marceau and Regoli, 2004). Les récepteurs à la bradykinine sont donc des récepteurs liés aux douleurs neuropathiques (pathologie nerveuse).

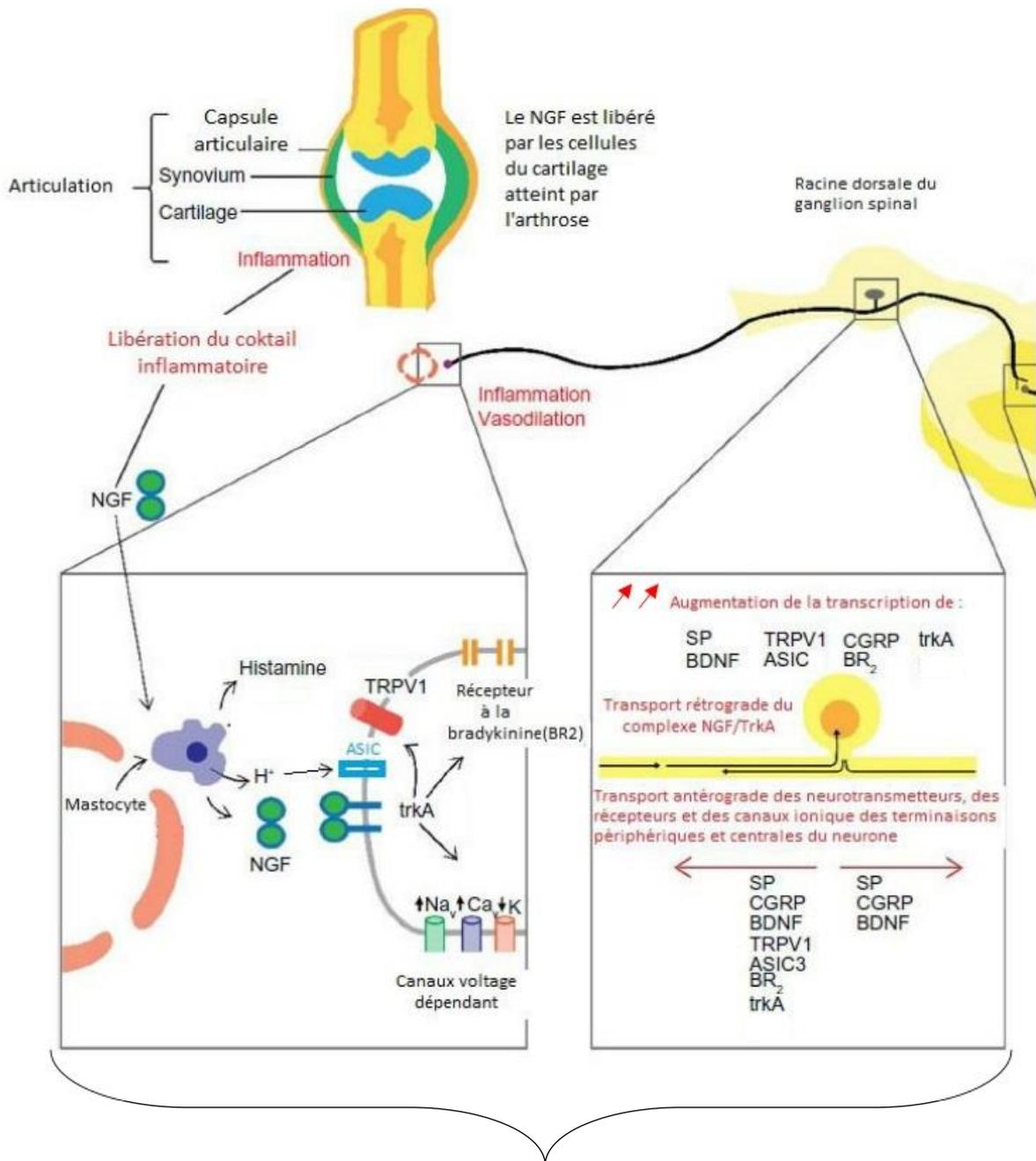
Les canaux acide-dépendant ASIC sont responsables de la transmission du message douloureux. Lors d'une diminution du pH extracellulaire un proton se lie au canal ASIC dans la région extracellulaire de celui-ci. Cette fixation entraîne un changement de conformation du canal, et donc l'ouverture de son domaine transmembranaire. Cela se traduit par l'afflux d'ions sodium à travers la lumière du domaine transmembranaire. Les canaux ASIC en position active sont spécifiquement perméables aux ions sodium, l'afflux de ces cations entraîne une dépolarisation de la membrane nerveuse. Les canaux Ca^{2+} voltage dépendant situé aussi sur la membrane nerveuse sont activés par cette dépolarisation et le calcium entre dans le neurone. Cela provoque une deuxième dépolarisation plus importante dépassant le seuil de sensibilité du neurone et entraîne donc un signal de douleur (Sherwood, Frey and Askwith, 2012). Plus il y a de canaux ASIC sur la membrane du neurone et plus le seuil d'activation du neurone est bas. En plus d'augmenter la quantité d'ASIC sur le neurone, le NGF augmente aussi la production de protons par les mastocytes lorsqu'il s'y fixe (McKelvey, Shorten and O'Keeffe, 2013). Il augmente donc à la fois sur la production des canaux ASIC des neurones mais augmente aussi la production de leur ligand le plus spécifique, le proton. Cette double action peut expliquer pourquoi le NGF est un facteur clé à l'origine de la douleur arthrosique.

Les canaux sodium voltage dépendant permettent la propagation de la dépolarisation générée par l'activation des nocicepteurs. Au-dessus d'un certain seuil de dépolarisation (Passage de $-70mV$ à $-55mV$ généralement) le canal s'ouvre et laisse passer les ions sodium puis se ferme. Ainsi, le potentiel électrique de la cellule nerveuse augmente puis chute rapidement c'est le potentiel d'action. Le canal possède une période réfractaire avant de se réouvrir. En laissant passer les ions sodium, la dépolarisation est augmentée permettant l'ouverture d'autres canaux voltage dépendant. Il y a donc propagation de la dépolarisation d'un canal à l'autre le long de la membrane du neurone ce qui permet la propagation du message nerveux le long de l'axone. C'est le canal classique de la transmission d'un message nerveux, on peut donc supposer que plus il y en a, plus le message nerveux est transmis rapidement (Yu and Catterall, 2003).

Les canaux TRPV1 sont des récepteurs cationiques non sélectifs pouvant être activés par de nombreux ligands nociceptifs provenant de stimuli thermique, mécanique ou chimique

de l'inflammation. Ils jouent un rôle central dans la transduction de l'hyperalgésie et des processus inflammatoires. De plus ils sont considérés comme l'une des principales cibles pharmacologiques de la douleur (Cui *et al.*, 2016). Le complexe NGF-TrkA provoque des changements post-traductionnels rapides dans le récepteur de la douleur TRPV1. Il entraîne l'augmentation de sa production et donc de sa densité et augmente son activité dans les neurones périphériques et centraux. Une fois ouvert, TRPV1 facilite l'afflux de Ca^{2+} et la transmission des signaux de douleur (Shang, Wang and Tao, 2017). Le complexe NGF-TrkA, par son influence sur les canaux TRPV1 entraîne une sensibilisation centrale nerveuse qui peut expliquer cette douleur neuropathique décrite précédemment.

Le transport rétrograde du complexe NGF/TrkA entraîne aussi la modulation de certains gènes promoteurs nerveux et l'augmentation de la production de neuropeptide comme la substance P (SP), le peptide relié au gène calcitonine (CGRP), et le Facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) (figure 3 et 4).



Diminution du seuil d'activation du neurone nociceptif => Douleur par neuropathie

Légende :

ASIC = Acid-Sensing Ion Channel // TRPV1 = Transient Receptor Potential Vanilloid 1

SP = substance P // CRPG = Calcitonin Gene-Related Peptide // TrkA= récepteur du NGF

BDNF = Brain Derived Nerve Factor // BR2= récepteur à la bradykinine 2

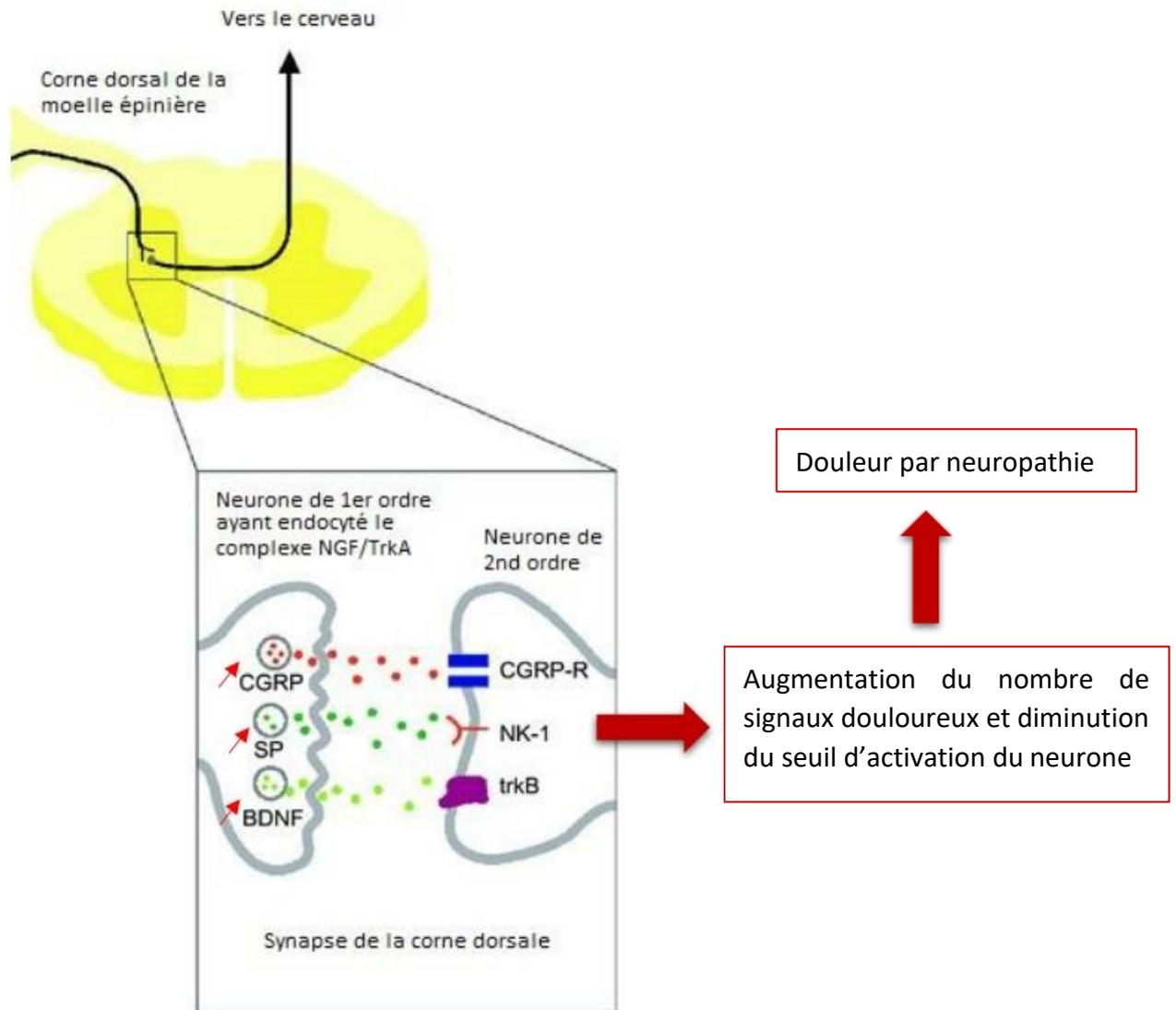
Na= Sodium Ca= Calcium K=Potassium

Figure 3 : NGF et sensibilisation du système nerveux central aux stimuli nociceptif (traduit et modifié de (Chang *et al.*, 2016))

La substance P est un neuropeptide de 12 acides aminés (Harrison and Geppetti, 2001). Comme tout neuropeptide il est sécrété par un neurone, ici c'est sa libération dans la synapse des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière qui nous intéresse particulièrement. Sa libération entraîne la transmission d'un signal de douleur en se fixant sur son récepteur neurokinine-1 (Felipe *et al.*, 1998). Elle jouerait un rôle de neuro-inflammation c'est-à-dire une inflammation produite par un message nerveux. Le NGF pourrait donc par l'intermédiaire de cette substance P augmenter la sensibilité nerveuse centrale aux stimuli nociceptifs en diminuant le seuil d'activation des neurones nociceptifs.

Le CGRP est aussi un peptide et neurotransmetteur impliqué dans les mécanismes de la douleur, mais uniquement lorsqu'il est libéré dans la corne dorsale de la moelle épinière (Schou *et al.*, 2017). Sa fonction diffère selon le récepteur auquel il se fixe. Ainsi s'il est libéré au niveau d'un nocicepteur il induira un signal de douleur. Ici le NGF entraîne une augmentation de la libération de CRPG au niveau des nocicepteurs des neurones de la corne dorsale de la moelle épinière. Ainsi avec le transport rétrograde du complexe NGF/TrkA on a une augmentation de la quantité signaux de douleur.

Le BDNF est une neurotrophine tout comme le NGF. Le BDNF peut augmenter l'activité des récepteur NDMA (N-méthyl-D-aspartate) (Mizuno *et al.*, 2003). Ces récepteurs au glutamate sont les récepteurs post-synaptiques classiques qui permettent la transmission du message pré-synaptique. Il est donc évident qu'en augmentant cette activité post-synaptique dans la corne dorsale de la moelle épinière, le BDNF diminue le seuil de sensibilité à la douleur (Kerr *et al.*, 1999) (figure 4).



Légende :

SP = substance P // CRPG = Calcitonin Gene-Related Peptide // BDNF = Brain Derived Nerve Factor

NK-1 = récepteur de la SP // CRPG-R= récepteur du CRPG// TrkB= récepteur du BDNF

Figure 4 : Modifications d'une synapse de la corne dorsale après endocytose du complexe NGF/TrkA et diminution de son seuil d'activation du neurone secondaire (Mantyh et al., 2011)

Le NGF pourrait aussi créer une hyperalgésie lors d'arthrose en augmentant la quantité de fibres nociceptives présentes autour de l'articulation. En effet, Ghilardi et col. ont montré une augmentation significative de la quantité de fibres nerveuses nociceptives dans la capsule synoviale de l'articulation de souris atteintes d'arthrose induite par injection d'adjuvant complet de Freund (Ghilardi *et al.*, 2012). Cette augmentation n'était pas présente sur les souris ayant aussi reçu des antagonistes du NGF. Cette expérience a suggéré que le NGF favoriserait l'apparition de fibres nociceptives au cours d'inflammation articulaire.

En effet le NGF pourrait être responsable de bourgeonnement axonal à la périphérie des articulations lors d'arthrose chez l'homme. Cette augmentation du nombre de neurones nociceptifs en présence de NGF, serait corrélée avec l'augmentation des signes de douleur que ce soit chez le rat, la souris, ou l'homme (Wu, Nagata and Iijima, 2002) (Stoppiello *et al.*, 2014). En effet Kc et col ont montré qu'après induction d'arthrose chez la souris il y avait une augmentation de la quantité de neurones sensoriels dans la membrane synoviale de l'articulation atteinte. De plus la quantité de NGF et de récepteurs TrkA était aussi augmentée dans cette articulation. Ainsi chez les individus atteints on observait une hyperalgésie de la zone arthrosique quel que soit l'état du cartilage articulaire. Ainsi ce serait la quantité de neurone sensoriel autour de l'articulation qui serait le plus corrélée à la douleur ressentie par le patient et non l'état du cartilage. Ceci expliquerait pourquoi la douleur arthrosique n'est pas liée aux signes radiographiques (Kc *et al.*, 2016). Une autre étude a montré que lors de tumeurs prostatiques chez l'homme le NGF était libéré par les cellules inflammatoires, immunitaires et stromales autour de la tumeur. Ce NGF pouvait induire une augmentation de la densité des fibres nerveuses sensorielles possédant des récepteurs TrkA dans la moelle osseuse voisine (10 à 70 fois plus de neurones) . Le phénotype de ces fibres nerveuses nouvellement formées était très différent des fibres nerveuses qui innervent l'os normal et pouvaient induire une douleur dite squelettique. Ici aussi il a été montré qu'un traitement anti-NGF diminuait la formation de ces fibres sensorielles et la douleur ressentie (Mantyh et al., 2010) et (Mantyh et al., 2011).

Ainsi le NGF du fait de son activité neurotrophique et nociceptive entraîne une douleur chronique importante lors d'arthrose.

Enfin, le NGF est responsable de la douleur arthrosique selon **trois mécanismes** :

- **Maintien de l'inflammation et production de molécules se fixant sur les récepteurs nociceptifs (NGF compris)**
- **Diminution du seuil d'activation des neurones nociceptifs (Neuropathie)**
- **Augmentation de la densité de fibres nociceptives dans la membrane synoviale**

PARTIE II : LES ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-NGF, DE LA CONCEPTION À LA PRODUCTION

1) Structure et fonctionnement des anticorps monoclonaux

Initialement, un anticorps ou immunoglobuline (Ig), est une glycoprotéine d'environ 150kDa synthétisée par les lymphocytes B et capable de se fixer sur un antigène donné et parfois de l'inactiver (Reth, 2013). Chaque lymphocyte B produit un anticorps différent et parfois plusieurs anticorps différents sont spécifiques du même antigène. Les anticorps monoclonaux sont des anticorps monovalents qui se lient au même épitope et sont produits à partir d'un seul clone de lymphocyte B (Liu, 2014). L'épitope correspond à la partie de l'antigène sur laquelle l'anticorps se fixe, il fait opposition au paratope situé sur l'anticorps. Il existe plusieurs classes d'anticorps mais dans notre cas nous ne parlerons que de la classe G (IgG) car ce sont les seuls utilisés en thérapie anti-NGF. Les IgG sont constituées de deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques aussi, les quatre chaînes sont reliées par des ponts disulfures et forment un « Y ». L'anticorps possède à sa base une fraction constante qui dépend de l'espèce, il sera donc important lors de la création de l'anticorps monoclonal que cette fraction corresponde à l'espèce cible pour éviter une réaction immunitaire. À l'extrémité de l'IgG, au niveau des paratopes, se situe une fraction variable qui est modifiée pour se fixer à l'épitope spécifique de l'anticorps. Les régions de la partie variable qui permettent la correspondance entre paratopes et épitopes sont appelées CDRs (Complementarity-Determining Regions = région déterminant la complémentarité). Les CDRs ne comportent pas plus de 20 acides aminés, il y en a trois sur chaque chaîne. Chaque CDR est particulièrement importante lors de la conception d'anticorps monoclonaux (Al-Lazikani, Lesk and Chothia, 1997) (figure 5).

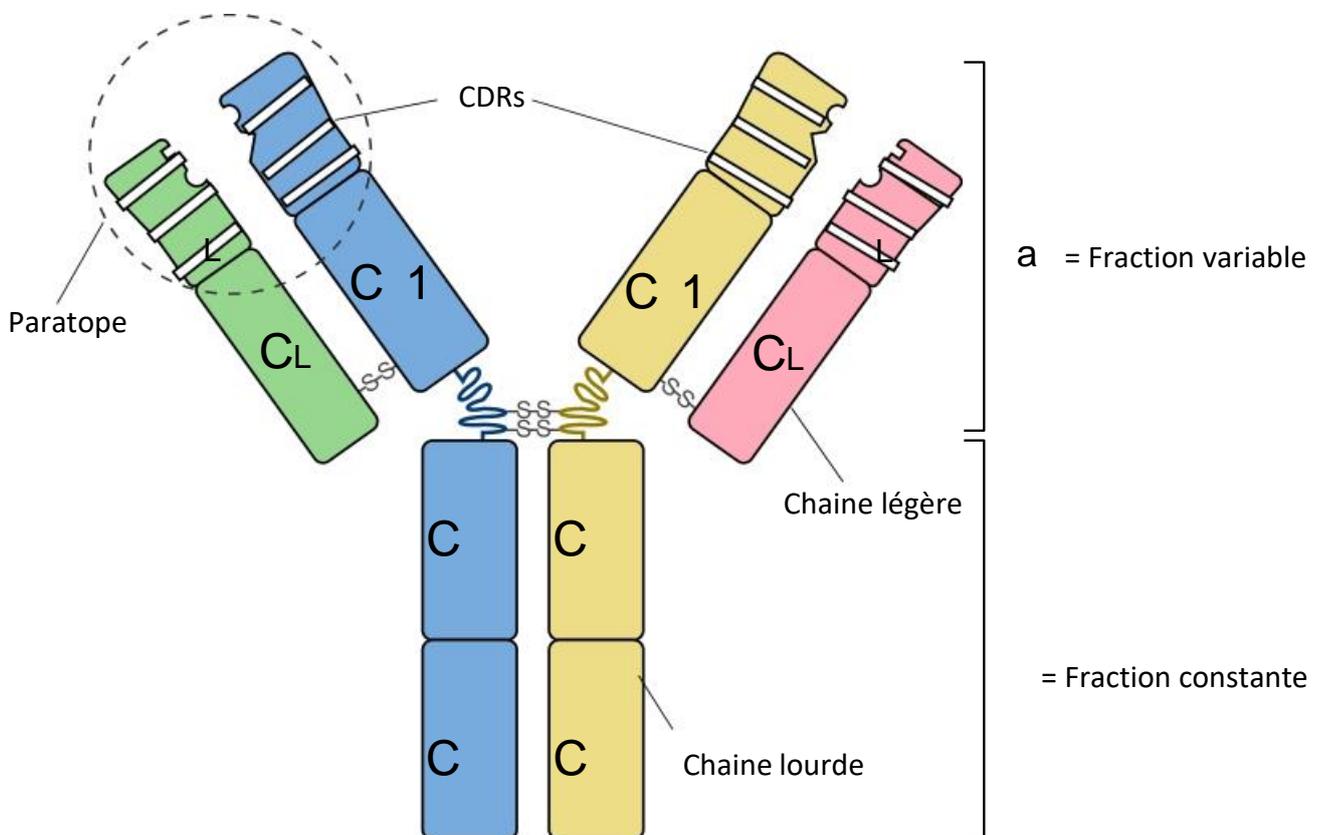


Figure 5 : Structure d'un anticorps inspiré de (Immcarle70, 2018)

La fraction constante de l'anticorps (Fc), commune à tous les individus d'une même espèce, possède plusieurs récepteurs situés sur les cellules de l'immunité. La fixation de Fc sur le récepteur Fcγ est responsable du déclenchement des réponses des cellules effectrices contre les infections. En effet, en fonction de la cellule cette fixation peut entraîner dégranulation, phagocytose, activation des lymphocyte T cytotoxique et de nombreux autres mécanismes immunitaires (Bournazos, Gupta and Ravetch, 2020). De plus une fois liée à un antigène, la conformation de Fc est modifiée et permet la fixation de C1, une protéine du complément. Cette fixation entraîne une cascade d'activation des protéines du complément résultant un effet microbicide et inflammatoire (Gearing *et al.*, 2013). Toute ces réactions sont à éviter dans le cadre de notre thérapie anti-NGF où l'on cherche justement à limiter l'inflammation.

Ainsi pour qu'un anticorps monoclonal soit efficace contre le NGF il faut qu'il remplisse plusieurs conditions :

Premièrement, il doit pouvoir se fixer spécifiquement à un épitope du NGF de l'espèce donnée. Bien que le NGF soit dépendant de l'espèce, cette protéine et son récepteur présente une forte homologie chez l'homme, les rongeurs et les carnivores domestiques. Le NGF mature (bêta), présente 100 % d'homologie entre le chien et le chat, 91 % entre l'homme et le chat, 85 % entre le rat et le chat et 82 % entre la souris et le chat (Gearing *et al.*, 2016). Ainsi le paratope d'un anticorps de rat pourra sûrement correspondre à l'épitope de NGF des autres espèces.

Deuxièmement, cette fixation doit entraîner la neutralisation de la fonction du NGF. Autrement dit, le complexe Anticorps/NGF ne doit pas pouvoir activer les récepteurs TrKa ou P75. Il est important à cette étape que l'anticorps choisi soit une IgG car ce sont les seules immunoglobulines à pouvoir neutraliser l'effet d'un antigène (Ravetch and Bolland, 2001). Il faut aussi vérifier qu'il se fixe sur le bon épitope du NGF pour le neutraliser (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988)

Enfin il ne doit pas entraîner de réaction immunitaire. Pour cela, il faut que la fraction constante de l'anticorps corresponde à celui de l'espèce mais ce n'est pas tout. L'anticorps monoclonal anti-NGF ne doit pas avoir le même rôle qu'un anticorps classique. En effet et comme expliqué précédemment il ne faut pas que cet anticorps active le complément ni qu'il se fixe au récepteur Fcγ. Ceci entraînerait une réaction immunitaire contre-productive à l'origine de nombreux effet secondaire ou même un échec thérapeutique (Gearing *et al.*, 2013).

Un anticorps monoclonal anti-NGF doit donc quel que soit l'espèce :

- Se fixer au NGF de son espèce et uniquement au NGF
- Neutraliser le NGF fixé et empêcher sa fixation au récepteur TrKA
- Avoir une Fc (fraction constante) qui n'entraîne pas de réaction immunitaire

2) Fabrication d'un anticorps monoclonal de rat anti-NGF de souris

La première étape pour fabriquer un anticorps monoclonal anti-NGF est d'immuniser un rat contre le NGF de souris. Pour cela du NGF purifié était prélevé à partir de glandes salivaires de souris (Bocchini and Angeletti, 1969) puis des injections ont été effectuées régulièrement en sous cutané chez un rat. Le protocole effectué pour produire l'anticorps monoclonal anti-NGF α D11 (le plus utilisé de nos jours) correspondait à une injection sous cutané de 300 μ g de NGF, puis 10 injections de 150 μ g de NGF chez un rat. Chaque injection était séparée d'un mois d'intervalle, il a donc fallu plus de 11 mois pour immuniser un rat (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988).

Huit jours après la dernière injection un prélèvement de cellules spléniques du rat était effectué (5.6x10⁸ cellules) puis ces cellules ont été fusionnées avec des cellules de myélome de souris selon la méthode de Milstein (Milstein *et al.*, 1979). Les cellules de myélome utilisées avait la particularité d'être immortelles et d'être dépourvues du gène de l' hypoxanthine-guanine-phosphoribosyltransférase (HGPRT). Elles sont donc incapables de survivre dans un milieu contenant de l'hypoxanthine-aminoptérine-thymidine. De plus elles sont incapables de produire des anticorps. Les cellules résultant de la fusion de myélome et de lymphocyte du rat étaient ensuite cultivées *in vitro* dans un milieu sélectif contenant de l'hypoxanthine-aminoptérine-thymidine. Ainsi les seules cellules qui survivaient étaient celles dont la fusion entre les lymphocytes B primaires de rate et les cellules de myélome a réussi. Elles pouvaient se développer car elles avaient hérité de l'immortalité des cellules de myélome et de la résistance sélective des lymphocytes B primaires pour l'hypoxanthine-aminoptérine-thymidine. Comme les cellules de myélome étaient dépourvues de HGPRT, elles ne pouvaient pas synthétiser de nouveaux nucléotides car l'aminoptérine du milieu sélectif inhibe le processus, il faut donc la HGPRT du lymphocyte B pour supprimer l'effet de l'aminoptérine. Ces cellules sont appelées des hybridomes. Un hybridome est donc une cellule immortelle produisant continuellement l'anticorps monoclonal du lymphocyte B avec lequel il a été produit (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988)(Liu, 2014)(figure 6).

La culture initiale contenaient alors un mélange d'hybridomes dérivés de nombreux clones primaires de lymphocytes B différents car ils provenaient de la rate du rat immunisé. Chacun d'eux sécrétant son propre anticorps spécifique individuel, le milieu de culture était donc un mélange d'anticorps polyclonaux dont les épitopes complémentaires n'appartenaient pas forcément au NGF. Chaque clone individuel pouvait être séparé par dilution dans différents puits de culture. Le milieu de culture cellulaire des puits était donc ensuite sélectionnés pour repérer l'activité anti NGF qui nous intéresse. Pour cela, 2 méthodes ont été utilisées la première avec des cellules PC12 et la deuxième avec des embryons de poussins (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988).

PC12 est une lignée cellulaire dérivée d'un phéochromocytome de surrénale de rat. Le traitement des cellules PC12 avec du NGF entraîne une différenciation en cellules avec de longs processus appelés varicosités neurites, qui contiennent de petites quantités de vésicules (Westerink and Ewing, 2008, p. 12). Il est donc possible de différencier des cellules PC12 ayant reçu du NGF des autres. Ainsi chaque hybridome était incubé pendant 1 h à 37°C avec deux concentrations de NGF (10 ng/ml et 40 ng/ml). Le milieu de chaque hybridome était ajouté à

des cellules PC12 préalablement cultivées avec du NGF pendant 1 semaine. Après 48 h, la croissance des neurites de chaque cellule PC12 était évaluée permettant de distinguer les hybridomes produisant un anti-NGF des autres.

Avec ce même principe, des embryons de poussins étaient mis en culture avec les hybridomes et du NGF. Après 18h d'incubation l'inhibition de la croissance des fibres nerveuses était évaluée par rapport au standard permettant de distinguer les différents anticorps (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988).

Les hybridomes répondant aux critères de sélection et les anticorps monoclonaux générés étaient ensuite stockés dans de l'azote liquide pour être réutilisés plus tard (figure 6).

Après avoir sélectionné les hybridomes les plus intéressants, ils étaient soumis à d'autres expériences permettant de différencier trois types d'anticorps anti-NGF :

Type A : Les anticorps qui se lient au NGF et inhibent sa liaison aux cellules cibles et son activité biologique en culture.

Type B : Les anticorps qui se lient au NGF et précipitent le NGF mais n'inhibent pas sa liaison aux cellules cibles ou son activité biologique.

Type C : Les anticorps qui ne reconnaissent pas le NGF lui-même, mais inhibent néanmoins sa liaison aux cellules cibles.

Ainsi c'est un anticorps de type A qui est actuellement utilisé pour la recherche thérapeutique humaine ou chez les carnivores domestiques : l'anticorps α D11 (Cattaneo, Rapposelli and Calissano, 1988). Son hybridome (α D11) est toujours cultivé et il est possible d'acheter des anticorps α D11 sur internet (315€ les 200 μ g) (*Anti-Nerve Growth Factor [alphaD11]*, no date). C'est cet anticorps qui a servi de base pour la création des anticorps monoclonaux anti-NGF comme le ranevetmab, le bedinvetmab (Librela) et le frunévetmab (Solensia).

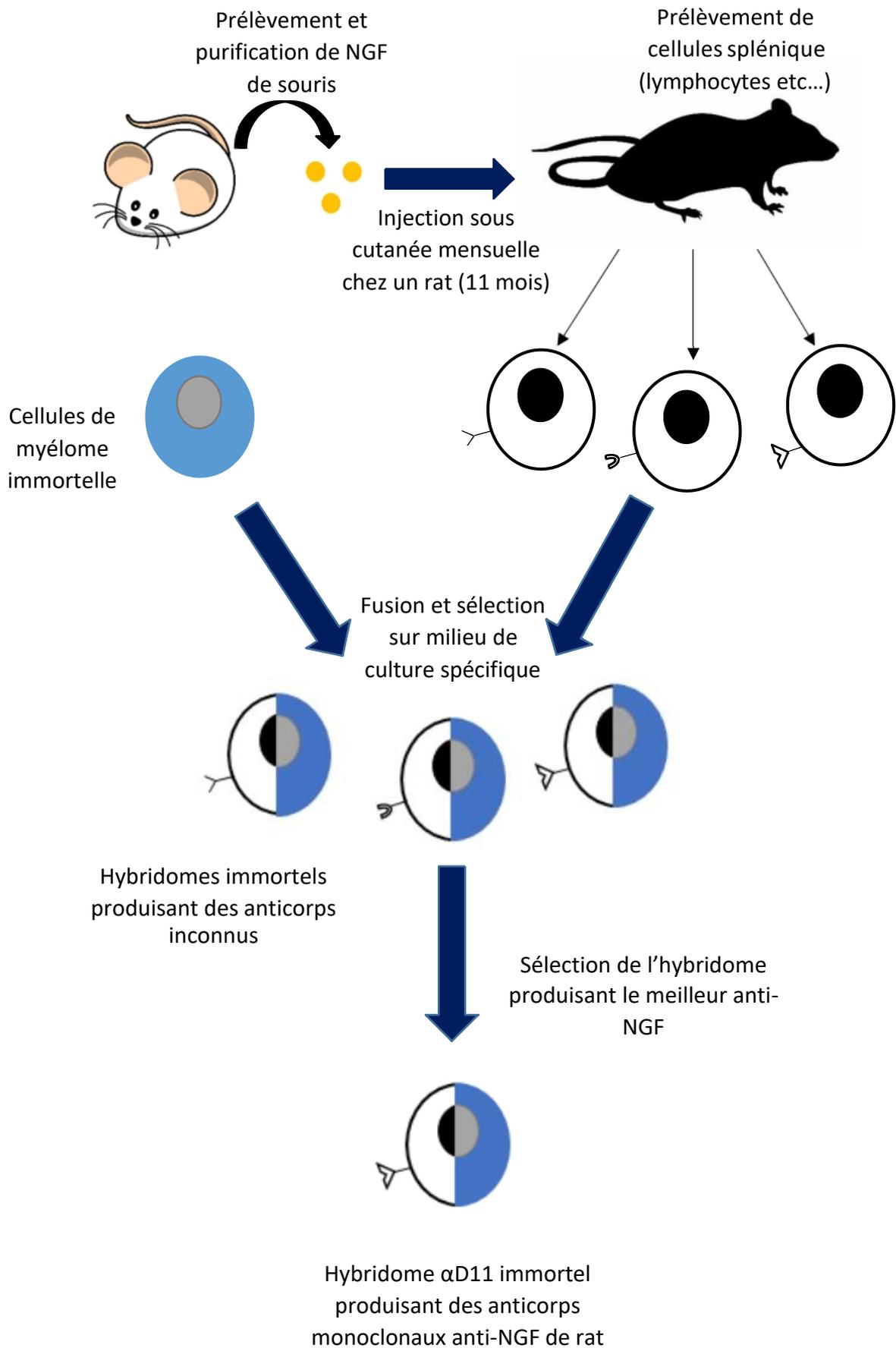


Figure 6 : Fabrication d'anticorps monoclonaux de rat anti-NGF de souris (Debaene Florian)

3) Fabrication d'anticorps anti-NGF « caninisés » et « félinisés »

Une fois l'anticorps anti-NGF de rat obtenu, la première étape est de vérifier que cet anticorps peut se fixer sur le NGF de chien et de chat. En effet, il faut se rappeler que le NGF de chien et de chat est très proche de celui de la souris mais si la zone d'épitope est différente l'anticorps ne peut pas se fixer. L'avantage de l'anticorps α D11 est qu'il peut se fixer et inhiber le NGF de nombreuses espèces allant du xénope (*Xenopus laevis*) à l'homme en passant par les carnivores domestiques. Son deuxième avantage est sa spécificité envers le NGF, il ne se fixe donc pas sur les autres neurotrophines (Ruberti, Bradbury and Cattaneo, 1993). L'anticorps α D11 présente donc des caractéristiques favorables à la fabrication d'un anti-NGF canin et félin.

La deuxième étape consiste à modifier l'anticorps α D11 pour qu'il ne déclenche pas de réaction immunitaire après l'injection. Pour cela les chercheurs à l'origine du ranevetmab et du frunévetmab ont créé la méthode de « PETisation ». Le principe général est de créer un ADNc (Acide Désoxyribonucléique complémentaire) de l'ARNm (Acide Ribonucléique messenger) de l'anticorps α D11. Cet ADNc est alors modifié pour que les séquences d'acides aminés qu'il code correspondent à celles d'un anticorps canin ou félin et cela sans perdre la fonction anti-NGF. Après avoir purifié les ARNm de α D11 selon les techniques habituelles (Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989), l'ADNc est produit grâce à une transcriptase inverse puis multiplié par méthode PCR (Polymerase Chain Reaction) (Frohman, Dush and Martin, 1988). Une fois cet ADNc obtenu, les codons seront modifiés par méthode CRISPR/CAS9 (non développée dans cet revue) pour obtenir les acides aminés souhaités à l'endroit souhaité.

L'ADNc modifié est ensuite intégré aux gènes d'une cellule d'Ovaire de Hamster Chinois (CHO) qui produit les anticorps correspondants. Les cellules CHO ont la particularité pour certaines d'entre elles d'être déficientes en dihydrofolate réductase (DHFR). Ce déficit impose la présence de glycine, d'hypoxanthine et de thymidine dans leur milieu pour leur croissance. L'idée est donc de transférer le gène codant pour la protéine d'intérêt associé à une copie fonctionnelle de la DHFR dans le génome des cellules CHO (Urlaub and Chasin, 1980).

Il est important de faire en sorte que l'anticorps produit n'entraîne pas de réaction immunitaire chez l'espèce cible. Même si le domaine variable d'un anticorps est moins immunogène la différence d'espèce peut tout de même induire des réactions. Il existe des enchainements d'acides aminés appelés matrices qui sont propres à l'espèce même dans le domaine variable des anticorps. Si cette matrice diffère trop de celle reconnue comme du soi par le système immunitaire, l'anticorps monoclonal déclenchera une réaction immunitaire. Ainsi la séquence d'acide aminé du domaine variable de l'anticorps α D11 est comparée à celle d'anticorps canin et félin connus afin de remplacer les acides aminés ne correspondant pas à cette matrice (voir figure 7). Par exemple pour le chien, l'anticorps α D11 est comparé avec une matrice de séquences protéiques codées par des séquences d'ADNc d'IgG canines connues. Lorsque la séquence α D11 correspond à la matrice, aucun changement n'est rapporté. Lorsqu'un acide aminé diffère, l'acide aminé le plus similaire (par charge, taille, polarité) présent dans la matrice est substitué pour l'anticorps canin, cela s'appelle une substitution conservatrice. Si aucun acide aminé similaire n'est disponible, l'acide aminé canin le plus abondant est choisi. Ainsi, chez le chien, 22 substitutions sont effectuées dans le

domaine variable de la chaîne lourde, dont 10 sont conservatrices et 17 substitutions sont effectuées dans le domaine variable de la chaîne légère, dont 9 sont conservatrices.

Chez le chat, 16 substitutions sont effectuées dans le domaine variable de la chaîne lourde, dont 4 sont conservatrices et 22 substitutions sont effectuées dans le domaine variable de la chaîne légère, dont 10 sont conservatrices. Par ce processus, appelé PETisation, les séquences de charpente α D11 ont été complètement caninisées, avec des changements minimes de l'anticorps α D11, afin de préserver sa fonction tout en réduisant son immunogénicité (Gearing *et al.*, 2013)

```

A
Human SSSHPIFHRGEFVSVCDSVSVVWVGDKTTATDIKKEVMVLGEV
Mouse ..T..V..M.....T..A..
Cat   ....V.....

Human NINNSVFKQYFFETKCRDPNPVDSGCRGIDSKHWNSYCTTTH
Mouse .....R.....AS..E.....
Cat   .....T.....

Human TFKALTMDGKQAARWFIRIDTACVCVLSRKAVRRA
Mouse .....T..E.....T..G
Cat   .....G...

B
          CDR1
 $\alpha$ D11VH QVQLKESGPGLVQPSQTLTCTVSGFSLTNNVNWVRQATG
NV02VH  ...V..AE..GES..R..AA.....P..

          CDR2
 $\alpha$ D11VH RGLEWMGGVWAGGATDYN SALKSRLTITRDTSKSQVFLKMHS
NV02VH  K.....NT..Q...

          CDR3
 $\alpha$ D11VH LQSEDTATYYCARDGGYSSSTLYAMDANGQGTSVTVSS
NV02VH  .....T..A

C
          CDR1
 $\alpha$ D11VL DIQMTQSPASLSASLGTVTIECRASEDIYNALAWYQQKPGK
NV02VL  ..E..L..VTP..S..S..S.....L..R

          CDR2
 $\alpha$ D11VL SPQLLIYNTDTLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSIQSEDA
NV02VL  ..R.....D.....DFT..SRV..T..G

          CDR3
 $\alpha$ D11VL SYFCQHYFHYPRTFGGGKLELK
NV02VL  V.....Q.....

```

Figure 7 : Séquences d'anticorps NGF et anti-NGF. (A) Alignement de la séquence peptidique mature du NGF de l'homme, de la souris et du chat. Les acides aminés identiques sont indiqués par des points et les acides aminés similaires sont soulignés. (B) Séquences d'acides aminés de la région variable de chaîne lourde et (C) de chaîne légère de l'anticorps anti-NGF α D11 alignées sur l'anticorps félinisé NV-02. Les acides aminés identiques sont indiqués par des points et les acides aminés similaires sont soulignés. Les régions déterminant la complémentarité (CDRs) sont encadrées. (Gearing *et al.*, 2016) license CC-BY

Sur la figure 7 (B et C), les séquences des CDRs sont les mêmes chez le rat et le chat. Il est essentiel de garder ces régions intactes car ce sont celles qui vont se fixer sur l'épitope et donc celles qui assurent la fonction anti-NGF de l'anticorps.

Une fois les domaines variables modifiés, ils doivent être combinés aux fractions constantes (Fc) de l'espèce correspondante.

Pour le chien :

La séquence de domaine variable de chaîne lourde de l'anticorps caninisé est combinée avec la séquence du domaine variable de la chaîne lourde α D11 et les séquences de Fc de chacun des quatre isotypes de chaîne lourde IgG canine A, B, C et D dont l'ADNc est disponible (Tang *et al.*, 2001) pour former 4 chaînes lourdes aux séquences différentes : caN-HCA, caN-HCB, caN-HCC et caN-HCD.

La séquence de domaine variable de chaîne légère de l'anticorps caninisé est combinée avec la séquence de chaîne légère α D11 et la séquence de Fc de la chaîne légère kappa canine pour former la séquence caN-kLC.

Tous les ADNc correspondant sont transfectés dans des cellules CHO différentes pour obtenir quatre anticorps (respectivement A, B, C et D) aux Fc différentes mais ayant le même domaine variable (Gearing *et al.*, 2013). Le domaine variable des anticorps A, B, C et D étant identique, ils se fixent sur le NGF avec la même affinité. Ainsi en évaluant l'affinité de l'anticorps A pour le NGF on aura l'affinité des 4 anticorps. Les résultats montrent que les 4 anticorps se fixent sur le NGF canin avec la même affinité que l'anticorps α D11. Donc leur affinité pour le NGF est très bonne. L'affinité de chaque anticorps pour la protéine C1 du complément et pour le récepteur Fc γ (voir II)2)) est ensuite évaluée par test ELISA pour définir l'anticorps entraînant le moins de réactions immunitaires *in vivo*. Dans l'étude de Gearing et col. les anticorps B et C se fixaient sur la protéine C1 du complément ou sur le récepteur Fc γ . C'est pourquoi ils n'ont pas été retenus. L'anticorps A qui a été choisi arbitrairement et après quelques modifications de la Fc de la chaîne lourde il donnera plus tard le NV-01 aussi connu sous le nom de ranevetmab.

L'anticorps NV-01 est exprimé par des cellules CHO (Lonza Biologics plc, Cambridge, Royaume-Uni) cultivées dans un système fed batch. Après récolte le surnageant est purifié pour ne contenir que l'anticorps NV-01 utilisé pour la gestion de la douleur lié à l'arthrose (Gearing *et al.*, 2013). Il n'y a pas de publication sur la fabrication du bedinvetmab (Librello) mais au vu des données du Résumés Caractéristiques Produit (RCP) le procédé est probablement similaire.

Pour le chat :

La même méthode est utilisée mais une seule Fc est fabriquée et testée. La séquence de domaine variable de chaîne lourde α D11 félinisée est combinée à la séquence variable et à la séquence Fc de l'isotype de chaîne lourde IgG félin IgG1 pour former la séquence feN-HC1. La séquence de domaine variable de chaîne légère félinisée est combinée avec une séquence variable de chaîne légère et de Fc de la chaîne légère kappa féline pour former la séquence feN-kLC. Les séquences feN-HC1 et feN-kLC forment ensemble l'anticorps NV02.

Un test ELISA est utilisé pour tester l'affinité de NV-02 avec la protéine C1, le premier composant de la cascade du complément. Il s'est avéré que le complexe NV-02/NGF ne se liait peu ou pas à C1 par comparaison avec un anticorps témoin. Ce résultat suggère que NV-02 n'initiera pas de dommages immunitaires médiés par le complément.

Les autres tests de sécurité immunitaire ont été effectués in vivo sur 30 chats avec une injection SC à une dose de 2,0 mg/kg pour 15 chats et une injection de placebo pour les 15 autres. Aucune différence n'a été observée dans les mesures de la température rectale et il n'y a eu aucun changement dans le poids corporel, les mesures biochimiques classiques ou hématologiques pour tous les chats. Aucun effet indésirable ou changement de comportement n'a été noté par les vétérinaires (Gearing et al., 2016). Le test in vivo peut laisser imaginer une certaine sécurité immunitaire du produit mais d'autres tests sont à effectuer pour la garantir.

De la même manière que chez le chien l'anticorps NV-02 est exprimé par des cellules CHO (Lonza Biologics plc, Cambridge, Royaume-Uni) cultivées dans un système fed batch. Après récolte le surnageant est purifié pour ne contenir que l'anticorps NV-02. Nv-02 est maintenant nommé frunévetmab (Solensia ND) et est utilisé pour la gestion de la douleur lié à l'arthrose chez le chat (Gearing *et al.*, 2016).

4) Fabrication d'un anticorps monoclonal anti-NGF humain : le Tanézumab

La méthode utilisée pour la fabrication du Tanézumab est différente de celles décrites précédemment. L'anticorps utilisé comme base pour faire un anticorps humanisé est un anticorps anti-NGF de souris le mumab 911.

L'anticorps humain qui a le plus de similitude avec le mumab 911 est sélectionné parmi une banque d'anticorps connus. Les domaines variables et notamment les CDRs du mumab 911 sont étudiés acide aminé par acide aminé ainsi que la structure tridimensionnelle de son paratope. Le but étant de modifier l'anticorps humain acide aminé par acide aminé pour qu'il ait le même paratope que mumab911, voir même avec une meilleure affinité pour le NGF. Chaque modification se fait grâce à des plasmides recombinés dans E.Coli avec les techniques classiques (non développée).

Les CDRs de mumab 911 sont insérées sur l'anticorps humain mais contrairement aux méthodes précédentes elles sont modifiées pour ressembler aux CDRs humains. La méthode utilisée est appelée Library Scanning Mutagenesis (LSM) (La Porte *et al.*, 2014). C'est une méthode très complexe mais permettant d'optimiser les choix de mutation. Pour résumer, les 4 premiers CDRs (deux de la chaîne légère L1 et L2 et deux de la chaîne lourde H1 et H2) sont modifiées pour correspondre aux CDRs de mumab911 en conservant certains acides aminés présents chez l'homme. Cela forme un anticorps dit intermédiaire. Ensuite commence la méthode LSM : avec un anticorps ne possédant que les 2 derniers CDRs L3 et H3 de mumab911 chaque acide aminé de L3 et H3 est remplacé par l'un des 19 autres acides aminés un par un. Autrement dit chaque clone produit un anticorps qui ne diffère que d'un seul acide aminé par rapport au CDRs L3 et H3 de mumab911 et tous les acides aminés existant sont testés. L'affinité avec le NGF de chaque anticorps est évaluée ce qui permet de définir le « statut » de la position de l'acide aminé modifié. Les positions d'acides aminés où la plupart des clones ont la même affinité que le non muté sont considérées comme « permissives » et les positions où la plupart des clones diminuent l'affinité sont considérées comme « restrictives ». Quatre positions permissives sont alors sélectionnées. Les CDRs L3 et H3 sont placés dans l'anticorps intermédiaire précédemment produit et les positions permissives sélectionnées sont

modifiées pour augmenter l'affinité structurelle du nouvel anticorps envers le NGF. Après d'autres modifications (non développées ici) on obtient le tanuzémab un anticorps humanisé plus affiné du NGF humain que le mumab911 et sans risque de réaction immunitaire au vu de son origine humaine (La Porte *et al.*, 2014).

Le tanézumab est l'anticorps monoclonal anti NGF le plus avancé dans les essais cliniques suivi de près par le fasinumab (REGN-475) qui entre dans sa troisième phase d'essai clinique. Le tanezumab est depuis 2020 en phase trois d'essai clinique contrairement aux autres anticorps monoclonaux comme le furanumab encore en phase deux (Markman *et al.*, 2020, p. 3). Pourtant le tanézumab a été retiré des essais cliniques en 2015 par la FDA (Food and Drug Administration) car le rapport bénéfice risque n'était pas assez élevé pour une autorisation de mise sur le marché. La molécule n'ayant pas changée, il est intéressant de se demander si celui-ci pourra être mis sur le marché et pourquoi le bedinvetmab et le frunvetmab n'ont pas eu ce problème.

Le NGF étant une protéine commune à de nombreuses espèces, le premier anticorps monoclonal anti-NGF est produit chez un rat. Il permettra ensuite la création des anticorps pour les autres espèces.

L'anticorps de rat le plus affiné du NGF est produit en grande quantité grâce à différentes techniques de sélections et d'hybridation.

Une fois le paratope de l'anticorps étudié, différentes méthodes pour adapter l'anticorps à chaque espèce sont utilisées :

- La PETisation (pour le chien et le chat) : la séquence de l'ADN codant pour le paratope de l'anticorps anti-NGF de rat est modifiée afin que le paratope de l'anticorps n'entraîne pas de réaction immunitaire tout en se fixant sur le NGF. Ensuite, cette séquence modifiée est ajoutée à une séquence d'ADN codant pour une fraction constante d'anticorps de l'espèce donnant un anticorps anti-NGF non immunogène.
- Le Library Scanning Mutagenesis (pour l'homme) : La séquence d'ADN d'un anticorps humain connu est modifiée pour que son paratope fixe le NGF

**PARTIE III : ÉTUDE PHARMACOCINÉTIQUE DU BEDINVETMAB, DU
FRUNEVETMAB ET DU TANEZUMAB**

1) Généralités sur la thérapeutique par les anticorps monoclonaux

Le premier anticorps monoclonal a été généré en 1975 mais c'est en 1986 qu'apparaît la première autorisation de mise sur le marché pour ce genre de médicament (Liu, 2014). En 2014 on compte 30 anticorps monoclonaux disponibles sur le marché. De nos jours, il en existe sur le marché plus de 175 disponibles (selon Center for Drug Evaluation and Research - Liste des produits biologiques sous licence en 2020) et des centaines sont encore en cours de développement (Parola, Neumeier and Reddy, 2018). Leur utilisation chez l'homme permet le traitement de diverses maladies et affections, comme : le cancer, les maladies inflammatoires chroniques, la transplantation, les maladies infectieuses et les maladies cardiovasculaires (Liu, 2014). Chez les carnivores domestiques ils permettent le traitement de la douleur arthrosique ou du prurit dans un contexte de dermatite atopique.

Aujourd'hui, avec les progrès majeurs dans le séquençage génétique et l'implication de la recherche dans la pratique clinique, les anticorps monoclonaux représentent la biotechnologie à la croissance la plus rapide (Liu, 2014). En plus des propriétés thérapeutiques, les anticorps monoclonaux permettent la fabrication de réactifs pour le diagnostic de certaines maladies.

2) Absorption

Quel que soit le médicament la voie d'administration modifie significativement l'absorption de celui-ci. Pour les anticorps monoclonaux la voie orale est totalement prohibée du fait de leur grande taille, de leur perméabilité membranaire limitée et surtout de leur destruction par les protéases gastro-intestinales puisque ce sont des protéines. Pour la plupart des anticorps monoclonaux, la perfusion intraveineuse (iv) est la voie d'administration la plus courante mais le tanézumab chez l'homme, le bedinvetmab et le frunévetmab chez les carnivores domestiques s'administrent par injection sous-cutanée pour des raisons pratiques.

Étant donné la grande taille des anticorps, l'administration sous cutanée fait appel essentiellement à un processus d'absorption dit convectif. Cette convection s'effectue de l'espace interstitiel du site d'injection au système lymphatique, puis vers la circulation systémique (Ryman and Meibohm, 2017). Le système convectif correspond au transport des anticorps en même temps que le déplacement général des liquides entre le tissu interstitiel, la lymphe et le sang. Cette absorption dépend donc de la différence de pression hydrostatique et oncotique entre chacun des compartiments ainsi que de la perméabilité des parois concernées. Il y a d'abord un échange entre le tissu interstitiel sous cutané et le système lymphatique puis entre le système lymphatique et le sang dans les capillaires. Étant donné que le flux de liquide dans les vaisseaux lymphatiques est très lent, le processus d'absorption des anticorps monoclonaux dans la circulation systémique après l'injection sous cutanée est tout aussi lent. Ainsi on a une augmentation lente de la concentration plasmatique en anticorps et un délai entre l'injection et la concentration maximale systémique (T max) de l'ordre de la semaine. En effet il est de 5.6 jours en moyenne pour le bedinvetmab, 6.2 jours en moyenne pour le frunévetmab (selon les Résumés Caractéristiques Produit RCP) et 1 à 2 semaines pour le tanézumab (Birbara *et al.*, 2018). Cette différence de Tmax peut s'expliquer

par la différence de constitution et de taille de l'hypoderme entre l'homme et les carnivores domestiques ainsi que le débit lymphatique (Ryman and Meibohm, 2017). En effet il a été montré que le débit lymphatique est le facteur le plus influent sur le T max pour l'absorption d'anticorps en sous cutané (Zhao et al., 2013) or le débit lymphatique des carnivores domestiques est plus élevé que celui de l'homme (288mL/kg/h chez le chien contre 130mL/kg/h chez l'homme) (Downey *et al.*, 2008).

En plus du délai d'absorption, les anticorps peuvent subir une élimination pré-systémique (Ryman and Meibohm, 2017). Ceci entraîne une diminution de la biodisponibilité, qui correspond à la quantité d'anticorps disponible pour agir par rapport à la quantité injectée. La biodisponibilité du bedinvetmab est de 84%, celle du frunévetmab de 60% et celle du tanézumab 70% (Birbara *et al.*, 2018). Cette élimination pré-systémique pourrait s'agir d'un effet combiné de l'activité des peptidases solubles dans l'espace interstitiel, de l'endocytose et de la dégradation lysosomale dans les cellules endothéliales tapissant les vaisseaux lymphatiques. L'implication de la voie de recyclage concernant le récepteur Fc néonatal (FcRn), ainsi que l'interaction avec les cellules immunitaires phagocytaires dans les ganglions lymphatiques seraient les processus les plus importants dans cette élimination. Les anticorps monoclonaux anti-ngf sont conçus pour ne pas se fixer au récepteur Fcγ mais ils peuvent se fixer au récepteur Fc néonatal. Cette liaison est confirmée pour le frunévetmab (Walters, Boucher and De Toni, 2021) et le tanezumab (Jonsson et al., 2016). Elle permet d'augmenter la demi-vie et la biodisponibilité en recyclant des anticorps qui, autrement, seraient dégradés par les lysosomes. Par exemple, il a été montré chez la souris qu'en l'absence de recyclage du FcRn, la biodisponibilité sous-cutanée d'un anticorps monoclonal diminuait de 76 à 42 % et la demi-vie passait de cinq jours à une demie journée pour certains anticorps (Deng et al., 2012). Ce mécanisme qui sera développé dans la prochaine partie est aussi présent pour le bedinvetmab qui se fixe au récepteur Fc néonatal (Krautmann *et al.*, 2021).

D'autres caractéristiques spécifiques de l'individu plutôt que de l'espèce peuvent avoir un effet sur l'absorption des anticorps, comme l'obésité, le sexe, l'âge, le niveau d'activité, l'état d'avancement de la maladie, la fréquence respiratoire et la pression artérielle. Chez l'homme, l'épaisseur de l'hypoderme augmente avec le poids corporel, diminue avec l'âge et dépend du sexe, ce qui peut entraîner des comportements d'absorption différents en fonction de l'individu. Il a aussi été montré que le flux lymphatique augmente de 83 % pendant 2 heures d'exercice, ce qui peut avoir un impact sur l'absorption des anticorps et donc de leur biodisponibilité à l'échelle individuelle (Downey *et al.*, 2008).

Une étude a montré que le site d'injection pouvait influencer l'absorption des protéines de grande taille chez le mouton (Kota *et al.*, 2007). Trois sites d'injections sous cutanés étaient étudiés : la zone interdigitée, l'abdomen et l'épaule. Les taux d'absorption étaient de 92% +/- 1% pour la zone interdigitée, 83% +/- 9% pour l'abdomen et 99% +/- 5% pour l'épaule. Aucune étude de la sorte n'a été effectuée pour optimiser l'absorption des anticorps monoclonaux anti NGF chez l'homme ou les carnivores domestiques.

3) Distribution

Une fois absorbés dans les vaisseaux sanguins les anticorps sont distribués dans tout l'organisme. La distribution des anticorps monoclonaux dépend de l'extravasation c'est-à-dire du passage des anticorps des vaisseaux sanguins vers les tissus. Une fois dans les tissus la distribution des anticorps dépend de leur liaison aux composants tissulaires tels que les récepteurs de surfaces cellulaires ainsi que de la clairance de l'anticorps au niveau des tissus. À ces facteurs s'ajoutent l'absorption et la dégradation intracellulaires (Ryman and Meibohm, 2017).

L'extravasation de molécules peut se produire via trois processus de base : la diffusion passive (très limitée en ce qui concerne les anticorps puisque ce sont de grosses protéines), le transport convectif, où les grosses molécules sont entraînées par les mouvements de fluide d'un compartiment à un autre, et la transcytose qui correspond au passage au travers d'une cellule, ici les cellules endothéliales vasculaires. Le principal mécanisme par lequel les anticorps monoclonaux se distribuent du sang vers les tissus est le transport convectif, comme pour leur absorption. La perméabilité du vaisseau en ce qui concerne le transport convectif est déterminée par la taille, la « tortuosité » et la porosité des vaisseaux. Ainsi une zone très vascularisée avec des capillaires sinusoides comme le foie laisse passer plus d'anticorps qu'une zone peu vascularisée avec des capillaires continus comme les tissus conjonctifs des articulations. Même si les articulations saines sont peu vascularisées, en cas d'arthrose le NGF entraîne une augmentation de la vascularisation et de l'inflammation dans la capsule synoviale. Ceci a pour conséquence d'augmenter à la fois l'extravasation de toutes les protéines y compris les IgGs mais aussi leur élimination. La distribution étant différente entre un individu atteint d'arthrose et un individu sain, les études pharmacocinétiques doivent être effectuées sur des individus arthrosiques. Les propriétés structurelles de l'anticorps comme sa taille, sa forme et sa charge influent aussi cette distribution (Ryman and Meibohm, 2017).

Du fait de leurs tailles importantes, 150kDa, les anticorps monoclonaux anti-NGF ont une distribution limitée et ne peuvent pas passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Enomoto *et al.*, 2019). Le fait qu'ils ne passent pas la BHE est un avantage considérable lors d'atteinte d'arthrose afin d'éviter les effets indésirables étant donné que le NGF est un facteur de croissance et de régénération nerveuse. Le fait d'utiliser un anticorps plutôt qu'une petite molécule permet une meilleure sécurité au détriment de la diffusion. En réalité, cette absence de passage de la BHE n'est pas totale, il a été montré que lors de la gestation les anticorps anti-NGF peuvent passer la barrière placentaire puis la BHE des fœtus. Des études sur des singes cynomolgus gestantes ont montré que le tanezumab entraînait une augmentation de la mortalité et une foetotoxicité de l'anticorps. La microscopie optique a révélé une diminution du nombre de neurones dans les ganglions sympathiques (mésentérique supérieur, cervicothoracique et ganglions du tronc sympathique thoracique) des fœtus de femelles ayant reçu le tanézumab par rapport au placebo. Il a aussi été mis en évidence une diminution globale du volume des ganglions de la racine dorsale (thoracique) et du nombre de neurones chez les animaux exposés au tanezumab à 4 mg/kg (n = 9) et 30 mg/kg (n = 1). À toutes les doses de tanezumab, le nerf sural était petit en raison de la diminution des axones myélinisés et non myélinisés (Butt *et al.*, 2014). Les anticorps anti-NGF peuvent donc passer la BHE de l'embryon lors de la gestation. Ce risque de passage de la BHE et donc cette toxicité

foétale explique pourquoi le bedinvetmab et le frunevetmab sont interdits sur les femmes gestantes et les animaux de moins de 12 mois.

Le deuxième processus permettant l'extravasation est la transcytose à travers les cellules endothéliales vasculaires, elle est médiée par le récepteur néonatal de la fraction constante (FcRn) des anticorps, et peut dans certains cas être une autre voie importante d'extravasation. Ce mécanisme est présent en plus grande proportion que la convection pour la distribution dans les zones peu vascularisées comme les articulations dans notre cas. Moins une zone est vascularisée avec des capillaires fenestrés moins le phénomène convectif est présent et plus la transcytose est importante. Le tanezumab, le bedinvetmab et le frunevetmab peuvent se fixer au FcRn et donc emprunter cette voie (Jonsson *et al.*, 2016) et (Walters, Boucher and De Toni, 2021).

Après extravasation, la distribution des anticorps à travers l'espace interstitiel repose sur la diffusion, la convection et l'affinité de l'anticorps pour son antigène dans l'espace interstitiel. Ainsi les anticorps ayant une plus forte affinité pour leur antigène interstitiel ont un plus grand volume de distribution. Le volume de distribution correspond au volume théorique de liquide qu'il faudrait pour diluer le médicament afin d'avoir la même concentration en molécule thérapeutique que la concentration plasmatique. Ainsi un grand volume de distribution correspond à un médicament avec une bonne répartition interstitielle et un petit volume de distribution à un médicament qui reste dans la circulation systémique (Fan and de Lannoy, 2014). Le volume de distribution du frunevetmab et du tanezumab est étudié à partir d'un modèle à deux compartiments à l'équilibre. On retrouve le volume central qui correspond au volume théorique sanguin dans lequel les anticorps se distribuent et le volume périphérique aussi appelé tissulaire qui correspond au volume de tissus dans lequel les anticorps se distribuent. Pour le tanezumab le volume de distribution central est évalué à 2.71L et le volume périphérique à 1.81 L (Jonsson *et al.*, 2016). Pour le frunevetmab le volume central est de 0.127L et le volume périphérique de 0.085L (Walters, Boucher and De Toni, 2021). Même si le tanezumab possède un plus grand volume de distribution central cela reste des valeurs assez faibles car elles sont proches du volume plasmatique de chacune des espèces. Autrement dit les anticorps ont une faible distribution et restent principalement dans le sang et le liquide interstitiel sans absorption intracellulaire. Le ratio anticorps tissulaire / anticorps sanguin est d'environ 0,66 à l'équilibre pour les deux anticorps monoclonaux. Ce sont des valeurs classiques pour les anticorps monoclonaux car en moyenne sur les anticorps connus en 2010 le volume central est de 3,1 (2,4-5,5) L et le volume périphérique de 2,8 (1,3-6,8) L chez l'homme soit un ratio de 0,9 (Dirks and Meibohm, 2010). En utilisant les formules classiques de pharmacocinétique, le calcul du volume de distribution du bedinvetmab donne $V_d=0.101$ L (voir annexe 1). Cette valeur est proche de celui du frunevetmab ainsi on peut penser que par leur méthode de fabrication commune ils ont une distribution comparable.

La distribution tissulaire de grandes protéines, comme les molécules d'IgG, est entravée par la matrice extracellulaire. L'espace interstitiel articulaire est rempli de matrice extracellulaire, qui correspond à un gel chargé négativement composé d'acide hyaluronique et de protéines structurales comme le collagène. Il existe une exclusion mutuelle entre les molécules d'IgG et les protéines structurales de cette matrice. La fraction de la matrice extracellulaire qui n'est pas disponible pour la distribution est exprimée en volume exclu. Le volume exclu pour les molécules d'IgG est d'environ 50 % dans les tissus musculaires et

cutanés (Ryman and Meibohm, 2017). Plus l'affinité et la spécificité de l'anticorps pour son antigène sont élevées plus la distribution est augmentée.

L'affinité correspond à la force de liaison de l'anticorps à son antigène. Cette mesure est quantifiée grâce à la constante de dissociation d'équilibre (KD). La liaison d'un anticorps à son antigène est un processus réversible, et le taux de la réaction de liaison est proportionnelle à la concentration des réactifs. On étudie donc cette valeur à l'équilibre à différentes concentrations grâce à un ou plusieurs instruments différents pour comparer leur valeurs (Biacore 3000, Octet QK, ProteOn XPR36, KinExA 3000). Plus la valeur KD est petite, plus l'affinité de l'anticorps pour sa cible est grande. La plupart des anticorps ont des valeurs de KD dans la gamme micro-molaire (10^{-6}) à nano-molaire (10^{-7} à 10^{-9}). Les anticorps à haute affinité sont généralement considérés comme étant dans la gamme nano-molaire basse (10^{-9}), les anticorps à très haute affinité étant dans la gamme pico-molaire (10^{-12}) (Abdiche, Malashock and Pons, 2008).

Le tanezumab, le bedinvetmab et le frunevetmab ont une très bonne affinité pour leur NGF respectif. En effet le tanezumab possède une KD inférieure à 10pM (10×10^{-12} mol) d'après les mesures de Biacore 3000, Octet QK, ProteOn XPR36 et KinExA 3000 (Abdiche, Malashock and Pons, 2008). Le frunevetmab a une KD mesurée par ProteOn XPR36 de 20pM (Gearing *et al.*, 2016). Le bedinvetmab a une KD mesurée par ProteOn XPR36 inférieure à 1pM (Gearing *et al.*, 2013). Le bedinvetmab est donc plus affiné pour le NGF que le tanezumab lui-même plus affiné que le frunevetmab. On retrouve le même ordre que pour la biodisponibilité. Cette affinité finalement presque équivalente pour les trois est plus importante que celle du récepteur TrKa pour le NGF (Abdiche, Malashock and Pons, 2008). Ainsi les anticorps monoclonaux anti-NGF empêchent totalement la fixation du NGF sur son récepteur.

Une fois que les anticorps sont dans le liquide interstitiel un autre phénomène vient limiter la distribution à l'intérieur du tissu et des cellules : c'est l'élimination distributive. Les anticorps sortent des vaisseaux sanguins plus lentement qu'ils ne rentrent dans les vaisseaux lymphatiques puisque les phénomènes de convections y sont plus importants. En effet l'essentiel de la distribution est lié à la convection et le réseau lymphatique est très ouvert en raison du diamètre relativement grand des pores des canaux lymphatiques. C'est dans ce réseau lymphatique que la plupart des anticorps sont éliminés. Ainsi dès l'extravasation sanguine les anticorps sont emmenés dans le réseau lymphatique pour y être éliminés. Ce phénomène reste limité de par la lenteur du flux lymphatique (Dirks and Meibohm, 2010). Donc même si en théorie les anticorps devraient passer directement dans le système lymphatique pour être ensuite éliminés, en pratique ce n'est pas le cas car le flux lymphatique est trop faible.

Dans toutes les espèces, les anticorps anti-NGF ont une bonne absorption et une bonne distribution en injection sous cutanée.

Le passage très limité de la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE) permet une bonne sécurité des anticorps.

Malgré tout la BHE et la barrière placentaire ne sont pas totalement imperméables aux anticorps anti-NGF, il y a donc un risque de toxicité fœtal lors de gestation ou lors d'injection chez les jeunes individus.

4) Élimination

Étant donné leur statut de grandes protéines les anticorps sont éliminés par excrétion ou par catabolisme. En effet, contrairement aux petites molécules, les anticorps sont trop gros pour être filtrés par les reins et ne sont donc pas éliminés dans l'urine, exceptées lors de certaines conditions pathologiques. Si des fragments d'anticorps de faible poids moléculaire sont filtrés, ils sont généralement réabsorbés et métabolisés dans le tubule proximal du néphron. L'excrétion biliaire est responsable d'une très petite partie de l'élimination des anticorps IgG. Ainsi, l'élimination des IgG se produit principalement par catabolisme intracellulaire avec un processus de dégradation lysosomale en acides aminés. Ce catabolisme est effectué après absorption cellulaire soit par pinocytose, c'est-à-dire une endocytose en phase fluide non spécifique, soit par un processus d'endocytose médié par des récepteurs. Contrairement à la phagocytose qui n'est réalisé que par les macrophages ce processus peut être réalisé par n'importe quelle cellule de l'organisme.

L'endocytose médiée par les récepteurs des IgG explique le caractère non linéaire de l'élimination à petite dose qu'on retrouve lors de l'étude pharmacocinétique du tanezumab (non évoqué pour le frunvetmab et le bedinvetmab mais probablement présent) (Jonsson et al., 2016). Une fois que l'anticorps est fixé à sa cible la partie Fc de celui-ci est modifiée. Le complexe anticorps/antigène est donc reconnu par différents récepteurs entraînant un processus d'élimination par endocytose. Ce mécanisme permet aux phagocytes d'éliminer les anticorps fixés uniquement. Ce mécanisme étant limité par le nombre de récepteur et les capacités métaboliques cellulaires il est vite saturé ce qui donne cet aspect non-linéaire (rapide puis lent) de l'élimination. Le phénomène est alors nommé target-mediated drug disposition (TMDD) signifiant élimination ciblée des médicaments. Plus l'affinité et la spécificité de l'anticorps pour sa cible sont fortes plus la TMDD est importante. Ce qui est le cas des anticorps monoclonaux anti-NGF qui ont une haute affinité et spécificité pour le NGF (An, 2020) Ryman and Meibohm, 2017). La TMDD peut également être facilitée par la liaison du domaine Fc aux récepteurs Fcγ mais ce n'est pas le cas pour nos anticorps anti-NGF qui ne se lient pas à ce récepteur.

Le deuxième processus d'élimination est la pinocytose. C'est une endocytose en phase fluide relativement peu spécifique effectuée principalement par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. En raison de la grande surface totale de ces cellules dans le corps ($> 1\ 000\ m^2$), ce processus élimine efficacement les molécules d'IgG. La dégradation des IgG après l'absorption globale de plasma n'est pas limitée à un organe spécifique mais se produit dans tout le corps, en particulier dans les organes et les tissus avec une grande densité de capillaires bordés de cellules endothéliales. Ainsi, la peau, les muscles et le tractus gastro-intestinal sont les principaux organes d'élimination des molécules d'IgG (Ryman and Meibohm, 2017).

L'absorption intracellulaire via la pinocytose ne différencie pas les protéines qui sont absorbées pour la dégradation. Ainsi, pour ne pas détruire ses propres anticorps un mécanisme de protection des molécules d'IgG est présent afin de soutenir leur fonction physiologique et conférer une immunité à long terme. Cette voie de récupération est médiée par le récepteur Fc néonatal (FcRn), également appelé récepteur de Brambell. L'IgG est absorbée par pinocytose formant ainsi un endosome qui comprend des récepteurs Fc

néonataux dans sa membrane. Au pH physiologique, ces récepteurs ont une faible affinité pour les IgG, mais à mesure que l'endosome est acidifié, l'affinité augmente et permet aux IgG de se fixer au site de liaison spécifique du domaine Fc. Une fois lié, le complexe récepteur/IgG est renvoyé à la surface cellulaire. Le plasma étant à pH physiologique l'affinité de Fc de l'IgG pour son récepteur diminue et l'anticorps est libéré dans la circulation sanguine (figure 8). Les autres protéines restées dans l'endosome subissent une dégradation protéolytique par le lysosome. Ce recyclage protège environ les deux tiers des molécules d'IgG prises dans les endosomes de la dégradation catabolique (Ryman and Meibohm, 2017). En conséquence, la demi-vie des anticorps monoclonaux est beaucoup plus élevée qu'elle ne devrait l'être et comme la vitesse d'élimination est faible leur durée d'action sera longue. Par exemple le tanezumab possède une demi-vie de 23 jours (Jonsson *et al.*, 2016) et il reste environ 2.5 mois dans l'organisme à dose efficace. Le frunévetmab a une demi-vie de 10.1 ± 1.9 jours (Walters, Boucher and De Toni, 2021) et le bedinvetmab de 12 jours (RCP bedinvetmab) soit une durée d'efficacité d'un mois environ. Le FcRn facilite également la transcytose des anticorps monoclonaux dans une variété d'organes et de tissus et permettrait une meilleure distribution, mais ce n'est pas montré dans les études pharmacocinétique (Ryman and Meibohm, 2017).

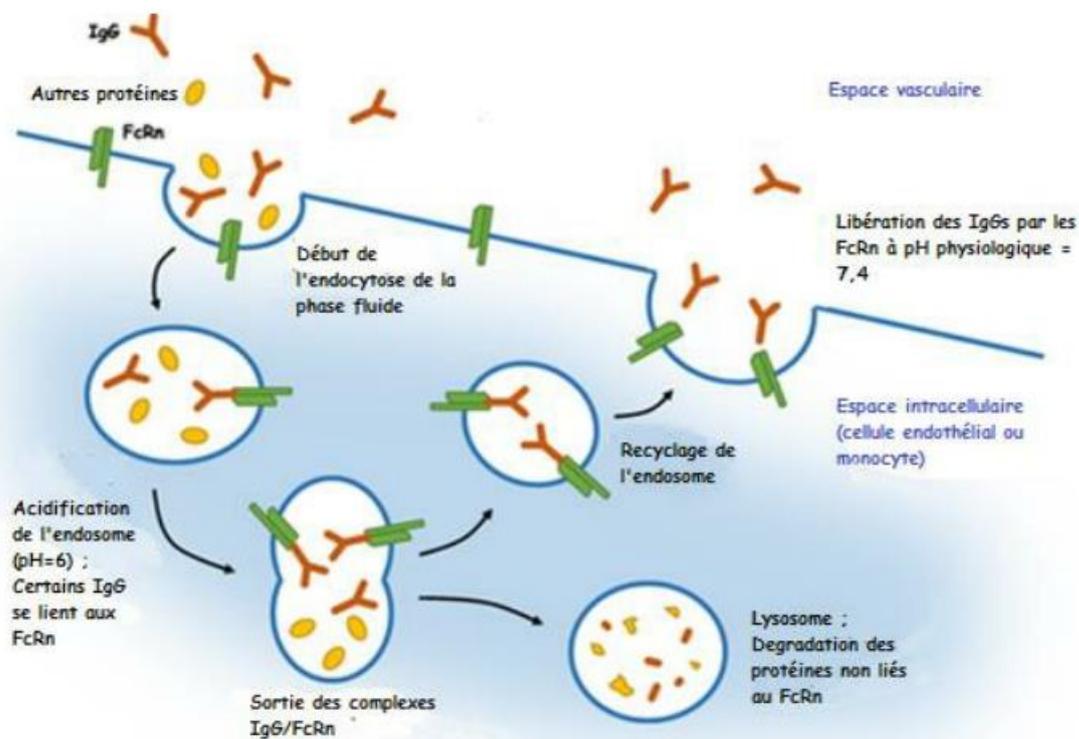


Figure 8 : Protection des molécules d'immunoglobuline G (IgG) contre la dégradation lysosomale par la voie de récupération du récepteur néonatal de la fraction constante (FcRn) des IgG (Ryman and Meibohm, 2017) license CC-BY

Une étude a montré que chez des souris dépourvues de récepteur Fc néonatal, la clairance (CL) de leurs IgGs était multipliée par 10 par rapport à la clairance de souris saines (Junghans and Anderson, 1996). La clairance correspond au volume sanguin ou plasmatique totalement débarrassé de la substance par unité de temps. Ici la clairance de chaque anticorps a été évaluée grâce aux études pharmacocinétique à partir de l'aire sous la courbe (AUC) de concentration plasmatique d'anticorps après injection.

En effet par définition $CL = \text{Dose de médicament injecté en intraveineux} / \text{AUC}$. Une clairance faible correspond à un anticorps qui reste longtemps dans l'organisme. Le frunevetmab a une clairance de 0.648 mL/h soit 15.5mL/jour (Walters, Boucher and De Toni, 2021). Le tanezumab possède une clairance de 0.135 L/jour soit 135mL/jour (Jonsson *et al.*, 2016). Le bedinvetmab quant à lui, on obtient une clairance de 6mL/j en utilisant les formules de l'annexe 1 et les données du RCP. La clairance moyenne d'un anticorps monoclonal chez l'homme varie de 200 à 500mL/jour (Dirks and Meibohm, 2010) donc le tanezumab est un anticorps pouvant rester longtemps dans l'organisme par rapport aux autres anticorps monoclonaux habituellement utilisé chez l'homme . Il est important de comparer ces données entre espèces en prenant en compte la quantité de plasma total de l'individu. Un chat possède en moyenne 330mL de sang et un homme 5L donc à clairance plasmatique identique on obtient pour un chat 4,6 % du sang débarrassé des anticorps chaque jour et pour l'homme on obtient 2.7%. Le frunevetmab est finalement plus vite éliminé que le tanezumab. Malgré tout, la clairance de chaque anti-NGF est très faible par rapport à d'autres molécules ce qui permet leur persistance dans l'organisme.

L'élimination des anticorps anti-NGF ne se fait pas par la voie cytochrome P450. Les cytochrome P450 sont des hémoprotéines produites principalement par le foie qui jouent un rôle central dans la détoxification de la plupart des molécules pharmaceutiques. La saturation de ce mécanisme d'élimination est souvent une cause de toxicité médicamenteuse (Manikandan and Nagini, 2018). L'association des anticorps monoclonaux avec d'autre médicament serait donc envisageable car les anticorps n'utilisent pas les mêmes voies d'élimination que les médicaments classiques. Dans le cas d'arthrose sévère l'utilisation d'AINS en association avec les anticorps anti-NGF est donc théoriquement possible au vu de leurs différentes voies d'éliminations. Il s'avère que les essais cliniques de cette association ne sont pas vraiment concluants (voir Partie IV).

Le principal processus d'élimination des anticorps passe par les phagocytes qui effectuent une endocytose spécifique des anticorps ayant fixé le NGF.

Le deuxième processus d'élimination est la pinocytose effectuée par toutes les cellules et non spécifique. Un mécanisme de recyclage des anticorps permet d'augmenter leur biodisponibilité dans le temps.

Cette élimination différente des autres médicaments utilisés classiquement permet une sécurité de l'association avec d'autres molécules thérapeutiques comme les AINS ou le paracétamol.

5) Variabilités interindividuelles

Lors de chaque étude pharmacocinétique il est important d'évaluer la variation des paramètres comme la clairance, la biodisponibilité ou le volume de distribution en fonction des individus. Des paramètres physiologiques comme le poids, le sexe, la race/l'origine ethnique, la dose injectée, le site arthroscopique ou la clairance de la créatinine du patient sont étudiés car ils peuvent influencer la pharmacocinétique de chacun des anticorps anti-NGF. Dans les différentes études pharmacocinétiques, pour chaque paramètre pharmacocinétique la covariance et le coefficient de corrélation avec un paramètre physiologique individuel est calculé. Ainsi un modèle pharmacocinétique est établi en conservant les paramètres physiologiques les plus pertinents.

Pour le tanezumab, le modèle pharmacocinétique est conçu à partir de données de 1608 patients provenant de quatre études de phase trois menées pour évaluer l'efficacité et l'innocuité du tanezumab par voie intraveineuse. Les patients ont reçu deux ou trois doses intraveineuses (2,5, 5 ou 10 mg) toutes les 8 semaines et la concentration sanguine en tanezumab est mesurée au cours du temps. Les données sont triées et analysées avec le logiciel de modélisation NONMEM (ICON Development Solutions) (Jonsson *et al.*, 2016).

La première étape a consisté à utiliser chaque variable physiologique et à faire un modèle à une variable, les variables donnant les modèles les plus pertinents sont sélectionnées. Ensuite ces variables ont été évaluées dans un modèle de régression pas à pas. Le principe était de commencer avec un modèle sans variable, et d'ajouter les variables de la plus pertinente à la moins pertinente jusqu'à ce que la valeur p de l'ajout de la variable soit supérieure à un certain seuil (ici $p=0.01$). La valeur p pour chaque ajout d'une variable teste l'hypothèse nulle que le coefficient lié à cette variable est égal à zéro (autrement dit qu'il n'a aucun effet sur le modèle). En d'autres termes, une variable qui a une faible valeur p est susceptible d'être un ajout significatif au modèle parce que les changements qu'elle apporte sont liés à une amélioration de celui-ci. Une fois cette limite atteinte chaque variable est retirée une à une jusqu'à ce que la valeur p du retrait soit inférieur à 0.001. On obtient ainsi un modèle avec les variables les plus significatives. La dernière étape a consisté à utiliser la méthode de régression pas à pas avec les variables non sélectionnées à la première étape. On obtient ainsi un modèle permettant d'évaluer la clairance, le volume de distribution central et périphérique en fonction de certains paramètres physiologiques de l'individu et de la dose injectée.

Cette méthode possède certains inconvénients (*Principes de base de la régression pas à pas*, no date):

- Si deux variables de prédiction sont étroitement corrélées, seule l'une d'elles risque de figurer dans le modèle, même si les deux peuvent s'avérer importantes.
- Etant donné que la procédure ajuste de nombreux modèles, il peut en sélectionner certains qui n'ajustent les données correctement que du fait du hasard
- La régression pas à pas n'aboutit pas forcément au modèle détenant la valeur de R_2 la plus élevée possible pour un nombre donné de prédicteurs.

- Les procédures automatiques ne peuvent pas tenir compte des connaissances particulières que l'analyste peut avoir sur les données. Par conséquent, le modèle sélectionné peut ne pas être le meilleur d'un point de vue pratique. Dans cette étude les variables ont donc été sélectionnées pour avoir une réalité scientifique.

Cette étude a montré que la clairance du tanezumab variait en fonction du poids, du sexe, de la clairance en créatinine de l'individu et de la dose de tanezumab injectée. Le volume central varie en fonction du poids et du sexe de l'individu et le volume périphérique en fonction du poids seulement.

Paramètres	Influence
Poids de l'individu sur clairance de l'anticorps	Une variation de 10% du poids dans un sens entraîne une variation de 8% de la clairance dans le même sens
Clairance de la créatinine de l'individu sur clairance de l'anticorps	Une variation de 10% de la clairance de la créatinine dans un sens conduit à une variation de 1% de la clairance en tanezumab dans le même sens
Sexe de l'individu sur clairance de l'anticorps	Les hommes ont une clairance de l'anticorps 14% plus élevée que les femmes
Dose d'anticorps injecté sur clairance de l'anticorps	La clairance est 7 % plus élevée avec une dose de 2,5 et 5 mg par rapport à une dose de 10 mg
Poids de l'individu sur volume central	Une variation de 10% de poids dans un sens entraîne une variation de 5% de volume central dans le même sens
Sexe de l'individu sur volume central	Les hommes ont un volume central 18% plus élevé que les femmes
Poids de l'individu sur volume périphérique	Une variation de 10% du poids dans un sens entraîne une variation de 3% du volume périphérique dans le même sens

Tableau 1 : L'impact des covariables sur le paramètre pharmacocinétique du tanezumab correspondant (Jonsson *et al.*, 2016)

Le paramètre ayant la plus grande influence sur la variabilité pharmacocinétique est le poids, une plus grande masse corporelle est associée à un volume de distribution plus élevé ainsi qu'une clairance plus importante. La clairance plus lente et le volume de distribution inférieur chez les femmes par rapport aux hommes peuvent s'expliquer par une expression plus élevée du récepteur FcRn chez les femmes (Dostalek *et al.*, 2013). Ceci est probablement causé par des différences dans l'expression de cytokines inflammatoires ou d'hormones qui sont connues pour moduler l'expression de ce récepteur. De plus, l'expression de FcRn pourrait être plus faible chez les hommes en raison d'une masse musculaire plus élevée, où l'expression de FcRn est relativement faible (Jonsson *et al.*, 2016).

Pour ce qui est de la clairance de la créatinine il paraît incohérent qu'elle influe sur celle du tanezumab. En effet la créatinine est éliminée par voie rénale alors que le tanezumab n'empreinte pas cette voie d'élimination au vu de sa structure protéique. L'explication pourrait venir de l'expression du récepteur Fc néonatal dans la partie proximale des cellules rénales. Celui-ci peut entraîner un transfert possible d'IgG dans l'urine par transcytose (Akilesh *et al.*, 2008) . Le rôle mineur du rein dans la clairance des IgG est tout de même confirmé par les résultats de l'analyse avec seulement 1% d'augmentation de la clairance de l'anticorps lors d'une augmentation de 10% de la clairance de la créatinine. La clairance rénale des IgG endogènes représente moins de 15 % de la clairance totale en condition physiologique, cela explique pourquoi les corrélations de variation sont si faible.

L'étude de ces variations de pharmacocinétique interindividuelle permet de connaître le système de posologie le plus adapté entre dose/kg et dose par tranche de poids ou alors la même dose pour tout le monde. Ici il n'y a qu'une petite augmentation de la variabilité entre une dose fixe et une posologie ajustée au poids (Jonsson *et al.*, 2016). Plusieurs travaux explorant la différence d'efficacité entre un dosage fixe et une posologie ajustée au poids pour les anticorps monoclonaux avaient aussi montré cette faible variabilité. Dans cette étude certains anticorps avaient une plus grande efficacité à dose fixe (Wang *et al.*, 2009). Il est également probable que la différence entre le dosage ajusté en fonction du poids et le dosage fixe soit plus faible dans la pratique en raison des arrondis et des erreurs potentielles dans le calcul du poids et de la dose pour le dosage ajusté.

La variation des paramètres comme la clairance, la biodisponibilité ou le volume de distribution en fonction des paramètre individuel des chats a aussi été évalué pour le frunévetmab. Un total de 777 échantillons de concentration plasmatique de 265 chats ont été simultanément modélisés à l'aide d'un système de modélisation à effet mixte non linéaire (Walters, Boucher and De Toni, 2021). Le logiciel NONMEM (version 7.4.3, ICON Plc, Gaithersburg, MD, USA) a été utilisé pour la modélisation des paramètres pharmacocinétique précédemment cités. Pour évaluer si des variations interindividuelles comme le poids, le sexe, la clairance de la créatinine, pouvait exercer une influence sur les paramètres pharmacocinétique du frunévetmab, une matrice de variance-covariance complète a été utilisé pour modélisé des paramètres pharmacocinétiques comme la biodisponibilité, la clairance, le volume central et périphérique . La biodisponibilité a été initialement incluse dans cette étude mais n'a pas pu être estimée avec une précision acceptable. Pour les paramètres de clairance et de volume central et périphérique, le seul paramètre individuel exerçant une réelle influence était le poids. Ainsi on peut se demander si une posologie poids dépendante n'est pas plus intéressante qu'une dose unique par tranche de 7kg de poids vif comme c'est le cas actuellement pour le frunévetmab. Mais tout comme le tanezumab le poids a peu d'influence sur l'efficacité de l'anticorps car son innocuité et son absence de toxicité permet d'administrer des doses en excès (Walters, Boucher and De Toni, 2021). La dose toxique est difficilement atteinte et la dose thérapeutique l'est facilement. Ainsi avec des doses pour une tranche de poids de 7kg la dose varie entre 1.0 et 2.8mg/kg permettant un effet thérapeutique sans toxicité pour tous les patients (voir partie IV).

La biodisponibilité quant à elle est très variable en fonction des individus, en effet l'intervalle de confiance à 95% est [44.5%-76.1%] avec une valeur minimum de 27.6% et un maximum de 83.4% (Walters, Boucher and De Toni, 2021). Malgré tout, cette biodisponibilité serait suffisante selon les auteurs. En effet les premières études montrent une efficacité à

0.4mg/kg en sous cutané soit une dose intraveineuse maximale à 0.32mg/kg. Ceci est proche de la dose atteinte pour un chat ayant 1mg/kg avec la biodisponibilité minimale soit 0.28mg/kg.

Pour le bedinvetmab, aucune donnée pharmacocinétique sur la variabilité interindividuelle n'a été publiée.

Des variabilités individuelles comme le sexe ou la clairance de la créatinine influe sur la biodisponibilité du tanezumab chez l'homme mais cette influence reste minime.

Chez l'homme, le chat et probablement le chien la biodisponibilité et le volume de distribution sont surtout influencer par le poids de l'individu. Les anticorps monoclonaux étant de faible toxicité une injection calculer par tranche de poids permet une biodisponibilité et un volume de distribution suffisant.

**PARTIE IV : PHARMACODYNAMIQUE, RESULTATS CLINIQUES ET
SECURITÉ DES ANTICORPS MONOCLONAUX**

1) Attentes et généralités

En se fixant sur le NGF chacun des anticorps monoclonaux précédemment évoqués inhibe la liaison du NGF aux récepteurs TrkA et P75. En empêchant cette liaison l'anticorps devrait inhiber les mécanismes d'action du NGF vu en première partie et donc entraîner :

- **Diminution de l'inflammation et de la production de molécules se fixant sur les récepteurs nociceptifs (NGF compris)**
- **Empêcher la diminution du seuil d'activation des neurones nociceptifs (Neuropathie)**
- **Diminution de la densité de fibres nociceptive dans la membrane synoviale**

Le principal effet recherché reste la diminution de la douleur car la lésion d'arthrose elle-même ne peut pas être soignée. La diminution de l'inflammation (quantité de cellule inflammatoire) lors d'injection d'anticorps monoclonaux anti-NGF n'a pas été démontrée dans les modèles expérimentaux faits chez la souris et le rat. Chez le rat après induction d'arthrose par injection de MIA (mono-iodoacetate), le grade de la boiterie, l'intensité de la liaison et la taille de l'œdème faisant suite à cette injection ont été mesurés. L'injection d'anticorps anti-NGF sur ces rats a entraîné une amélioration statistiquement significative du déséquilibre de la marche, même 35 jours après cette unique injection. Malgré tout cette injection n'a pas supprimé l'œdème et n'a pas modifié la lésion (Ishikawa et al., 2015). Une autre étude a montré que chez des souris ayant reçu une injection d'adjuvant complet de Freund, il y a eu une augmentation significative de la densité des macrophages, des vaisseaux sanguins et des fibres nerveuses sensorielles dans la membrane synoviale, ainsi qu'une augmentation significative de comportements liés à la douleur. Dans ce modèle l'administration d'anticorps anti-NGF réduisait les comportements liés à la douleur et la production de fibres nerveuses dans la membrane synoviale. Cependant, l'injection n'a eu aucun effet significatif sur l'augmentation de la densité des vaisseaux sanguins ou des macrophages et donc sur l'inflammation. La mesure de la douleur sera le principal critère d'efficacité des tests des anticorps monoclonaux.

En plus de la diminution de la douleur il faut vérifier que l'anticorps n'entraîne pas d'immunogénicité. Les anticorps anti-anticorps monoclonaux (ADA= Anti-Drug Antibodies) possiblement produits par le patient peuvent entraîner une perte d'efficacité de l'anti-NGF voire des effets secondaires nocifs. Les autres effets secondaires non produits par cette immunogénicité sont aussi à identifier et à limiter au maximum grâce à la posologie ou aux changements de la structure de l'anticorps monoclonal.

2) Les grilles d'évaluation de la douleur

L'évaluation de l'efficacité des anticorps monoclonaux passe donc par la mise en place d'un score de douleur et par l'étude son évolution. Pour cela il y a clairement une différence entre l'homme adulte et les carnivores domestiques du fait de l'absence de langage chez les animaux et l'enfant (même si le risque d'arthrose chez l'enfant est négligeable). Malgré tout, le principe reste le même. Le propriétaire ou le patient remplit un questionnaire sur la douleur ressentie directement sur lui ou indirectement sur son animal ainsi que sur son activité ou sa qualité de vie. Chaque réponse donne un score et la somme de ces scores permet d'évaluer la douleur. La variation du score permet de déterminer et de qualifier l'évolution de la douleur au cours du temps.

A) La grille CBPI (Canine Brief Pain Inventory)

La grille CBPI (voir figure 9) concerne l'évaluation de la douleur chronique chez le chien. Elle est à remplir par le même propriétaire à chaque fois et se divise en trois parties.

La première partie nommée PSS (Pain Severity Score) consiste à évaluer la douleur du chien via les observations du propriétaire. Il y a quatre questions notées de 0 à 10 (0 étant l'absence de douleur et 10 une douleur sévère). C'est la moyenne de ces questions qui donneront le score PSS de l'animal.

La deuxième partie nommée PIS (Pain Interference score) évalue l'influence de la douleur sur l'activité de l'animal. Il y a six questions notées de 0 à 10 (0 étant une activité normale et 10 une absence d'activité) et c'est la moyenne de ces questions qui donneront le score PIS de l'animal.

Il a été démontré qu'une diminution du score PSS de un point et du score PIS de deux points sur le même animal est significatif du succès du traitement (Brown, Bell and Rhodes, 2013). Cette étude a été menée sur 150 chiens arthrosiques et compare les changements de scores des animaux sous traitement AINS et ceux sous placebo.

La dernière partie nommée QOL (Quality Of Life) est une question notée sur cinq points (de mauvais 0 à excellent 5) demandant au propriétaire d'évaluer la qualité de vie générale de son animal.

La langue du questionnaire est importante, le sens des mots permettant d'exprimer les observations et les interprétations que le propriétaire a concernant ses grilles, le score dépend donc de la précision linguistique. Pour l'instant le questionnaire n'est approuvé qu'en anglais et en français (Ragetly, Massey and Brown, 2019).

Ce questionnaire est considéré comme fiable pour évaluer l'efficacité d'un procédé pharmaceutique sur la douleur arthrosique (Brown *et al.*, 2008) que le propriétaire ait ses anciennes réponses à disposition ou non (Muller *et al.*, 2016). Il est donc le plus utilisé pour l'évaluation de l'efficacité du bedinvetmab et du ranvetmab.

Canine Brief Pain Inventory

Description of pain:

Rate your dog's pain:

1. Fill in the oval next to the one number that best describes the pain at its **worst** in the last 7 days.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
No pain Extreme pain

2. Fill in the oval next to the one number that best describes the pain at its **least** in the last 7 days

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
No pain Extreme pain

3. Fill in the oval next to the one number that best describes the pain at its **average** in the last 7 days.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
No pain Extreme pain

4. Fill in the oval next to the one number that best describes the pain as it is **right now**.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
No pain Extreme pain

Description of function:

Fill in the oval next to the one number that best describes how during the last 7 days **pain has interfered** with your dog's:

5. **General Activity**

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

6. **Enjoyment of Life**

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

7. **Ability to Rise to Standing From Lying Down**

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

Brief Pain Inventory, con't

8. Ability to Walk

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

9. Ability to Run

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

10. Ability to Climb Stairs, Curbs, Doorsteps, etc.

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Does not interfere Completely interferes

Overall impression:

11. Fill in the oval next to the one number that best describes your dog's overall quality of life over the last 7 days.

Poor Fair Good Very Good Excellent

Figure 9 : grille CBPI (Canine Brief Pain Inventory)

b) La grille LOAD (Liverpool Osteoarthritis in Dogs)

Le questionnaire LOAD (voir figure 10) a d'abord été validé pour évaluer l'arthrite du coude canin. Le questionnaire se divise en deux parties : 5 questions sur le domaine général et 8 questions sur les capacités du chien à l'exercice. Le propriétaire doit répondre aux questions sur une échelle descriptive simple allant de « l'arthrose n'influe pas sur ce domaine » à « l'arthrose l'empêche de faire cette activité » ce qui correspondra respectivement à un score allant de 0 à 4. Les points sont alors additionnés donnant un score allant de 0 à 52 (0 correspondant à une faible douleur arthrosique et 52 à une extrême douleur). Le propriétaire ne doit pas connaître le score pour chaque question.

Une étude sur 222 chiens atteint d'arthrose a montré une corrélation significative entre le LOAD et le CBPI. Ces deux grilles sont donc en accord pour quantifier la douleur chez les chiens arthrosiques (Walton *et al.*, 2013).

Questionnaire LOAD* sur l'arthrose canine

Questionnaire pour les propriétaires de chiens avec problèmes de mobilité

Nous vous remercions d'avoir accepté de remplir ce questionnaire. Votre collaboration nous permet de récolter des informations utiles à propos de votre animal de compagnie. Nous serons ainsi mieux outillés pour évaluer la santé de ses articulations en vue de déterminer la meilleure façon de l'aider à vivre en meilleure santé et plus heureux.

Veuillez répondre à toutes les questions au meilleur de votre connaissance. Ne cochez qu'une case par question, à moins d'indication contraire. Si vous avez un doute quant à une question, veuillez vous adresser à un membre du personnel.



Renseignements généraux

Nom du propriétaire :

Nom de l'animal de compagnie :

Date : YYYY-MM-DD

Réservé à l'usage interne

Membre affecté : AG AD PG PD

Réinitialiser

En général

1. Comment qualifieriez-vous la mobilité de votre chien, en général?

Très bonne
 Bonne
 Convenable
 Faible
 Très faible

2. À quel point votre chien est-il handicapé par sa boiterie?

Pas du tout handicapé
 Légèrement handicapé
 Modérément handicapé
 Gravement handicapé
 Extrêmement handicapé

3. Quel est le degré d'activité de votre chien?

Extrêmement actif
 Très actif
 Moyennement actif
 Peu actif
 Pas du tout actif

4. Quelle est l'influence du temps froid et humide sur la boiterie de votre chien?

Aucune influence
 Légère influence
 Influence modérée
 Influence marquée
 Influence très marquée

5. Quel degré de raideur constatez-vous dans le membre affecté de votre chien après un repos en position couchée?

Aucune raideur
 Légère raideur
 Raideur modérée
 Forte raideur
 Raideur extrême

* Liverpool Osteoarthritis in Dogs

À l'exercice

6. À l'exercice, quel est le degré d'activité de votre chien?

Extrêmement actif
 Très actif
 Moyennement actif
 Peu actif
 Pas du tout actif

7. Comment qualifieriez-vous l'enthousiasme de votre animal pour l'exercice?

Extrêmement enthousiaste
 Très enthousiaste
 Moyennement enthousiaste
 Peu enthousiaste
 Nullément enthousiaste

8. Comment qualifieriez-vous l'aptitude de votre chien à l'exercice?

Très bonne
 Bonne
 Moyenne
 Faible
 Très faible

9. De manière générale, quel est l'effet de l'activité physique sur la boiterie de votre chien?

Aucun effet
 Effet léger
 Effet modéré
 Effet marqué
 Effet très marqué

10. Combien de fois votre chien se repose-t-il (s'arrête/s'assoit) pendant l'exercice?

Jamais
 Presque jamais
 Occasionnellement
 Fréquemment
 Très fréquemment

11. Quelle est l'influence du temps froid et humide sur la capacité de votre chien à faire de l'exercice?

Aucune influence
 Légère influence
 Influence modérée
 Influence marquée
 Influence très marquée

12. Quel degré de raideur constatez-vous dans le membre affecté de votre chien, après qu'il se soit allongé à la suite d'un exercice physique?

Aucune raideur
 Légère raideur
 Raideur modérée
 Forte raideur
 Raideur extrême

13. Quel est l'effet de la boiterie de votre chien sur sa capacité à faire de l'exercice?

Aucune influence
 Légère influence
 Influence modérée
 Influence marquée
 Influence très marquée

Merci encore d'avoir répondu à ce questionnaire. Veuillez le remettre à un membre du personnel. Si vous avez utilisé la version électronique, veuillez le sauvegarder et le transmettre à la clinique par courriel.

Réservé à l'usage interne

Inscrivez manuellement le pointage correspondant à chaque réponse (0-4, de gauche à droite) dans la case sur la droite. Les pointages sont ensuite additionnés pour obtenir le score LOAD final et ce total est inscrit dans la dernière case, au bas du formulaire.

Score LOAD

=

Figure 10 : Grille LOAD

c) La grille CSOM (Client Specific Outcome Measures)

Cette grille est utilisée chez le chat arthrosique. Sa particularité est, comme son nom l'indique, d'être personnalisée. Avant le début de l'étude le propriétaire choisit trois activités que son chat ne peut plus faire ou a du mal à faire comme courir, sauter, jouer, monter des escaliers et bien d'autres. Dans les études sur le frunvetmab, les propriétaires évaluent la capacité de leur chat à effectuer chaque activité sur une échelle allant de 4 (pas de problème) à 0 (impossible) avec des valeurs intermédiaires de 3 (difficulté légère), 2 (difficulté modérée)

et 1 (difficulté sévère). Le score total du CSOM est la somme de ces 3 scores avec une plage possible allant de 0 à 12.

L'intérêt de cette grille réside dans l'individualisation des activités suivies dans un environnement propre à l'animal. Ceci rend les questions potentiellement plus pertinentes que celles posées lors d'un questionnaire général. Il permet aux propriétaires, en collaboration avec un clinicien qualifié, de sélectionner un nombre défini d'activités avec lesquelles leur chat présente des difficultés ('Labs: Translational Research in Pain (TRiP) - Clinical Metrology Instruments', no date).

Malgré tout, la capacité de cette grille à identifier une amélioration à la suite d'un traitement est controversée. Une étude sur 13 chats arthrosiques montre que l'association accéléromètre (étude de l'activité du chat) et CSOM permet d'identifier une différence significative entre des chats arthrosiques sous AINS et sous placebo. Le score CSOM est amélioré chez les chats sous AINS contrairement à ceux sous placebo, et cela concorde avec les données de l'accéléromètre qui montre une augmentation de l'activité des chats sous AINS (Lascelles *et al.*, 2007). Une autre étude sur 66 chats a montré que le CSOM ne présente pas de sensibilité à l'amélioration lors de traitement à faible dose au meloxicam. Cependant le CSOM peut être utilisé en dichotomie succès/échec (succès si le score est amélioré d'au moins deux points/échec sinon) ou l'échec correspond à une détérioration de l'état de l'animal. L'étude conclue que cette grille ne peut pas détecter une amélioration mais permet de détecter une détérioration (Gruen *et al.*, 2015).

d) Le FMPI (Feline Musculoskeletal Pain Index)

Le FMPI (voir figure 10) est un questionnaire permettant d'évaluer le score de douleur lié à l'arthrose chez le chat dans le même principe que le CBPI. Il y a 17 questions et chaque question donne un score entre 0 et 4. Ensuite un ratio correspondant à la somme des scores divisée par le nombre de questions (auxquels le propriétaire a pu répondre) multiplié par quatre est calculé. Cela correspond au score de l'animal divisé par le score maximal possible.

Une étude sur 32 chats a montré la lisibilité, la fiabilité et la capacité de cette méthode à discriminer un chat arthrosique d'un chat en bonne santé (Benito *et al.*, 2013). Malgré tout, tout comme le CSOM, la capacité de celui-ci à confirmer l'efficacité d'un traitement est controversée. Seul, le FMPI ou le CSOM sont difficilement utilisables mais peuvent avoir un intérêt lorsqu'ils sont associés. Une étude sur 66 chats arthrosiques a montré que l'association du FMPI avec le CSOM permet de confirmer l'efficacité d'un médicament (Gruen *et al.*, 2014). Pour cela il faut trois groupes d'animaux, le premier traité puis recevant un placebo, le deuxième recevant deux placebos et le troisième ne recevant rien. Les deux premiers groupes ont des résultats significativement différents du troisième mais pas significativement différents entre eux. À la suite du deuxième traitement placebo pour les deux premiers groupes les résultats entre eux sont significativement différents si le médicament est efficace. La détérioration du premier groupe est plus importante que celui qui a reçu deux placebos. Autrement dit on ne va pas voir une amélioration lors du traitement mais une détérioration à l'arrêt du traitement. C'est cette détérioration qui nous permet de penser que l'animal est en meilleur état avec le traitement plutôt que sans. Cela signifie qu'on ne peut définir l'efficacité

d'un médicament sur l'arthrose seulement en sevrant l'animal après son traitement ce qui explique la controverse.



NAME:

DATE:

FELINE MUSCULOSKELETAL PAIN INDEX

Please take some time to complete the following questions.

Please mark the circle that best describes your cat's ability to perform the following activities.

1. Walk and/or move easily?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

2. Run?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

3. Jump up (how well and how easily)?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

4. Jump up to kitchen-counter height in one try?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable



All material copyright of 'North Carolina State University' 2015 Version 9

NAME:

DATE:

Please rate your cat's ability to:

5. Jump down (how well and how easily)?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

6. Climb up stairs or steps?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

7. Go down stairs or steps?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

8. Play with toys and/or chase objects?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

9. Play and interact with other pets?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

NAME:

DATE:

Please rate your cat's ability to:

10. Get up from a resting position?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

11. Lie and/or sit down?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

12. Stretch?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

13. Groom himself or herself?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

14. Interact with you and family members?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

NAME:

DATE:

Please rate your cat's ability to:

15. Tolerate being touched and/or held?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

16. Eat?					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

17. Use the litter box (get in and out, squat, cover waste?)					
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Normal	Not quite normal	Somewhat worse than normal	Barely, or with great effort	Not at all	Don't know or not applicable

How does your cat feel?

18. Please mark the point on the line that best describes your cat's pain over the past two weeks:

No pain Severe pain Don't know

19. Please mark the point on the line that best describes your cat's pain today:

No pain Severe pain Don't know

Figure 11 : grille FMPI (Feline Muskuloskeletal Pain Index)

e) La grille WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index)

Le WOMAC est un questionnaire à destinée humaine utilisé pour la mesure des symptômes et de l'incapacité physique apparaissant chez les personnes souffrant d'arthrose de la hanche et/ou du genou (voir figure 11).

Le WOMAC évalue 3 dimensions des symptômes de l'arthrose : la douleur, la raideur et la fonction physique avec respectivement 5, 2 et 17 questions. Chaque question du WOMAC est évaluée sur une échelle de 0 à 4, allant du moins intense au plus intense. Chaque score de chaque partie est additionné et on obtient un maximum de 20, 8 et 68, respectivement. Il existe également un score global, qui est le plus souvent calculé en additionnant les scores des trois parties. Le WOMAC a été traduit en allemand, suédois et en hébreu (McConnell, Kolopack and Davis, 2001). De nombreuses études ont montré la fiabilité, la validité et la réactivité de cette méthode. La fiabilité correspond à la répétabilité du questionnaire c'est-à-dire qu'une personne qui a rempli ce questionnaire une première fois et le remplit une deuxième fois sans changement de symptômes et en ayant oublié ses réponses ne changera pas significativement son score. La validité correspond aux relations avec d'autres méthodes de mesures similaires, soit d'autres questionnaires. La réactivité correspond aux changements de score en cas de changements de symptômes, autrement dit, si les symptômes de l'individu empirent alors son score WOMAC augmentera et inversement si les symptômes sont moins intenses. C'est le paramètre le plus intéressant pour notre étude. Il y a, au total, six études démontrant cette réactivité (McConnell, Kolopack and Davis, 2001).

Chaque grille possède donc un protocole précis d'utilisation et chaque expérience d'évaluation de l'efficacité du traitement doit être en accord avec ces protocoles pour être valide.

WOMAC : index de sévérité symptomatique de l'arthrose des membres inférieurs

Le WOMAC est l'index validé dans l'évaluation d'une arthrose des membres inférieurs. Il existe 2 systèmes de cotation des réponses aux questions : soit l'échelle de Lickert avec 5 réponses possibles (nulle = 0 ; minime = 1 ; modérée = 2 ; sévère = 3 ; extrême = 4), soit une échelle visuelle analogique de 100 mm. Il est possible de calculer les scores dans chaque domaine ou pour l'ensemble du WOMAC

WOMAC Domaine douleur : quelle est l'importance de la douleur ?

1. Lorsque vous marchez sur une surface plane ?
2. Lorsque vous montez ou descendez les escaliers ?
3. La nuit, lorsque vous êtes au lit ?
4. Lorsque vous vous levez d'une chaise ou vous asseyez ?
5. Lorsque vous vous tenez debout ?

WOMAC Domaine raideur

1. Quelle est l'importance de la raideur de votre articulation lorsque vous vous levez le matin ?
2. Quelle est l'importance de la raideur de votre articulation lorsque vous bougez après vous être assis, couché ou reposé durant la journée ?

WOMAC Domaine fonction : quelle est l'importance de la difficulté que vous éprouvez à :

1. Descendre les escaliers ?
2. Monter les escaliers ?
3. Vous relever de la position assise ?
4. Vous tenir debout ?
5. Vous pencher en avant ?
6. Marcher en terrain plat ?
7. Entrer et sortir d'une voiture ?
8. Faire vos courses ?
9. Enfiler collants ou chaussettes ?
10. Sortir du lit ?
11. Enlever vos collants ou vos chaussettes ?
12. Vous étendre sur le lit ?
13. Entrer ou sortir d'une baignoire ?
14. Vous asseoir ?
15. Vous asseoir et vous relever des toilettes ?
16. Faire le ménage " à fond " de votre domicile ?
17. Faire l'entretien quotidien de votre domicile ?

Référence : Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LWJ. Validation of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. J Rheumatol 1995; 15: 1833-40

Figure 12 : grille WOMAC

3) Efficacité des différents anticorps anti-NGF

Il est difficile de comparer l'efficacité des anticorps d'espèces différentes puisque les grilles d'évaluation ne sont pas comparables entre elles. L'efficacité des différents anticorps d'une même espèce pourra être comparée pour l'homme et le chien mais pas pour les chats puisqu'il n'en existe qu'un.

a) Efficacité du bedinvetmab et du ranevetmab

L'évaluation de l'efficacité du ranevetmab s'est effectuée en plusieurs étapes progressives, nous détaillerons la première étude qui est une évaluation expérimentale après la conception de l'anticorps, et la deuxième une évaluation à petite échelle. La dernière étude concerne le bedinvetmab, c'est une étude à grande échelle dont les valeurs d'effectifs se basent sur les résultats du ranevetmab.

La première expérience concerne 32 chiens (17 mâles et 15 femelles) ayant reçu une injection de kaolin dans le coussinet plantaire. L'injection entraîne une boiterie inflammatoire d'un score constant de 3 (boîte sévère, sans mise en charge) 24 heures plus tard. Les chiens sont répartis dans quatre groupes de traitement (8 chiens par groupe). Les animaux affectés au groupe 1 ont servi de groupe témoin négatif et ont été traités avec un placebo administré par perfusion iv. Les animaux assignés au groupe 2 ont été traités avec le ranevetmab administré par perfusion intra-veineuse à une dose de 0,2 mg/kg une fois le premier jour de l'étude. Les animaux assignés au groupe 3 ont été traités avec le ranevetmab administré par injection sous cutanée à une dose de 0,2 mg /kg une fois le premier jour de l'étude. Les animaux du groupe 4 ont été traités avec du méloxicam, administré quotidiennement par voie orale en utilisant la dose recommandée de 0,2 mg/kg le premier jour de l'étude et de 0,1 mg/kg par jour pendant 7 jours. Les scores de boiterie déterminés par des évaluateurs ignorant le type d'intervention ont été déterminés sur une échelle à quatre points. Après 7 jours d'observation, les scores de boiterie étaient significativement inférieurs pour les animaux traités au ranevetmab (sous cutané et intraveineux) ou au meloxicam par rapport au placebo (test de Mann-Whitney non paramétrique $p=0.01$) (Gearing *et al.*, 2013). Cette première expérience encourage à continuer les essais cliniques.

La deuxième étude est une étude clinique pilote randomisée et en double aveugle, contrôlée par placebo (Lascelles *et al.*, 2015). Le but est d'évaluer les effets de l'injection de ranevetmab sur la douleur et l'activité des chiens souffrant de douleur associée à l'arthrose. L'étude incluait 26 chiens atteints d'arthrose confirmée radiographiquement, divisés en 2 groupes : un recevant un placebo et l'autre 0.2mg/kg de ranevetmab en intra-veineuse. Chaque chien portait un accéléromètre pour évaluer le changement d'activité de celui-ci durant la journée. Les propriétaires ont rempli trois questionnaires différents tout au long de l'évaluation : Le CSOM, le CBPI et le Liverpool Osteoarthritis in Dogs (LOAD).

Les scores CBPI PSS et PIS se sont significativement améliorés dans le groupe du ranevetmab (Amélioration du PSS de J0 à J14, $p = 0,012$ et de J0 à J28, $p = 0,019$; amélioration du PIS : de J0 à J14, $p = 0,012$ et de J0 à J28, $p = 0,032$). Il n'y a pas d'amélioration significative dans le groupe placebo. Cependant il n'y a pas de différence significative de l'amélioration du score entre le groupe traité et le placebo. Le système de conversion du score CBPI en succès

échec comme expliqué en 2)a) est utilisé. Ainsi il y a plus de succès à J14 dans le groupe traité (6/12) que dans le groupe placebo (1/13) mais cela reste statistiquement non significatif ($p=0.069$).

Les scores CSOM ont montré des schémas similaires avec une différence significative pour les changements au sein du groupe à J14 et J28 ($P = 0,038$ et $P = 0,009$, respectivement), et significativement plus de succès entre le groupe traité et le placebo à J28 ($P = 0,047$). Même si le CSOM n'est pas validé cela reste surprenant car pour détecter des différences significatives à l'aide d'une analyse succès/échec, il faut de grandes différences entre les groupes ou un grand nombre d'animaux, et ce n'est généralement pas observé avec des groupes de taille relativement petite comme ici. De plus, la distribution du succès/échec pour le CBPI (46 %/8 %) et le CSOM (67 %/23 %) était très similaire aux études précédentes utilisant des AINS. En effet l'évaluation CBPI du carprofène donne 46 % de succès dans le groupe traité et 23 % de succès dans le groupe placebo (Em and Ms, 2013). Cela a montré que le ranevetmab est aussi efficace que le carprofène et que le CSOM est potentiellement un bon indicateur de la douleur arthrosique chez le chien.

Les scores LOAD se sont significativement améliorés dans le groupe traité (J0-14, $p = 0,004$ et J0-28, $p = 0,002$) mais pas dans le groupe placebo. De plus, il y avait des différences significatives entre les groupes traité et placebo pour la diminution du score LOAD à J14 ($P = 0,014$) et J28 ($P = 0,033$). Le score LOAD étant tout autant réactif que le CBPI ce résultat amène à confirmer l'efficacité du produit et encourage d'autres études (Walton *et al.*, 2013).

En ce qui concerne l'actimétrie c'est-à-dire la mesure de l'activité grâce aux accéléromètres, le même schéma est observé que celui du CBPI. Il y a une amélioration significative dans le groupe traité et pas dans le groupe placebo. Cependant la différence de changement d'activité entre les deux groupes n'est pas significative à $p=0.05$ mais à $p=0.06$.

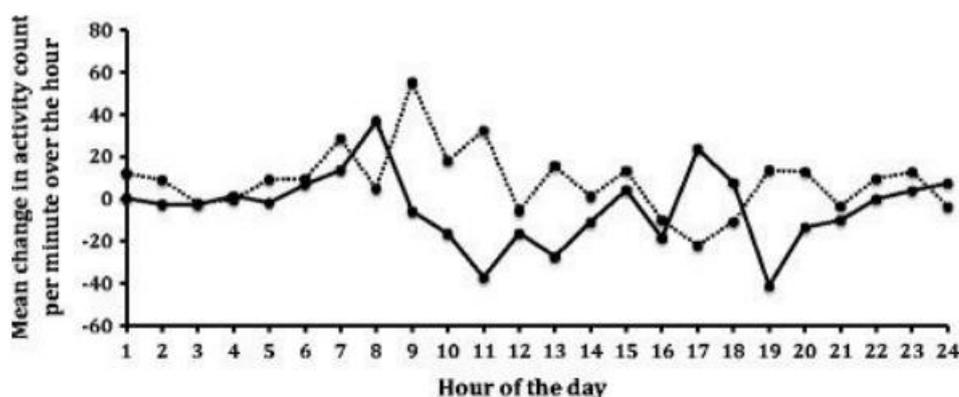


Figure 9 : Graphique du changement moyen (activité moyenne de la dernière semaine moins l'activité de référence) de l'activité par minute pour chaque heure de la journée dans le groupe ranevetmab (ligne pointillée) et le groupe placebo (ligne continue) (Lascelles *et al.*, 2015)

Cette étude montre donc que le ranevetmab possède des résultats encourageants sans pour autant confirmer son efficacité au vu de son petit effectif (26 chiens) et des résultats non significatifs au seuil de confiance à 95%.

La troisième étude est une étude clinique multisite prospective, randomisée, en simple aveugle et contrôlée par placebo (Corral *et al.*, 2021). L'étude est effectuée sur 287 chiens

avec 146 chiens recevant une injection sous-cutanée de placebo (solution saline) et 141 une injection sous cutanée de bedinvetmab (0,5 à 1,0 mg/kg) administrées mensuellement. Après 3 mois, 89 chiens traités au bedinvetmab qui ont répondu positivement sur la base des évaluations du propriétaire et du vétérinaire ont reçu jusqu'à six doses supplémentaires (donc une dose par mois pendant 6 mois) de bedinvetmab dans une phase de continuation de l'étude. Le critère d'évaluation principal de l'efficacité est le succès du traitement basé sur le score CBPI converti en succès/échec comme expliqué précédemment.

Les estimations de la taille de l'échantillon ont été dérivées de calculs de puissance basés sur la variance et les valeurs des effets observés dans une étude de terrain contrôlée avec placebo (les proportions de succès du traitement CBPI ont été supposées à 0,309 pour le placebo et 0,532 pour le bedinvetmab). Le but est d'atteindre au moins 80 % de puissance pour voir une différence significative avec un intervalle de confiance à 95%. L'objectif était donc un effectif de minimum 120 animaux par groupe.

Le pourcentage de réussite du traitement était significativement plus élevé dans le groupe bedinvetmab que dans le groupe placebo du jour 7 jusqu'à la fin de l'étude ($p = 0,0025$). Au jour 28, 43,5% des chiens avaient un CPBI considéré comme succès avec le bedinvetmab par rapport au placebo (16,9%) ($p = 0,0017$). Le succès du traitement s'est poursuivi jusqu'aux jours 56 (50,8 %) et 84 (48,2 %) dans le groupe bedinvetmab et était inférieur à 25 % dans le groupe placebo jusqu'à la fin du traitement. Une efficacité soutenue a été démontrée dans la phase de continuation. De plus le traitement avec le bedinvetmab a démontré un effet significatif sur les trois composantes du CBPI : interférence de la douleur, sévérité de la douleur, qualité de vie.

En effet pour la qualité de vie, le nombre d'animaux passés dans la catégorie « très bon » ou « excellent » est significativement plus élevé pour les individus traités au bedinvetmab par rapport au placebo.

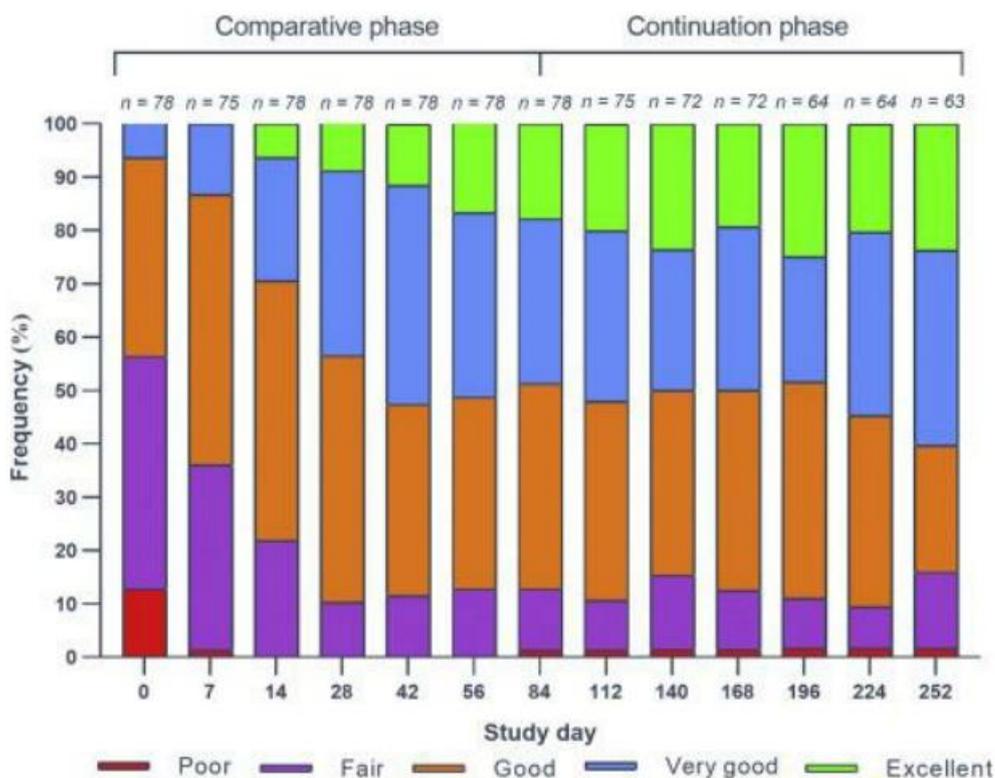


Figure 10 : Pourcentage de chiens en fonctions de la catégorie dans lequel leurs propriétaires les ont classés. Ils correspondent aux chiens souffrant d'arthrose ayant reçu du bedivetmab (groupe bedivetmab, $n = 89$) par injection mensuelle sous-cutanée pendant 9 mois. Ils ont été inclus dans les phases comparatives et de continuation de l'étude. Ils ont été classés par les propriétaires comme ayant une « mauvaise », « passable », « bonne », « très bonne » ou « excellente » impression globale de qualité de vie (QoL) sur l'évaluation CBPI (Corral *et al.*, 2021).

Cette dernière étude montre l'efficacité du bedivetmab par rapport à un placebo ce que le ranvetmab n'a pas fait. Malgré tout, les proportions de l'ordre de 50% de succès paraissent faibles pour un médicament. Cependant les études confirmant la validité du CBPI sur 150 chiens arthrosiques traités avec du carprofène montrent un succès de l'ordre de 54.3% (Brown, Bell and Rhodes, 2013) et une étude montre que l'efficacité du carprofène et du mavacoxib sont identiques (Payne-Johnson *et al.*, 2015). Ainsi le bedivetmab a une efficacité comparable aux AINS et COXIB (inhibiteur de cyclo-oxygénase 2) couramment utilisés.

De même une étude utilisant le même protocole que celui pour le bedivetmab a montré une efficacité comparable du grapiprant (Galliprant MD). Le grapiprant est un anti-inflammatoire non stéroïdien, non inhibiteur de la cyclooxygénase, de la classe des ppirants. C'est un antagoniste sélectif du récepteur EP4, un récepteur clé de la prostaglandine E2 qui sert principalement de médiateur à la nociception déclenchée par la prostaglandine E2. Le récepteur EP4 joue un rôle important dans la médiation de la douleur et de l'inflammation en tant que premier médiateur de la sensibilisation des neurones sensoriels déclenchée par la prostaglandine E2 et de l'inflammation (RCP Galliprant MD). Comme sa cible est un récepteur de la prostaglandine et non les cyclooxygénases il est censé avoir moins d'effets secondaires sur l'appareil gastro-intestinal et les reins. Le traitement au grapiprant a montré un nombre

de succès significativement supérieur au placebo au jour 28 (respectivement 48,1 et 31,3 % de succès du traitement sur une base de CBPI ; $p = 0,0315$).

b) Efficacité du frunevetmab

L'efficacité du frunevetmab est difficile à prouver car l'effet placebo dans le traitement de l'arthrose du chat est très important et il n'existe pas de grille d'évaluation de la douleur validée dans ce domaine. En effet pour un traitement au meloxicam à faible dose (0.35mg/kg au lieu de 0.5mg/kg) mais sur une longue durée (21jours) le score CSOM du placebo est significativement amélioré par rapport au groupe non traité et il n'y a pas de différence significative entre le groupe traité et le placebo (Gruen *et al.*, 2015).

Trois études montrant l'efficacité du frunevetmab seront abordées, les trois ayant des protocoles similaires à ceux vus précédemment.

La première expérience concerne 29 chats et est effectuée à la suite de la création de l'anticorps NV-02 maintenant nommé frunevetmab (de Lange-Brokaar *et al.*, 2016). On retrouve le modèle réversible de douleur inflammatoire induite par injection de kaolin dans le coussinet plantaire validé chez le chat (Giraudel *et al.*, 2005). Après l'injection de kaolin dans le coussinet plantaire, une boiterie induite par la douleur se développait dans les 24 heures puis le chat récupérait progressivement sur une période de 7 à 14 jours. Quatre jours avant l'injection de kaolin, 14 chats recevaient une injection sous cutanée de 2mg/kg de NV-02 et 15 chats une injection de solution saline (placebo). Les scores de boiterie était significativement plus bas pour le groupe traité que pour le placebo du deuxième au septième jours après l'injection de kaolin ($p < 0.015$). Cette expérience a permis de supposer l'efficacité du frunevetmab sans pouvoir le confirmer au vu de la petite taille de l'échantillon et du caractère induit de l'inflammation.

La deuxième étude est une étude pilote randomisée en double aveugle, contrôlée par placebo, avec 34 chats vivant strictement en intérieur et arthrosiques (confirmés) répartis dans 3 groupes (Gruen *et al.*, 2016). Les groupes de traitement étaient T1 : recevant une dose sous cutanée de frunevetmab à 0,4 mg/kg ; T2 recevant une dose sous cutanée de frunevetmab à 0,8mg/kg ; et le groupe placebo : recevant une dose sous cutanée de solution saline stérile. Chaque propriétaire devait à intervalle de temps régulier remplir deux questionnaires : le CSOM et le FMPI et chaque chat était muni d'un accéléromètre mesurant les changements d'activités.

En ce qui concerne l'actimétrie, les données des deux premières semaines ont été considérées comme valeur de base et c'est le changement par rapport à cette valeur pour chaque chat qui a été pris en compte. Aucune différence significative entre les changements d'activité dans les groupes T1 et T2 n'a été trouvée, donc T1 et T2 sont regroupés pour examiner la différence entre le traitement et le placebo pour chaque semaine de l'étude. Il y avait une activité significativement augmentée dans le groupe des chats traités par rapport au placebo de la semaine 4 à la semaine 8 ($p < 0,035$). Ce résultat est encourageant en ce qui concerne les preuves d'efficacité du frunevetmab au vu du caractère objectif de la mesure.

Pour le CSOM, les groupes T1 et T2 ont aussi été combinés pour l'analyse des données subjectives. Les scores CSOM se sont améliorés de manière significative à la fois dans le groupe traité et dans le groupe placebo (par rapport au score du jour 14), à l'exception d'un moment au jour 77 pour le groupe placebo ($p = 0,051$). Au jour 35, il y avait une différence significative entre les groupes traité et placebo, le groupe traité s'améliorant significativement plus que le groupe placebo ($p = 0,035$). Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes en termes de degré d'amélioration au jour 56 ou au jour 77. Ce résultat reste difficile à interpréter puisque rien ne prouve l'efficacité du CSOM. Les auteurs de l'étude émettent l'hypothèse que le frunvetmab est réellement efficace dans la diminution de la douleur arthrosique et cela permettrait de prouver l'efficacité du CSOM. La faible taille de l'échantillon ne permet pas cette confirmation.

Les scores FMPI étaient aussi améliorés de manière significative à la fois dans le groupe de traitement combiné et dans le groupe placebo. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes en termes de degré d'amélioration à aucun moment. Ce qui confirme la difficulté de prouver l'efficacité d'un traitement arthrosique chez le chat.

La troisième étude est une étude randomisée, contrôlée par placebo et en double aveugle (Gruen, Myers and Lascelles, 2021). Après une période d'établissement de référence de la douleur et de l'activité d'une semaine, 126 chats arthrosiques (confirmés) ont été répartis en trois groupes. Le premier groupe de 42 chats a reçu une injection intraveineuse de frunvetmab puis 28 jours après une injection de la même dose mais en sous cutanée de frunvetmab (selon le RCP de ce médicament soit entre 1,0 et 2,8 mg/kg pour chaque injection). Le deuxième groupe de 43 chats a reçu deux injections sous cutanée de frunvetmab (même doses) à 28 jours d'intervalle. Le troisième groupe de 41 chats a reçu un placebo en intraveineuse puis en sous cutanée aux jours 0 et 28 comme le premier groupe. Les propriétaires ont rempli des questionnaires les jours 14, 28, 42 et 56. Tout comme dans l'étude précédente seuls les chats d'intérieur strict ont été utilisés et leur score CSOM de base devait être supérieur à sept. De même le propriétaire devait remplir un CSOM et un FMPI et chaque chat possédait un accéléromètre.

Cette fois le CSOM est utilisé en conversion succès/échec avec pour succès une amélioration de score de deux points ou plus. Ici il y avait significativement plus de chats qui ont été considérés comme des succès thérapeutiques dans les groupes traités au frunvetmab combinés (les deux premiers groupes combinés) (76,1 et 80,3 %) par rapport au placebo (55,3 et 44,7 %) aux jours 42 ($p = 0,0479$) et 56 ($p = 0,0033$), mais pas aux jours 14 et 28. Le changement de score CSOM sans utilisation de la méthode succès/échec par rapport à la période de référence était significativement amélioré pour le groupe traité combiné ($p = 0,012$). Ce changement de score était aussi significativement plus important pour les groupes traités par rapport au placebo les jours 42 ($p = 0,0078$) et 56 ($p < 0,0001$). En séparant les groupes de traitement au frunvetmab, le groupe ayant reçu deux sous cutanées avait de meilleurs résultats (non significatif). On peut donc supposer que le CSOM est en accord avec une amélioration clinique avec un traitement au frunvetmab mais encore une fois l'effectif est trop petit.

Les changements moyens de score CSOM ont été utilisés pour calculer un paramètre que les auteurs ont appelé « l'effect size » (ES) qui représente l'écart de résultat entre le placebo et le groupe traité. L'ES était de 0,45 au jour 42 et 0,65 au jour 56. Les auteurs

considèrent que cette mesure sans unité permet une comparaison avec d'autres études, indépendamment de la signification statistique. Par exemple, l'ES du tanezumab varie, selon la dose, de -0,15 à 0,7. L'ES des AINS dans la gestion de l'arthrose de la hanche et du genou chez l'homme est d'environ 0,3. Le frunvetmab dans cette étude a un ES supérieur à celui des AINS chez l'homme, et comparable au meilleur ES du tanezumab. Dans les premiers travaux chez le chien, il est rapporté que le ranevetmab a un ES de 0,38 à 0,96 selon différentes évaluations du propriétaire 28 jours après le traitement (Enomoto et al., 2019). On a donc une différence par rapport au placebo semblable aux autres anticorps monoclonaux anti-NGF qui eux ont une efficacité validée. Ce paramètre reste difficile à utiliser pour prouver l'efficacité d'un produit mais peut permettre de confirmer la difficulté de réaliser des études sur la douleur chez le chat.

Comme le CSOM n'a pas réellement montré son efficacité pour valider un traitement contre l'arthrose chez le chat et qu'il n'y a pas d'autres solutions, il est important d'évaluer si les variations que l'on observe dans cette étude ont quand même une signification clinique. Étant donné qu'un score CSOM total de 3 dans cette étude équivalait à un animal non douloureux et que le score initial moyen était de 10, le changement maximal possible dans cette étude était de 7 (une diminution de l'incapacité de 10 à 3). Par conséquent, avec le succès du traitement défini, comme une diminution de deux points du score, cela équivalait à une réduction de 29 % de l'invalidité. Or en médecine humaine cela est considéré comme cliniquement significatif (Farrar et al., 2001). Dans cette étude la moyenne de diminution de score pour les animaux traités était de 4 soit une amélioration très intéressante selon les critères de mesures en médecine humaine dans le même type d'étude. Ce sont des résultats qui restent très subjectifs et il est difficile de confirmer cette efficacité avec des petits effectifs sans calcul de puissance ni de grille officiellement valide.

Les auteurs de cette étude utilisent une autre méthode pour définir l'utilité clinique d'un médicament. C'est un paramètre qui correspond au nombre d'individus à qui il faut un traitement supplémentaire en plus du médicament qu'on leur administre lors de l'étude. Ici c'est notamment le cas chez des propriétaires qui considèrent que la douleur n'est pas supportable pour leur chat et malgré les injections de frunvetmab ou de placebo demande un traitement supplémentaire. Plus ce nombre est petit plus cela signifie que le médicament est efficace (McIntosh, Sharpe and Lawrie, 2010). Le nombre d'animaux nécessitant un traitement supplémentaire au frunvetmab était de 5 au jour 42 et de 3 au jour 56, un nombre assez faible et proche selon les auteurs de ce que l'on peut retrouver avec un traitement AINS chez l'homme (entre 3 et 13 selon les critères de succès (Moore *et al.*, 2010)). Or cette étude concerne 210 patients par groupe donc si l'on se réfère en pourcentage il y a 1.4% et 6% de patients avec un traitement supplémentaire et avec le frunvetmab il y en a entre 3.5 et 6%. De plus cette étude utilisait plusieurs doses d'AINS et des choix de succès allant de 15% à 70% de rétablissement. Donc en réalité il est difficile de comparer ces deux études au vu de la différence d'espèce et de protocole utilisé. Malheureusement, il n'y a pas de données publiées provenant d'études sur la douleur chronique chez le chat (ou le chien) avec lesquelles comparer ces valeurs.

En ce qui concerne le FMPI il y avait significativement plus de chats considérés comme succès (réduction du score de plus de 10 points) dans le groupe traité au frunvetmab (69,6 et 67,1%) par rapport au groupe traité par placebo (32,4 et 40,5%) au jour 42 ($p = 0,0076$) et au jour 56 ($p = 0,024$). De la même manière que pour le CSOM les scores de FMPI des groupes

traités au frunvetmab étaient aussi significativement améliorés par rapport au placebo au jour 42 ($p = 0,0002$) et au jour 56 ($p = 0,016$). De plus, la mesure de la qualité de vie globale, montre que dans le groupe traité combiné au frunvetmab, 37,0% des chats au jour 42 et 39,5 % au jour 56 ont été évalués comme ayant une excellente qualité de vie, contre 7,9 et 15,8 % des chats ayant reçu un placebo ($p \leq 0,025$)

Des calculs similaires à ceux du CSOM mais pour le FMPI indiquent qu'un changement de 10 points (utilisé comme seuil de succès/échec) représente une réduction de 26,3 % de la douleur et de l'invalidité physique, encore une fois considérée comme cliniquement significative. Nous pouvons donc conclure que les critères de succès étaient cliniquement significatifs, de même que la réduction des signes cliniques observés de manière plus précise puisque l'association du CSOM et du FMPI sont en accord. Malgré tout l'effectif reste trop petit.

En ce qui concerne l'actimétrie, le nombre moyen d'activités hebdomadaires était diminué pour les deux groupes (traité et placebo) par rapport à l'activité de base avant le traitement. Malgré tout le groupe traité au frunvetmab a montré peu de changement global par rapport aux données de base (diminution moyenne de 0,9 %) tandis que le groupe traité par placebo a montré une diminution moyenne de 9,3 % de l'activité. Cette différence de diminution est significative. Ainsi le frunvetmab, permettrait non pas une amélioration de l'activité (selon l'accéléromètre) mais une moins grande diminution de celle-ci comparée au placebo.

Sur le RCP du frunvetmab il est expliqué qu'un essai pivot terrain a été effectué et qu'un total de 182 animaux ont été enrôlés dans le groupe de traitement au frunvetmab et 93 animaux inclus dans le groupe placebo. Le succès du traitement, défini comme une réduction de minimum deux points du score CSOM total et aucune augmentation du score individuel, a été obtenu chez 66,70%, 75,91% et 76,47% des chats traités avec le frunvetmab et chez 52,06%, 64,65% et 68,09% des chats traités par placebo après un, deux et trois traitements mensuels, respectivement. Une différence statistiquement significative ($p < 0,05$) par rapport au traitement placebo a été démontrée après le premier et le deuxième traitement, mais pas après le troisième traitement. Autrement dit, même avec une étude ayant une puissance supérieure à 0.80 pour le choix de l'effectif, le CSOM ne permet pas de prouver l'efficacité du frunvetmab après trois traitements mensuels.

Finalement, la question reste la même : est-ce un manque de sensibilité du CSOM ou un manque d'efficacité du frunvetmab ? Au vu des résultats du bedinvetmab chez le chien, du fonctionnement similaire du frunvetmab et de la difficulté d'évaluer la douleur chez le chat il serait plutôt raisonnable d'envisager l'efficacité du frunvetmab. Malgré tout, le produit étant récent et l'évaluation de la douleur chez le chat étant plus difficile que chez le chien, il sera raisonnable de continuer les études grâce aux retours clients à la suite de sa commercialisation.

c) Efficacité comparée du tanezumab, du fasinumab et du fulranumab

Certains articles parlent du tanezumab comme l'anticorps anti-NGF le plus avancé dans les essais cliniques et comme le plus efficace (Schmelz *et al.*, 2019) (Chang *et al.*, 2016). Il est tout de même intéressant de le comparer aux autres anticorps comme le fasinumab et le fulranumab qui ont des résultats qui restent significatifs.

Dans une première étude sur l'efficacité du fulranumab, il a été montré une différence significative du score WOMAC chez des patients ayant de l'arthrose modérée à sévère à partir de la 12^{ème} semaine de traitement soit après 2 injections à 8 semaines d'intervalle (Sanga *et al.*, 2013). Il faut prendre en compte que les injections étaient effectuées en plus du traitement habituel des patients. En effet, 466 patients ont été répartis dans 6 groupes pour recevoir, en plus de leur traitement antidouleur habituel, des injections sous-cutanées de placebo (n=78), de fulranumab à 1 mg (n=77) ou à 3 mg (n=79) toutes les 4 semaines, ou de 3 mg (n=76), 6 mg (n=78) ou 10 mg (n=78) toutes les 8 semaines. Les principaux résultats d'efficacité ont montré que le fulranumab réduisait significativement le score moyen d'intensité de la douleur par rapport au placebo ($P \leq 0,030$) à partir de la 12^{ème} semaine dans les groupes 3 mg toutes les 4 semaines, 6 mg et 10 mg toute les 8 semaines. On obtient donc une efficacité à partir de 12 semaines ce qui peut paraître long par rapport aux chiens. Cette même étude a été prolongée pour voir l'efficacité à long terme du produit (Sanga *et al.*, 2017). En réalité le changement de score n'était plus significativement amélioré par rapport au placebo après la semaine 41. L'étude étant difficile à mener sur une aussi longue période toutes les données n'ont pas été récupérées selon l'auteur. On a donc une efficacité sur le long terme qui n'est pas prouvée. Dans une autre étude de phase trois avec contrôle placebo en double aveugle le fulranumab n'a pas pu montrer son efficacité. En effet en raison de l'arrêt prématuré de l'étude, le nombre de patients recrutés était trop faible pour faire des allégations d'efficacité définitives. Les raisons de l'arrêt ne sont pas évoquées (Kelly *et al.*, 2019). Le fulranumab a aussi montré une efficacité significativement meilleure que l'oxycodone (un opioïde pour la gestion des douleur chronique) dans la gestion de l'arthrose sur 12 semaines (Mayorga *et al.*, 2016).

En ce qui concerne le fasinumab, une étude a été réalisée sur 421 patients présentant une douleur arthrosique modérée à sévère de la hanche ou du genou et des antécédents de réponse inadéquate ou d'intolérance aux analgésiques classique (Dakin *et al.*, 2019). Ils ont reçu du fasinumab (à 1 mg, 3 mg, 6 mg ou 9 mg) ou un placebo toutes les 4 semaines sur 16 semaines et ont été suivis jusqu'à la semaine 36. Sur les 421 patients, 342 ont terminé l'étude de 36 semaines. Toutes les doses de fasinumab ont entraîné des réductions significatives par rapport au placebo du score WOMAC de la 2^{ème} à la 16^{ème} semaine, sans aucune dépendance claire à la dose. Il n'y avait plus de différence avec le placebo à la semaine 20 c'est-à-dire lorsque le traitement est arrêté depuis un mois. On a donc une réelle efficacité prouvée en ce qui concerne le fasinumab même à faible dose et à long terme. L'arrêt de l'injection entraîne l'arrêt de l'amélioration car comme vu précédemment on ne traite pas l'arthrose mais les symptômes de douleur.

Pour le tanezumab, une étude de phase trois randomisée en double aveugle a été effectuée sur 849 patients atteints d'arthrose modérée à sévère qui n'ont pas répondu ou ne pouvaient pas tolérer les analgésiques standard. Les patients ont été divisés en trois groupes

(entre 282 et 283 patients par groupe) pour recevoir 2,5 mg ou 5 mg de tanezumab par voie sous-cutanée ou un placebo toutes les 8 semaines (trois doses) (Berenbaum et al., 2020). À la semaine 24, il y avait une amélioration significative du score WOMAC par rapport à la date d'inclusion dans l'étude et par rapport au placebo pour le tanezumab 5 mg et 2.5mg. De plus on retrouve les mêmes améliorations par rapport au placebo en fonctionnant en succès/échec avec une réduction de plus de 50% du score WOMAC comme succès. Une autre étude du même type a été effectuée sur 696 patients arthrosiques de la hanche ou du genou dont la réponse aux analgésique classique était inadéquate (Birbara *et al.*, 2018). Ils ont reçu par injection sous-cutanée soit du tanezumab, 2,5 mg, au jour 1 et à la semaine 8 (n = 231) ; soit du tanezumab, 2,5 mg au jour 1 et 5 mg à la semaine 8 (n = 233) ; ou un placebo au jour 1 et à la semaine 8 (n = 232). Par rapport aux valeurs de début d'étude, en 16 semaines les scores moyens de douleur WOMAC sont passés de 7,1 à 3,6 dans le groupe tanezumab, 2,5 mg 2 fois ; de 7,3 à 3,6 dans le groupe tanezumab, 2,5 puis 5 mg ; et de 7,3 à 4,4 dans le groupe placebo. La différence étant significative par rapport au placebo pour le groupe 2,5 et 5mg, une efficacité sur le cours terme a été démontré pour le tanezumab.

Même si la comparaison entre différentes étude est difficile il est important d'évaluer cette efficacité par rapport aux traitement actuelle comme les AINS ou les COXIB. Dans une étude rétrospective sur l'efficacité du celecoxib (Puljak et al., 2017) cet anti-inflammatoire sélectif est comparé, grâce à un score WOMAC, à des placebos ou des AINS classiques. Cela permet de se donner une idée de l'efficacité relative des différents anticorps. Par rapport au placebo, le célécoxib a légèrement réduit la douleur sur l'échelle WOMAC, représentant une amélioration absolue de 3 % (IC à 95 % d'amélioration de 2 % à 5 %) ou une amélioration relative de 12 % (IC à 95 % 7 % à 18 % d'amélioration). Les valeurs du celecoxib n'était pas différente des autres AINS. Sur l'étude précédente (Birbara et al., 2018) concernant le tanezumab une amélioration relative de 20% est obtenu par rapport au placebo. Il est donc tentant de supposer l'efficacité du tanezumab plus importante que celle des traitements actuels. Surtout que pour les anticorps monoclonaux les études sont menées sur des patients n'ayant pas obtenue de résultat avec les traitements classiques. Malgré tout il faut rester méfiant avec ce genre de comparaisons. Premièrement, les échantillons ne sont pas de même taille (autour de 1000 pour le tanezumab et autour de 10000 pour le celecoxib). Deuxièmement les études pour les anticorps sont financées par les laboratoires qui les fabriquent ce qui constitue un conflit d'intérêt. Troisièmement ces études sont moins nombreuses au vu du caractère nouveau des anticorps monoclonaux.

Une autre étude de phase 3 multicentrique sur le long terme en double aveugle avec un contrôle actif d'AINS sur le tanezumab est actuellement terminée mais n'a pas permis la commercialisation du produit (Hochberg *et al.*, 2021). Dans ce protocole, les patients recevaient soit des AINS (du naproxène, du célécoxib ou du diclofénac) par voie orale deux fois par jour (groupe AINS ; n = 996) soit 2,5 mg de tanezumab (n = 1 002) soit 5 mg de tanezumab (n = 998) par voie sous-cutanée toutes les 8 semaines. Le tanezumab à 5 mg a amélioré de manière significative le score WOMAC à la semaine 16 par rapport aux AINS et ce jusqu'à la fin de l'étude soit pendant 56 semaines. Cependant les résultats de score WOMAC entre les groupes tanezumab 2,5 mg et AINS n'étaient pas significativement différents. Ce genre d'étude est important pour l'évaluation de l'efficacité sur le long terme mais surtout pour l'évaluation de la sécurité du produit. En effet contrairement aux anticorps anti-NGF des carnivores domestiques, des effets secondaires graves sont apparus chez l'homme et méritent une attention particulière.

4) Sécurité comparé des anticorps anti-NGF

Pour évaluer la sécurité d'un médicament comme les anticorps monoclonaux il faut bien sûr étudier les effets secondaires mais aussi l'immunogénicité du produit. En effet, il ne faut pas oublier que ce sont des protéines avec un certain potentiel immunogène même si celui-ci est fortement diminué à la conception.

a) L'immunogénicité

L'immunogénicité de chacun des anticorps monoclonaux est évaluée par le dosage sanguin d'anticorps appelé ADA (anti-drug antibody) ciblant spécifiquement l'anticorps anti-NGF chez les individus ayant reçus les doses recommandées. Les signes cliniques de réaction immunitaire sont aussi évalués.

Pour le frunevetmab, dans une étude déjà abordée dans la partie III (Walters, Boucher and De Toni, 2021) sur 83 chats traités 20 animaux ont été classés comme ayant une réactivité préexistante qui n'a pas été stimulée par les injections. C'est-à-dire qu'ils possédaient des ADAs avant même l'injection mais que ceux-ci n'ont pas déclenché de réactions immunitaires ni de diminution de l'efficacité du produit. Un seul animal a été identifié avec des concentrations de frunevetmab très faibles et des titres d'ADA élevés mais qui n'ont pas augmenté au cours de l'étude. Le tout associé à un échec de traitement selon le CSOM quel que soit l'injection mais avec de bons résultats sur l'évaluation orthopédique. Cet animal a aussi présenté des caractéristiques pharmacocinétiques plus faibles (clairance plus rapide et/ou biodisponibilité sous-cutanée plus faible) que les autres animaux. Cet animal n'a présenté aucun événement indésirable attribué à l'immunogénicité. Au total sur 259 chats 3 seulement ont été classés comme ayant une immunogénicité stimulée ou induite par le traitement. Les concentrations de frunevetmab de ces animaux étaient comparables à celles du groupe des chats sans immunogénicité. Il est donc supposé que les ADAs chez ces 3 animaux n'influence pas la biodisponibilité du frunevetmab. Ces animaux ont également présenté un succès de traitement (diminution du score CSOM de deux points) et aucun événement indésirable attribué à l'immunogénicité. Ainsi, même si le frunevetmab, comme tout anticorps monoclonal, peut induire la production d'ADAs. L'efficacité clinique du produit n'a pas été affectée, et le frunevetmab possède un faible potentiel immunogène.

Pour le bedinvetmab, une étude sur la pharmacocinétique étudie l'affinité de l'anticorps aux récepteurs immunogènes comme les Fcγ et a montré que celui-ci ne s'y fixe pas ou très peu (Krautmann *et al.*, 2021). En effet l'affinité du bedinvetmab pour les récepteurs Fcγ1 et III et hC1Q responsable respectivement de l'ADCC (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) et de l'activation du complément n'est même pas mesurable. De plus, sur 32 chiens aucun ADA n'a été détecté. Les concentrations et la toxicocinétique du bedinvetmab ont indiqué que l'élimination ou la neutralisation de celui-ci par les ADAs n'étaient pas induites.

Pour le tanezumab, seulement huit patients sur 1601 ont été rapportés avec des échantillons positifs pour les ADAs. De même, la réponse clinique au score WOMAC et le profil d'innocuité n'étaient pas différents chez les patients avec ADAs par rapport aux autres patients (Jonsson *et al.*, 2016).

b) Effets indésirables

Les effets secondaires graves sont plus importants chez l'homme que chez les carnivores domestiques. En effet chez l'homme quel que soit l'anticorps anti-NGF utilisé, des cas d'arthrose à progression rapide nommé RPOA (Rapidly Progressive Osteoarthritis) sont rapportés à des taux significativement supérieurs qu'avec un placebo. Cette évolution entraîne une importante douleur et peut amener à l'obligation chirurgicale d'une mise en place de prothèse articulaire.

Pour le tanezumab, l'étude abordée en partie III)3)c) sur 849 patients répartis en 3 groupes (placebo n=282, tanezumab 2,5 mg n=283, tanezumab 5 mg n=284) a aussi évalué les effets secondaires du produit (Berenbaum *et al.*, 2020). Les premiers effets secondaires rapportés par les patients sont des signes d'hypoesthésie et de paresthésie sans gravité et disparaissant à l'arrêt du traitement. Les résultats montrent que les paresthésies étaient plus fréquentes avec le tanezumab à la dose de 5 mg qu'avec le placebo, et l'hypoesthésie était plus fréquente avec le tanezumab à la dose de 5 mg et 2,5 mg qu'avec le placebo.

La toxicité articulaire du tanezumab est évaluée sur le nombre de patients présentant les critères suivant : des lésions articulaires comme une RPOA de type 1 ou de type 2, une fracture par insuffisance sous-chondrale, une ostéonécrose primaire, une fracture pathologique ou un patient devant subir une chirurgie de mise en place de prothèse. La RPOA de type 1 est définie comme une perte significative de la largeur de l'espace articulaire de plus de 2 mm (selon un positionnement optimal de l'articulation à l'IRM) en un an environ, sans défaillance structurelle importante. La RPOA de type 2 est définie comme une perte ou une destruction osseuse anormale, comprenant un effondrement limité ou total d'au moins une surface sous-chondrale, qui n'est normalement pas présente dans l'arthrose terminale conventionnelle. Les résultats ont montré que les patients devant se faire poser une prothèse total articulaire étaient réparties de manière similaire dans les trois groupes de traitement. Les critères de toxicité articulaire n'ont été rapportés que chez les patients traités avec du tanezumab, il y avait huit cas de RPOA de type 1 soit 1,4% et quatre cas de RPOA de type 2 soit 0,7%. Le groupe de traitement tanezumab à la dose de 5 mg avait la plus forte incidence de RPOA type 1, de RPOA type 2 ainsi que d'ostéonécrose primaire (un cas). La seule fracture par insuffisance sous-chondrale a été observée dans le groupe tanezumab à la dose de 2,5 mg. Cette différence significative par rapport au placebo montre un défaut d'innocuité du produit. La première hypothèse de cause de cette RPOA était l'association du tanezumab avec des AINS mais une autre étude sur le long terme sans association avec AINS n'est pas en faveur de cet argument.

Un essai clinique d'innocuité de phase III randomisé, en double aveugle, contrôlé par traitement actif (AINS) du tanezumab est effectué sur une durée de traitement de 56 semaines puis 24 semaines de suivi post-traitement (Hochberg *et al.*, 2021). Les patients

recevant du tanezumab ne recevaient pas d'AINS. Sur 2 996 patients les événements indésirables comme l'hypoesthésie et la paresthésie étaient similaires entre les patients traités par le tanezumab à la dose de 2,5 mg et ceux traités par les AINS, mais ils étaient plus fréquents chez ceux traités par le tanezumab à la dose de 5 mg. Les critères de toxicité articulaire (identiques à l'étude précédente) étaient significativement plus fréquents avec le tanezumab à 2,5 mg (3,9%) et le tanezumab à 5 mg (7.1%) qu'avec les AINS (1,5%). En effet, le taux de RPOA de type 1 était significativement plus élevé pour le tanezumab à la dose de 2,5mg (2.9%) et à la dose de 5mg (4.9%) que pour les AINS (1,1% avec $p = 0.005$ et $p < 0.001$, respectivement). Le taux de RPOA de type 2 était significativement plus élevé pour le tanezumab à la dose de 5mg (1.4%) que pour les AINS (0.1% et $p = 0.001$). La RPOA est un effet secondaire peu connu et dont la cause n'est pas déterminée qui empêche la commercialisation du tanezumab car le rapport bénéfice risque n'est pas intéressant.

Pour le fulranumab, une étude de phase II randomisée en double aveugle avec contrôle placebo sur 401 patients a montré que le groupe placebo et le groupe traité présente le même pourcentage d'évènements indésirables non grave (88 % sous placebo et 91 % sous fulranumab)(Sanga *et al.*, 2017). Dans tous les groupes de fulranumab, une exacerbation de la douleur liée à l'arthrose (21 %) étaient l'effet indésirable le plus courant. Ce qui n'est pas acceptable pour un antalgique. L'évènement indésirable grave le plus fréquent était la nécessité d'une arthroplastie du genou (10 %) ou de la hanche (7 %), dont 80 % survenait au cours de la période de suivi post-traitement. Globalement, 81 arthroplasties ont été réalisées chez 71 patients (8 [11 %] recevant le placebo et 63 [89 %] recevant le fulranumab) ; 15 patients (21 %) ont présenté une RPOA et tous les cas de RPOA sont survenus chez des patients traités au fulranumab qui recevaient simultanément des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les RPOA sont survenus dans des articulations avec une arthrose préexistante. Il n'y a plus d'études mené sur la sécurité de ce produit au vu de son manque d'efficacité et de ces effets secondaires similaires aux autres anticorps anti-NGF.

Pour le fasinumab, une étude sur le long terme randomisée en double aveugle avec contrôle placebo a montré que sur 421 patients lors de la période de traitement de 16 semaines, le taux d'évènement indésirable était de 62 % avec le fasinumab et de 55 % avec le placebo (Dakin *et al.*, 2019). Le groupe fasinumab, par rapport au groupe placebo, avait un taux plus élevé de paresthésie (3 % contre 0 %) et d'arthralgie (8 % contre 2 %) mais ces événements se sont résolus à la fin de l'étude. Au cours de la phase de surveillance de 20 semaines des arthropathies ont été détectées chez 5 % des patients au total. L'arthropathie a été détectée chez 7 % des patients du groupe fasinumab combiné (c'est-à-dire toute les doses) contre seulement 1 % des patients du groupe placebo. Une augmentation des arthropathies en fonction de la dose et du temps de traitement au fasinumab a été observée au cours de l'étude (plus la dose de fasinumab était élevée plus le risque d'arthropathie l'était aussi). Les RPOA étaient présentes uniquement dans le groupe traité au fasinumab et concernaient 5 % des patients (RPOA de type 1 chez 14 patients et RPOA de type 2 chez 2 patients). Une fracture par insuffisance sous-chondrale est survenue chez 1,8 % des patients du groupe fasinumab combiné et 1,2 % dans le groupe placebo. Encore une fois le fort taux de RPOA limite fortement l'intérêt du traitement.

Pour le chien, très peu d'évènements indésirables apparaissaient avec un traitement au bedinvetmab. L'étude se divise en trois parties ici seul la première et troisième partie seront abordé. Dans la première partie sur la sécurité du bedinvetmab, 32 chiens ont été

sélectionnés au hasard et affectés à l'un des quatre traitements : trois groupes traité par le bedinvetmab à dose différente (1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg) et un groupe placebo (Krautmann *et al.*, 2021). Chaque chien a reçu une injection tous les 27 jours pendant 7 mois (soit 7 injections au total), ils ont été évalués à chaque dose et 25 semaines après le début de l'étude. La plupart des chiens ont des résultats anormaux de radiographie dans l'un de leur cotyle avant le traitement. Ces anomalies sont considérées comme une maladie articulaire dégénérative minimale. Au cours du traitement, la sévérité de la lésion n'a pas progressé, sauf chez une femelle témoin et une femelle traitée par le bedinvetmab à la dose de 3 mg/kg. Les évaluations de la plaque de croissance étaient normales. Tous les résultats anormaux ont été considérés comme non significatif car impossible à corrélérer avec le traitement. Dans la troisième partie, deux groupes de 8 chiens ont reçu une solution saline SC et deux groupes ont reçu du bedinvetmab 1 mg/kg SC au jour 0, suivi de solution saline ou de carprofène (Rimadyl, Pfizer) à dose de 4,4 mg/kg SC par jour pendant 14 jours. Le but étant de vérifier l'innocuité de l'association de l'anticorps avec un AINS. Après euthanasie des animaux les découvertes de pathologies macroscopiques et microscopiques dans tous les tissus, y compris les articulations principales, étaient fortuites et sans rapport avec le bedinvetmab ou les AINS car trop ancienne. Cette partie de l'étude est destinée à évaluer une possibilité de RPOA chez le chien. Celle-ci n'étant pas décrite chez les carnivores domestiques. Malheureusement, l'étude est effectuée sur un petit nombre d'animaux non arthrosique. Or chez l'homme seuls les articulations déjà atteintes d'arthrose présentent une RPOA et sur une durée de traitement bien supérieur à un mois. Même si l'association avec un AINS n'est pas démontrée comme la cause chez l'homme, la RPOA apparaissait sur des traitements de plus de 90 jours d'AINS en plus de l'anticorps. Cette durée n'est bien sûr pas comparable au vu de la durée de vie de chaque espèce mais reste très courte par rapport aux traitements sur long terme d'AINS chez le chien. Les auteurs précisent donc que les résultats ne permettent pas de confirmer que la RPOA existe chez les chiens et que ce n'est pas pour autant que les chiens tolèrent l'administration simultanée à long terme d'AINS et de bedinvetmab.

Une étude évoquée dans la partie IV)3)a) traite aussi de l'innocuité du bedinvetmab (Corral *et al.*, 2021). L'étude a montré que tous les événements indésirables signalés au cours des 9 mois de traitement étaient associés à des comorbidités accidentelles et/ou sont typiques d'une population de chiens souvent plus âgés atteints d'arthrose. Les changements n'étaient pas cliniquement significatifs et se sont généralement produits en quantité équivalente pour le placebo et le bedinvetmab. L'augmentation des concentrations d'aspartate aminotransférase et d'azote uréique du sang était plus élevée dans le groupe bedinvetmab que dans le groupe placebo par rapport aux valeurs prise au début de l'étude. Un nombre plus important de chiens du groupe bedinvetmab par rapport au groupe placebo ont été identifiés avec une diminution de l'hémoglobine et de l'hématocrite. Il n'y avait aucune preuve que les événements indésirables étaient associés à l'administration de bedinvetmab. Cette étude dont l'effectif possède une puissance de 80% et d'une durée plus importante montre une bonne innocuité du produit.

Pour le chat, l'innocuité du frunvetmab est évalué dans la même étude que celle sur l'efficacité vu en partie IV)3)b) (Gruen, Myers and Lascelles, 2021). Il y a eu 122 événements indésirables décrits chez 67 chats ; 119 d'entre eux ont été classés comme non graves. Ceux-ci ont été rapportés chez 30 chats soit 71,4% du groupe 1 (frunvetmab administré en

intraveineuse puis sous-cutanée), 21 chats soit 48,8 % du groupe 2 (frunevetmab administré en sous cutanée deux fois) et 16 chats soit 39% traités par placebo. Les événements de santé anormaux ont généralement été signalés à des fréquences similaires dans les groupes traités par placebo et frunevetmab. Les vomissements, l'insuffisance rénale et la dermatite/eczéma étaient les événements de santé anormaux les plus fréquemment signalés dans tous les groupes. L'incidence des vomissements était plus élevée chez les chats traités par placebo (14,6 %) que chez les chats traités par frunevetmab. Le pourcentage de chats présentant des événements d'insuffisance rénale aiguë était plus élevé chez les chats traités par frunevetmab (2,4 % dans le groupe 1 et 9,3 % dans le groupe 2) par rapport au placebo (0 %). La plupart des problèmes de santé liés à la peau étaient associés aux colliers portés par tous les chats pour le moniteur d'activité. Cependant, des événements de santé anormaux liés à la peau ont été rapportés à des fréquences accrues dans les deux groupes traités par frunevetmab (dermatite/eczéma chez 23,8% des chats du groupe 1 et 14,0% dans le groupe 2, par rapport à 2,4 % dans le groupe placebo). Aucune réaction au site d'injection n'a été notée chez aucun chat. Les auteurs précisent que même si les variations de l'insuffisance rénale clinique et des valeurs biochimiques sont classées globalement comme une insuffisance rénale, elles ne sont pas nécessairement indicatives d'une progression ou d'une identification d'une maladie rénale spécifique. Les valeurs biochimiques sanguines ont montré que lors de la visite de sélection, 3 chats sur 85 dans le groupe de traitement et 1 sur 41 dans le groupe placebo ont été inclus avec des valeurs de créatinine sérique normales et des valeurs de diméthylarginine symétrique (SDMA) élevées (>14) compatibles avec un stade IRIS de grade 1. Près de la moitié des chats des groupes traitement et placebo, 41/85 et 19/41, respectivement, ont été recrutés avec des concentrations sériques élevées de créatinine compatibles avec un stade IRIS de grade 2 (1,6 à 2,8 mg/dL). Parmi les chats du groupe 2 qui sont entrés dans l'étude au stade IRIS 1 ou 2, trois ont présenté des augmentations de la SDMA, de la créatinine sérique ou des deux tout en restant au stade IRIS 2. Un cas est passé du stade IRIS 2 au stade IRIS 3. Un chat du groupe 1 sans affection rénale préexistante avait légèrement augmenté la SDMA au jour 56 (sans autre modification des paramètres rénaux). Bien qu'il y ait eu une fréquence plus élevée d'événements d'insuffisance rénale dans les groupes frunevetmab, l'analyse de la SDMA, de la créatinine sérique et de l'azote uréique du sang n'a pas révélé de différences significatives entre les groupes traités par rapport au placebo à la fin de l'étude. Bien que l'innocuité reste nécessaire à évaluer dans un essai à plus grande échelle, les résultats de cette étude indiquent un profil d'innocuité pour le frunevetmab.

Le RCP du frunevetmab explique tout de même que l'innocuité et l'efficacité de ce produit n'ont pas été étudiées chez les chats atteints de maladie rénal de stades IRIS 3 et 4. L'utilisation du produit dans de tels cas doit être basée sur une évaluation bénéfice-risque réalisée par le vétérinaire responsable. Ce qui peut paraître compliqué puisque les maladies rénales et arthrosiques sont souvent présentes chez les vieux chats.

Une autre étude randomisée, contrôlée par placebo en double aveugle sur 275 chats a évalué la sécurité du traitement (Gruen et al., 2021). Après le dépistage d'arthrose, les chats ont reçu du frunevetmab (182 chats en sous cutanée à la dose du RCP) ou un placebo (93 chats en sous cutanée) aux jours 0, 28 et 56. Les mesures d'innocuité (numération formule, biochimie sur sérum et analyse d'urine) et les événements indésirables (basés sur l'examen vétérinaire et les rapports des propriétaires) n'étaient pas différents entre les chats traités par placebo et avec le frunevetmab, à l'exception des événements indésirables cutanés (alopécie,

dermatite/eczéma, prurit et autres affections cutanées, lésions et infections bactériennes). Ces événements étaient tout de même présent sur une proportion allant de 1% à 10% des chats traités. Bien que spéculatif, le prurit pourrait être l'équivalent des réactions de paresthésie observées chez l'homme. Chez la plupart des chats, les affections cutanées avaient un foyer primaire (par exemple, des blessures traumatiques, une infestation de puces) ou une relation avec une affection préexistante. Étant donné que les fréquences des effets indésirables dermatologiques après chaque administration étaient similaires et que la résolution était observée avec une administration continue, il ne semble pas que l'administration répétée augmente le risque qu'un chat développe une affection cutanée. Ces événements ont été légers, n'ont pas nécessité de traitement ou se sont résolus avec des traitements standard.

Le frunvetmab apporte donc tout de même de nombreux effets secondaires certes peu grave mais pour une efficacité controversée.

En conclusion :

Le bedinvetmab montre une bonne efficacité avec un soulagement de la douleur en 15 jours chez le chien et une absence d'effet secondaire

Le frunvetmab montre une efficacité controversée à cause de la difficulté à évaluer la douleur chez le chat et un prurit intense comme effet secondaire principale.

Le fulranumab montre un manque d'efficacité sur le long terme avec des risques de RPOA important. Les études chez l'homme ont rapidement été arrêtées.

Le fasinumab, montre une bonne efficacité sur le long terme avec diminution de la douleur mais la présence significative d'effet secondaire comme la RPOA.

Le tanezumab est l'anticorps ayant eu le plus d'études chez l'homme. Il montre une très bonne efficacité (supérieure aux AINS) sur le long terme mais les risques de RPOA présent même sans association avec un AINS empêche totalement sa commercialisation.

PARTIE V : DISCUSSION

1) Tableau récapitulatif

Le but de ce tableau est de regrouper les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de chacun des anticorps décrit dans cette thèse.

Espèce	Nom de l'anticorps	Posologie	Temps de demi-vie	Délai d'action	Durée d'action	Efficacité	Effets secondaires
Chien	Bedinvetmab	1mg à 10mg/kg	12 jours	15 jours	1 mois	Diminution significative du score de douleur	Très peu : réactions modérées au point d'injection
Chat	Frunevetmab	1 à 2,8mg/kg	10 jours	35 jours	1 mois	Efficacité controversée	Prurit intense dans 1 à 10% des cas
Homme	Fulranumab	1 à 10mg par personne	/	12 semaines	4 à 8 semaines	Efficacité controversée : hyperalgie et pas de différence avec le placebo après 41 semaines	Hyperalgie, Hypo-esthésie, Paresthésie, Rapide progressive osteo-arthritis (RPOA)
	Fasinumab	1 à 9mg par personne	/	2 semaines	8 semaines	Bonne efficacité même sur le long terme	Hypo-esthésie, Paresthésie, Arthrose à progression raapide (RPOA)
	Tanezumab	2,5 à 5mg par personne	23 jours	16 semaines	8 semaines	Bonne efficacité même sur le long terme	Hypo-esthésie, Paresthésie, Arthrose à progression raapide (RPOA)

Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la pharmacodynamique des différents anticorps monoclonaux anti-NGF chez l'homme, le chien et le chat

2) Discussion sur l'efficacité du frunevetmab

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer les difficultés rencontrées lors de l'évaluation de l'efficacité du frunevetmab.

Le chat est un animal stoïque en comparaison du chien. Il montre rarement des signes de douleur ou les mêmes signes quel que soit l'intensité. Le frunevetmab étant un traitement de la douleur uniquement il est difficile d'évaluer son efficacité.

L'effet placebo est assez important à cause du mode de vie du chat. Un bief d'observation est présent car c'est un animal assez indépendant et les propriétaires regarde rarement leur animal s'il ne présente pas de signe important de douleur. En sachant qu'il reçoit un traitement, ils seront plus attentifs et remarqueront ou s'imagineront une amélioration.

Les effets secondaires assez important de prurit présent chez 1 à 10% des chat reste important à évaluer sur le long terme.

3) Les effets secondaires chez le chien et le chat difficile à évaluer par rapport à l'homme

Certains effets secondaires présents chez l'homme comme l'hypoesthésie ou la paresthésie sont des symptômes impossibles à évaluer chez l'animal car il nécessite la parole pour être décrit. Ils sont donc possiblement présents mais non évalués.

Les risques de RPOA empêchant la commercialisation des anticorps monoclonaux chez l'homme sont évalués grâce à des mesures précises par IRM effectuées régulièrement. Ces mesures ne sont pas effectuées chez le chien ou le chat car trop cher ou trop compliqué à réaliser. Cependant la faible durée de vie de nos animaux domestique limite l'importance de cette effet secondaire apparaissant après 1an de traitement.

4) Discussion sur le prix du bedinvetmab

Le prix du bedinvetmab est considéré comme son principal inconvénient mais comparé aux prix des anti-COX2 classiquement utilisés, le prix reste convenable à partir de chien de plus de 20kg. Le bedinvetmab reste tout de même plus cher que le Galiprant dont l'efficacité est comparable.

Malgré tout, avec l'injection de bedinvetmab une consultation est effectuée, le prix de la consultation est donc à ajouter tous les mois et dépend du vétérinaire traitant qui décidera de la facturer partiellement ou non. Cette consultation permet tout de même un suivi régulier de l'animal et donc une adaptation de la fréquence du traitement.

POIDS	Prix par mois en euro			
	Librella	Galiprant	Onsior	Previcox
5-10 kg	50,27	13,2	43,28	18,45
10-20 kg	56,55	24,5	53,44	36,9
20-30 kg	65,14	49,05	64,76	55,35
30-40 kg	69,8	54,99	64,76	73,8
40-60 kg	80,58	54,99	129,52	92,25
60-80 kg	139,6	109,98	129,52	118,06
80-100 kg	150,38	109,98	182,56	147,6
100-120 kg	161,16		194,28	

Tableau 3 : tableau comparatif des prix du librella et des AINS classiquement utilisés pour le traitement de la douleur arthrosique selon la posologie conseiller dans le RCP (prix de vente de Vetagro-sup)

CONCLUSION

L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-NGF permet d'agir sur de nombreuses causes de la douleur arthrosique : l'inflammation, la nociception, les neuropathies associées et l'augmentation du nombre de fibres sensorielles sur la membrane synoviale de l'articulation arthrosique. Ces anticorps présentent donc un avantage certain par rapport aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) les plus couramment utilisés dans la gestion de cette douleur.

Le procédé de fabrication étant de mieux en mieux connu celui-ci est de moins en moins coûteux. En effet l'utilisation d'hybridome, les techniques de « Petisation » d'anticorps ainsi que le Library Scanning Mutagenesis permet de fabriquer des anticorps spécifiques d'une seule molécule sans risque de réaction immunitaire. De même les systèmes de fed batch et de purification permettent une production en grande quantité de ces anticorps. Une avancée technologique dans ce mode de traitement est donc clairement envisagée par les différents laboratoires que ce soit en médecine vétérinaire ou humaine.

Chez le chien, le bedinvetmab montre une très bonne efficacité avec très peu d'effets secondaires. Il est donc en termes de gestion de la douleur et d'innocuité plus efficace que les anti-COX 2 utilisés classiquement. L'association du bedinvetmab avec les AINS a été testé sur 15 jours et ne montre pas d'effets indésirable sur cette période. Cette durée de 15 jours, assez limitée, correspond à la durée expérimentale entre la première injection de bedinvetmab et la diminution de la douleur arthrosique. C'est donc la durée de la transition entre une thérapie à base d'AINS et le bedinvetmab. Etant donné les effets indésirables de cette association supposé chez l'homme, il était nécessaire d'évaluer son innocuité chez le chien. Un désavantage du bedinvetmab reste son prix, en effet une injection à 80€ tous les mois peut paraître un coût trop important pour certains propriétaires. Malgré tout, cela reste comparable voir inférieur au prix des anti-COX 2 à dose recommandée.

Chez le chat, l'efficacité du frunévetmab est plus controversé. En effet la difficulté à évaluer la douleur chez cet animal et l'absence de grille de douleur officielle limite clairement le poids des résultats expérimentaux. Malgré tout, dans des conditions expérimentales identiques, il montre les mêmes résultats que les AINS censés être efficaces. Le frunévetmab montre quelques effets indésirables chez le chat comme un prurit intense comparable à l'hypoesthésie observée chez l'homme. Cependant cet effet secondaire est minime par rapport à ce qu'un traitement AINS peut engendrer sur un chat arthrosique et insuffisant rénal. Le frunévetmab reste donc un produit intéressant permettant de proposer une solution aux chats arthrosiques ne pouvant supporter un traitement AINS au long court.

Chez l'homme, les effets indésirables des anticorps monoclonaux anti-NGF sont trop importants pour qu'ils soient commercialisés. En effet le risque d'arthrose à progression rapide de type 1 ou 2 est beaucoup plus important avec un traitement aux anticorps monoclonaux qu'avec un traitement AINS. Il a aussi été montré que ce n'était pas l'association des deux qui entraînait cet effet secondaire mais bien les anticorps seuls. L'arthrose à progression rapide oblige le patient à avoir un traitement chirurgical avec pose de prothèse. Ce traitement est le plus utilisé chez l'homme contrairement aux carnivores domestique. En effet le coût du traitement chirurgical est rarement un frein en médecine humaine. Ainsi les techniques chirurgicales et le matériel utilisé (prothèses fabriquées sur mesure) sont plus développés qu'en médecine vétérinaire. Ceci permet un traitement efficace avec peu d'effet secondaire rendant l'usage des anticorps monoclonaux obsolète dans ce genre de situation et empêchant leur mise sur le marché.

Même si la médecine vétérinaire commence à se développer comme une médecine de précision avec de plus en plus de moyen, l'écart avec la médecine humaine reste indéniable. Dans cette thèse nous avons pu voir que chez nos carnivores domestiques le traitement palliatif médical reste favorisé par rapport au traitement chirurgical car moins coûteux. Le développement d'assurances pour animaux de compagnie sera-t-il assez important pour diminuer cet écart ?

BIBLIOGRAPHIE

- Abdiche, Y.N., Malashock, D.S. and Pons, J. (2008) 'Probing the binding mechanism and affinity of tanezumab, a recombinant humanized anti-NGF monoclonal antibody, using a repertoire of biosensors', *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, 17(8), pp. 1326–1335. doi:10.1110/ps.035402.108.
- Akilesh, S. *et al.* (2008) 'Podocytes use FcRn to clear IgG from the glomerular basement membrane', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(3), pp. 967–972. doi:10.1073/pnas.0711515105.
- Al-Lazikani, B., Lesk, A.M. and Chothia, C. (1997) 'Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins' Edited by I. A. Wilson', *Journal of Molecular Biology*, 273(4), pp. 927–948. doi:10.1006/jmbi.1997.1354.
- An, G. (2020) 'Concept of Pharmacologic Target-Mediated Drug Disposition (TMDD) in Large-Molecule and Small-Molecule Compounds', *Journal of clinical pharmacology*, 60(2), pp. 149–163. doi:10.1002/jcph.1545.
- Anderson, K.L. *et al.* (2018) 'Prevalence, duration and risk factors for appendicular osteoarthritis in a UK dog population under primary veterinary care', *Scientific Reports*, 8(1), p. 5641. doi:10.1038/s41598-018-23940-z.
- Anti-Nerve Growth Factor [alphaD11]* (no date) *Absolute Antibody*. Available at: <https://absoluteantibody.com/product/anti-nerve-growth-factor-αd11/> (Accessed: 24 November 2021).
- Arden, N. *et al.* (2015) *Atlas of Osteoarthritis*. Springer.
- Bae, S.-C. *et al.* (2003) 'Cost-effectiveness of low dose corticosteroids versus non-steroidal anti-inflammatory drugs and COX-2 specific inhibitors in the long-term treatment of rheumatoid arthritis', *Rheumatology (Oxford, England)*, 42(1), pp. 46–53. doi:10.1093/rheumatology/keg029.
- Benito, J. *et al.* (2013) 'Reliability and discriminatory testing of a client-based metrology instrument, feline musculoskeletal pain index (FMPI) for the evaluation of degenerative joint disease-associated pain in cats', *The Veterinary Journal*, 196(3), pp. 368–373. doi:10.1016/j.tvjl.2012.12.015.
- Berenbaum, F. *et al.* (2020) 'Subcutaneous tanezumab for osteoarthritis of the hip or knee: efficacy and safety results from a 24-week randomised phase III study with a 24-week follow-up period', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 79(6), pp. 800–810. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216296.
- Birbara, C. *et al.* (2018) 'Safety and efficacy of subcutaneous tanezumab in patients with knee or hip osteoarthritis', *Journal of Pain Research*, 11, pp. 151–164. doi:10.2147/JPR.S135257.
- Bocchini, V. and Angeletti, P.U. (1969) 'The nerve growth factor: purification as a 30,000-molecular-weight protein', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 64(2), pp. 787–794. doi:10.1073/pnas.64.2.787.

Bournazos, S., Gupta, A. and Ravetch, J.V. (2020) 'The role of IgG Fc receptors in antibody-dependent enhancement', *Nature Reviews Immunology*, 20(10), pp. 633–643. doi:10.1038/s41577-020-00410-0.

Brown, D.C. *et al.* (2008) 'Ability of the Canine Brief Pain Inventory to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis', *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233(8), pp. 1278–1283. doi:10.2460/javma.233.8.1278.

Brown, D.C., Bell, M. and Rhodes, L. (2013) 'Power of treatment success definitions when the Canine Brief Pain Inventory is used to evaluate carprofen treatment for the control of pain and inflammation in dogs with osteoarthritis', *American Journal of Veterinary Research*, 74(12), pp. 1467–1473. doi:10.2460/ajvr.74.12.1467.

Butt, M. *et al.* (2014) 'Morphologic, stereologic, and morphometric evaluation of the nervous system in young cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) following maternal administration of tanezumab, a monoclonal antibody to nerve growth factor', *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 142(2), pp. 463–476. doi:10.1093/toxsci/kfu192.

Carvès, S., Trouvin, A.-P. and Perrot, S. (2021) 'Vision actuelle de la douleur arthrosique : comprendre la physiopathologie et l'expérience des patients pour une meilleure prise en charge', *Revue du Rhumatisme Monographies*, 88(2), pp. 109–113. doi:10.1016/j.monrhu.2021.02.004.

Cattaneo, A., Rapposelli, B. and Calissano, P. (1988) 'Three Distinct Types of Monoclonal Antibodies After Long-Term Immunization of Rats with Mouse Nerve Growth Factor', *Journal of Neurochemistry*, 50(4), pp. 1003–1010. doi:10.1111/j.1471-4159.1988.tb10565.x.

Chang, D.S. *et al.* (2016) 'Anti-nerve growth factor in pain management: current evidence', *Journal of Pain Research*, 9, pp. 373–383. doi:10.2147/JPR.S89061.

Chen, Y.-F. *et al.* (2008) 'Cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs (etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib and lumiracoxib) for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a systematic review and economic evaluation', *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, 12(11), pp. 1–278, iii. doi:10.3310/hta12110.

Corral, M.J. *et al.* (2021) 'A prospective, randomized, blinded, placebo-controlled multisite clinical study of bedinvetmab, a canine monoclonal antibody targeting nerve growth factor, in dogs with osteoarthritis', *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 48(6), pp. 943–955. doi:10.1016/j.vaa.2021.08.001.

Cui, M. *et al.* (2016) 'Polymodal Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 Nociceptor: Structure, Modulators, and Therapeutic Applications', *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 104, pp. 81–125. doi:10.1016/bs.apcsb.2015.11.005.

Dakin, P. *et al.* (2019) 'The Efficacy, Tolerability, and Joint Safety of Fasinumab in Osteoarthritis Pain: A Phase IIb/III Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial', *Arthritis & Rheumatology*, 71(11), pp. 1824–1834. doi:10.1002/art.41012.

Deng, R. *et al.* (2012) 'Subcutaneous bioavailability of therapeutic antibodies as a function of FcRn binding affinity in mice', *mAbs*, 4(1), pp. 101–109. doi:10.4161/mabs.4.1.18543.

Dirks, N.L. and Meibohm, B. (2010) 'Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies', *Clinical Pharmacokinetics*, 49(10), pp. 633–659. doi:10.2165/11535960-000000000-00000.

Dostalek, M. *et al.* (2013) 'Pharmacokinetics, pharmacodynamics and physiologically-based pharmacokinetic modelling of monoclonal antibodies', *Clinical Pharmacokinetics*, 52(2), pp. 83–124. doi:10.1007/s40262-012-0027-4.

Downey, H.F. *et al.* (2008) 'Lymph flow in the thoracic duct of conscious dogs during lymphatic pump treatment, exercise, and expansion of extracellular fluid volume', *Lymphatic Research and Biology*, 6(1), pp. 3–13. doi:10.1089/lrb.2007.1017.

Em, C. and Ms, S. (2013) 'Multicenter randomized prospective clinical evaluation of meloxicam administered via transmucosal oral spray in client-owned dogs', *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 36(6). doi:10.1111/jvp.12050.

Emanuele, E. *et al.* (2006) 'Raised plasma nerve growth factor levels associated with early-stage romantic love', *Psychoneuroendocrinology*, 31(3), pp. 288–294. doi:10.1016/j.psyneuen.2005.09.002.

Emw (2009) *English: Structure of the NGFR protein. Based on PyMOL rendering of PDB 1sg1.* Available at: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Protein_NGFR_PDB_1sg1.png?uselang=fr (Accessed: 16 November 2021).

Enomoto, M. *et al.* (2019) 'Anti-nerve growth factor monoclonal antibodies for the control of pain in dogs and cats', *Veterinary Record*, 184(1), pp. 23–23. doi:10.1136/vr.104590.

Fan, J. and de Lannoy, I.A.M. (2014) 'Pharmacokinetics', *Biochemical Pharmacology*, 87(1), pp. 93–120. doi:10.1016/j.bcp.2013.09.007.

Farrar, J.T. *et al.* (2001) 'Clinical importance of changes in chronic pain intensity measured on an 11-point numerical pain rating scale', *Pain*, 94(2), pp. 149–158. doi:10.1016/S0304-3959(01)00349-9.

Felipe, C.D. *et al.* (1998) 'Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P', *Nature*, 392(6674), pp. 394–397. doi:10.1038/32904.

Fischer, W. *et al.* (1987) 'Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor', *Nature*, 329(6134), pp. 65–68. doi:10.1038/329065a0.

Frohman, M.A., Dush, M.K. and Martin, G.R. (1988) 'Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(23), pp. 8998–9002. doi:10.1073/pnas.85.23.8998.

Gearing, D. p. *et al.* (2016) 'In Vitro and In Vivo Characterization of a Fully Felinized Therapeutic Anti-Nerve Growth Factor Monoclonal Antibody for the Treatment of Pain in Cats', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), pp. 1129–1137. doi:10.1111/jvim.13985.

Gearing, D.P. *et al.* (2013) 'A fully caninised anti-NGF monoclonal antibody for pain relief in dogs', *BMC Veterinary Research*, 9, p. 226. doi:10.1186/1746-6148-9-226.

Ghilardi, J.R. *et al.* (2012) 'Neuroplasticity of sensory and sympathetic nerve fibers in a mouse model of a painful arthritic joint', *Arthritis and Rheumatism*, 64(7), pp. 2223–2232. doi:10.1002/art.34385.

Giraudel, J.M. *et al.* (2005) 'Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of NSAIDs in a model of reversible inflammation in the cat', *British Journal of Pharmacology*, 146(5), pp. 642–653. doi:10.1038/sj.bjp.0706372.

Gruen, M. e. *et al.* (2014) 'Detection of Clinically Relevant Pain Relief in Cats with Degenerative Joint Disease Associated Pain', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), pp. 346–350. doi:10.1111/jvim.12312.

Gruen, M. e. *et al.* (2016) 'A Feline-Specific Anti-Nerve Growth Factor Antibody Improves Mobility in Cats with Degenerative Joint Disease–Associated Pain: A Pilot Proof of Concept Study', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), pp. 1138–1148. doi:10.1111/jvim.13972.

Gruen, M.E. *et al.* (2015) 'Criterion Validation Testing of Clinical Metrology Instruments for Measuring Degenerative Joint Disease Associated Mobility Impairment in Cats', *PLoS One*, 10(7), p. e0131839. doi:10.1371/journal.pone.0131839.

Gruen, M.E. *et al.* (2021) 'Frunevetmab, a felinized anti-nerve growth factor monoclonal antibody, for the treatment of pain from osteoarthritis in cats', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), pp. 2752–2762. doi:10.1111/jvim.16291.

Gruen, M.E., Myers, J.A.E. and Lascelles, B.D.X. (2021) 'Efficacy and Safety of an Anti-nerve Growth Factor Antibody (Frunevetmab) for the Treatment of Degenerative Joint Disease-Associated Chronic Pain in Cats: A Multisite Pilot Field Study', *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p. 610028. doi:10.3389/fvets.2021.610028.

Guzman, R.E. *et al.* (2003) 'Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: an animal model of osteoarthritis', *Toxicologic Pathology*, 31(6), pp. 619–624. doi:10.1080/01926230390241800.

Harrison, S. and Geppetti, P. (2001) 'Substance P', *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33(6), pp. 555–576. doi:10.1016/S1357-2725(01)00031-0.

Hawker, G.A. (2019) 'Osteoarthritis is a serious disease', *Clinical and Experimental Rheumatology*, 37 Suppl 120(5), pp. 3–6.

Hernigou, P. (2018) 'Les prothèses totales de hanche', *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 202(5–6), pp. 1063–1070. doi:10.1016/S0001-4079(19)30273-0.

Hochberg, M.C. *et al.* (2021) 'Long-Term Safety and Efficacy of Subcutaneous Tanezumab Versus Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs for Hip or Knee Osteoarthritis: A Randomized Trial', *Arthritis & Rheumatology*, 73(7), pp. 1167–1177. doi:10.1002/art.41674.

Immcarle70 (2018) *English: The universal structure of antibody includes the constant regions part of the fragment crystallizable(Fc) region of the antibody(shown in dark blue). It also includes the fragment antigen binding which is composed of one heavy and one light chain(shown as L for light and V for heavy). Each heavy and light chain is composed of one variable region and one constant region(shown as V or C). The variable regions are composed*

of 7 amino acid segments; three of which are hypervariable regions or CDR(yellow) and four of which are FR(shown in green for heavy chains and pink for light chains). Available at: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibody_Structure_and_Antigen_Binding_Regions.jpg (Accessed: 22 November 2021).

Ishikawa, G. *et al.* (2015) 'Long-term analgesic effect of a single dose of anti-NGF antibody on pain during motion without notable suppression of joint edema and lesion in a rat model of osteoarthritis', *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(6), pp. 925–932. doi:10.1016/j.joca.2015.02.002.

Isola, M. *et al.* (2011) 'Nerve growth factor concentrations in the synovial fluid from healthy dogs and dogs with secondary osteoarthritis', *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology: V.C.O.T.*, 24(4), pp. 279–284. doi:10.3415/VCOT-10-04-0051.

Januel, J.-M. *et al.* (2012) 'Symptomatic in-hospital deep vein thrombosis and pulmonary embolism following hip and knee arthroplasty among patients receiving recommended prophylaxis: a systematic review', *JAMA*, 307(3), pp. 294–303. doi:10.1001/jama.2011.2029.

Ji, R.-R., Xu, Z.-Z. and Gao, Y.-J. (2014) 'Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain', *Nature reviews. Drug discovery*, 13(7), pp. 533–548. doi:10.1038/nrd4334.

Jonsson, E.N. *et al.* (2016) 'Population pharmacokinetics of tanezumab in phase 3 clinical trials for osteoarthritis pain', *British Journal of Clinical Pharmacology*, 81(4), pp. 688–699. doi:10.1111/bcp.12850.

Junghans, R.P. and Anderson, C.L. (1996) 'The protection receptor for IgG catabolism is the beta2-microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(11), pp. 5512–5516. doi:10.1073/pnas.93.11.5512.

Kc, R. *et al.* (2016) 'PKC δ null mutations in a mouse model of osteoarthritis alter osteoarthritic pain independently of joint pathology by augmenting NGF/TrkA-induced axonal outgrowth', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 75(12), pp. 2133–2141. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208444.

Kelly, K.M. *et al.* (2019) 'Safety and efficacy of fulranumab in osteoarthritis of the hip and knee: results from four early terminated phase III randomized studies', *Current Medical Research and Opinion*, 35(12), pp. 2117–2127. doi:10.1080/03007995.2019.1653068.

Kerr, B.J. *et al.* (1999) 'Brain-Derived Neurotrophic Factor Modulates Nociceptive Sensory Inputs and NMDA-Evoked Responses in the Rat Spinal Cord', *Journal of Neuroscience*, 19(12), pp. 5138–5148. doi:10.1523/JNEUROSCI.19-12-05138.1999.

King, M.D. (2017) 'Etiopathogenesis of Canine Hip Dysplasia, Prevalence, and Genetics', *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(4), pp. 753–767. doi:10.1016/j.cvsm.2017.03.001.

Kota, J. *et al.* (2007) 'Lymphatic absorption of subcutaneously administered proteins: influence of different injection sites on the absorption of darbepoetin alfa using a sheep model', *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 35(12), pp. 2211–2217. doi:10.1124/dmd.107.015669.

Krautmann, M. *et al.* (2021) 'Laboratory safety evaluation of bedinvetmab, a canine anti-nerve growth factor monoclonal antibody, in dogs', *The Veterinary Journal*, 276, p. 105733. doi:10.1016/j.tvjl.2021.105733.

La Porte, S.L. *et al.* (2014) 'Generation of a high-fidelity antibody against nerve growth factor using library scanning mutagenesis and validation with structures of the initial and optimized Fab-antigen complexes', *mAbs*, 6(4), pp. 1059–1068. doi:10.4161/mabs.28677.

'Labs: Translational Research in Pain (TRiP) - Clinical Metrology Instruments' (no date) *NC State Veterinary Medicine*. Available at: <https://cvm.ncsu.edu/research/labs/clinical-sciences/comparative-pain-research/clinical-metrology-instruments/> (Accessed: 15 December 2021).

de Lange-Brokaar, B.J.E. *et al.* (2016) 'Characterization of synovial mast cells in knee osteoarthritis: association with clinical parameters', *Osteoarthritis and Cartilage*, 24(4), pp. 664–671. doi:10.1016/j.joca.2015.11.011.

Lascelles, B.D.X. *et al.* (2007) 'Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(3), pp. 410–416. doi:10.1892/0891-6640(2007)21[410:eocoma]2.0.co;2.

Lascelles, B.D.X. *et al.* (2015) 'A canine-specific anti-nerve growth factor antibody alleviates pain and improves mobility and function in dogs with degenerative joint disease-associated pain', *BMC Veterinary Research*, 11, p. 101. doi:10.1186/s12917-015-0413-x.

Leon, A. *et al.* (1994) 'Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(9), pp. 3739–3743.

Liu, J.K.H. (2014) 'The history of monoclonal antibody development – Progress, remaining challenges and future innovations', *Annals of Medicine and Surgery*, 3(4), pp. 113–116. doi:10.1016/j.amsu.2014.09.001.

Luigi, A. *et al.* (2015) 'Nerve Growth Factor: A Focus on Neuroscience and Therapy', *Current Neuropharmacology*, 13(3), pp. 294–303.

Malfait, A.M., Little, C.B. and McDougall, J.J. (2013) 'A commentary on modelling osteoarthritis pain in small animals', *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(9), pp. 1316–1326. doi:10.1016/j.joca.2013.06.003.

Manikandan, P. and Nagini, S. (2018) 'Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review', *Current Drug Targets*, 19(1), pp. 38–54. doi:10.2174/1389450118666170125144557.

Mantyh, P.W. *et al.* (2011) 'Antagonism of Nerve Growth Factor-TrkA Signaling and the Relief of Pain', *Anesthesiology*, 115(1), pp. 189–204. doi:10.1097/ALN.0b013e31821b1ac5.

Mantyh, W.G. *et al.* (2010) 'Blockade of nerve sprouting and neuroma formation markedly attenuates the development of late stage cancer pain', *Neuroscience*, 171(2), pp. 588–598. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.08.056.

Mapp, P.I. and Walsh, D.A. (2012) 'Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis', *Nature Reviews Rheumatology*, 8(7), pp. 390–398. doi:10.1038/nrrheum.2012.80.

Marceau, F. and Regoli, D. (2004) 'Bradykinin receptor ligands: therapeutic perspectives', *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(10), pp. 845–852. doi:10.1038/nrd1522.

Markman, J.D. *et al.* (2020) 'Tanezumab for chronic low back pain: a randomized, double-blind, placebo- and active-controlled, phase 3 study of efficacy and safety', *Pain*, 161(9), pp. 2068–2078. doi:10.1097/j.pain.0000000000001928.

Mayorga, A.J. *et al.* (2016) 'Efficacy and safety of fulranumab as monotherapy in patients with moderate to severe, chronic knee pain of primary osteoarthritis: a randomised, placebo- and active-controlled trial', *International Journal of Clinical Practice*, 70(6), pp. 493–505. doi:10.1111/ijcp.12807.

McConnell, S., Kolopack, P. and Davis, A.M. (2001) 'The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC): a review of its utility and measurement properties', *Arthritis Care & Research*, 45(5), pp. 453–461. doi:10.1002/1529-0131(200110)45:5<453::AID-ART365>3.0.CO;2-W.

McIntosh, A.M., Sharpe, M. and Lawrie, S.M. (2010) '9 - Research methods, statistics and evidence-based practice', in Johnstone, E.C. *et al.* (eds) *Companion to Psychiatric Studies (Eighth Edition)*. St. Louis: Churchill Livingstone, pp. 157–198. doi:10.1016/B978-0-7020-3137-3.00009-7.

McKelvey, L., Shorten, G.D. and O'Keeffe, G.W. (2013) 'Nerve growth factor-mediated regulation of pain signalling and proposed new intervention strategies in clinical pain management', *Journal of Neurochemistry*, 124(3), pp. 276–289. doi:10.1111/jnc.12093.

Miller, R.J., Malfait, A.-M. and Miller, R.E. (2020) 'THE INNATE IMMUNE RESPONSE AS A MEDIATOR OF OSTEOARTHRITIS PAIN', *Osteoarthritis and cartilage*, 28(5), pp. 562–571. doi:10.1016/j.joca.2019.11.006.

Milstein, C. *et al.* (1979) 'Monoclonal antibodies and cell surface antigens', *Ciba Foundation Symposium*, (66), pp. 251–276. doi:10.1002/9780470720486.ch11.

Mizuno, M. *et al.* (2003) 'Involvement of BDNF Receptor TrkB in Spatial Memory Formation', *Learning & Memory*, 10(2), pp. 108–115. doi:10.1101/lm.56003.

Moore, A.R. *et al.* (2010) 'Numbers-needed-to-treat analyses – Do timing, dropouts, and outcome matter? Pooled analysis of two randomized, placebo-controlled chronic low back pain trials', *PAIN*, 151(3), pp. 592–597. doi:10.1016/j.pain.2010.07.013.

Muller, C. *et al.* (2016) 'Evaluation of Clinical Metrology Instrument in Dogs with Osteoarthritis', *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(3), pp. 836–846. doi:10.1111/jvim.13923.

Nilsson, G. *et al.* (1997) 'Human mast cells express functional TrkA and are a source of nerve growth factor', *European Journal of Immunology*, 27(9), pp. 2295–2301. doi:10.1002/eji.1830270925.

Parola, C., Neumeier, D. and Reddy, S.T. (2018) 'Integrating high-throughput screening and sequencing for monoclonal antibody discovery and engineering', *Immunology*, 153(1), pp. 31–41. doi:10.1111/imm.12838.

Payne-Johnson, M. *et al.* (2015) 'Comparative efficacy and safety of mavacoxib and carprofen in the treatment of canine osteoarthritis', *Veterinary Record*, 176(11), pp. 284–284. doi:10.1136/vr.102397.

Pecchi, E. *et al.* (2014) 'Induction of nerve growth factor expression and release by mechanical and inflammatory stimuli in chondrocytes: possible involvement in osteoarthritis pain', *Arthritis Research & Therapy*, 16(1), p. R16. doi:10.1186/ar4443.

Principes de base de la régression pas à pas (no date). Available at: <https://support.minitab.com/fr-fr/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/regression/supporting-topics/basics/basics-of-stepwise-regression/> (Accessed: 10 December 2021).

Puljak, L. *et al.* (2017) 'Celecoxib for osteoarthritis', *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5, p. CD009865. doi:10.1002/14651858.CD009865.pub2.

Ragetly, G., Massey, L. and Brown, D. (2019) 'Initial psychometric testing and validation of the French version of the Canine Brief Pain Inventory', *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46. doi:10.1016/j.vaa.2019.04.001.

Raja, S.N. *et al.* (2020) 'The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises', *PAIN*, 161(9), pp. 1976–1982. doi:10.1097/j.pain.0000000000001939.

Ravetch, J.V. and Bolland, S. (2001) 'IgG Fc Receptors', *Annual Review of Immunology*, 19(1), pp. 275–290. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.275.

Reth, M. (2013) 'Matching cellular dimensions with molecular sizes', *Nature Immunology*, 14(8), pp. 765–767. doi:10.1038/ni.2621.

Ruberti, F., Bradbury, A. and Cattaneo, A. (1993) 'Cloning and expression of an anti-nerve growth factor (NGF) antibody for studies using the neuroantibody approach', *Cellular and Molecular Neurobiology*, 13(5), pp. 559–568. doi:10.1007/BF00711464.

Ryman, J.T. and Meibohm, B. (2017) 'Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies', *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*, 6(9), pp. 576–588. doi:10.1002/psp4.12224.

Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor, N.Y.

Sanga, P. *et al.* (2013) 'Efficacy, safety, and tolerability of fulranumab, an anti-nerve growth factor antibody, in the treatment of patients with moderate to severe osteoarthritis pain', *PAIN*, 154(10), pp. 1910–1919. doi:10.1016/j.pain.2013.05.051.

Sanga, P. *et al.* (2017) 'Long-Term Safety and Efficacy of Fulranumab in Patients With Moderate-to-Severe Osteoarthritis Pain: A Phase II Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Extension Study', *Arthritis & Rheumatology*, 69(4), pp. 763–773. doi:10.1002/art.39943.

- Schmelz, M. *et al.* (2019) 'Nerve growth factor antibody for the treatment of osteoarthritis pain and chronic low-back pain: mechanism of action in the context of efficacy and safety', *Pain*, 160(10), pp. 2210–2220. doi:10.1097/j.pain.0000000000001625.
- Schou, W.S. *et al.* (2017) 'Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review', *The Journal of Headache and Pain*, 18(1), p. 34. doi:10.1186/s10194-017-0741-2.
- Shang, X., Wang, Z. and Tao, H. (2017) 'Mechanism and therapeutic effectiveness of nerve growth factor in osteoarthritis pain', *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 13, pp. 951–956. doi:10.2147/TCRM.S139814.
- Sherwood, T.W., Frey, E.N. and Askwith, C.C. (2012) 'Structure and activity of the acid-sensing ion channels', *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 303(7), pp. C699–C710. doi:10.1152/ajpcell.00188.2012.
- Slingerland, L.I. *et al.* (2011) 'Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats', *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187(3), pp. 304–309. doi:10.1016/j.tvjl.2009.12.014.
- Sousa-Valente, J. *et al.* (2018) 'Role of TrkA signalling and mast cells in the initiation of osteoarthritis pain in the monoiodoacetate model', *Osteoarthritis and Cartilage*, 26(1), pp. 84–94. doi:10.1016/j.joca.2017.08.006.
- Stoppiello, L.A. *et al.* (2014) 'Structural Associations of Symptomatic Knee Osteoarthritis', *Arthritis & Rheumatology*, 66(11), pp. 3018–3027. doi:10.1002/art.38778.
- Takano, S. *et al.* (2017) 'Nerve growth factor regulation and production by macrophages in osteoarthritic synovium', *Clinical and Experimental Immunology*, 190(2), pp. 235–243. doi:10.1111/cei.13007.
- Tang, L. *et al.* (2001) 'Cloning and characterization of cDNAs encoding four different canine immunoglobulin gamma chains', *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 80(3–4), pp. 259–270. doi:10.1016/s0165-2427(01)00318-x.
- Trouvin, A.-P. and Perrot, S. (2019) 'New concepts of pain', *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 33(3), p. 101415. doi:10.1016/j.berh.2019.04.007.
- Tuszynski, M.H. *et al.* (2005) 'A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease', *Nature Medicine*, 11(5), pp. 551–555. doi:10.1038/nm1239.
- Urlaub, G. and Chasin, L.A. (1980) 'Isolation of Chinese hamster cell mutants deficient in dihydrofolate reductase activity.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(7), pp. 4216–4220.
- Walters, R.R., Boucher, J.F. and De Toni, F. (2021) 'Pharmacokinetics and Immunogenicity of Frunevetmab in Osteoarthritic Cats Following Intravenous and Subcutaneous Administration', *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p. 526. doi:10.3389/fvets.2021.687448.
- Walton, M.B. *et al.* (2013) 'Evaluation of construct and criterion validity for the "Liverpool Osteoarthritis in Dogs" (LOAD) clinical metrology instrument and comparison to two other instruments', *PloS One*, 8(3), p. e58125. doi:10.1371/journal.pone.0058125.

- Wang, D.D. *et al.* (2009) 'Fixed dosing versus body size-based dosing of monoclonal antibodies in adult clinical trials', *Journal of Clinical Pharmacology*, 49(9), pp. 1012–1024. doi:10.1177/0091270009337512.
- Wang, H. *et al.* (2014) 'The Nerve Growth Factor Signaling and Its Potential as Therapeutic Target for Glaucoma', *BioMed Research International*, 2014, p. e759473. doi:10.1155/2014/759473.
- Westerink, R.H.S. and Ewing, A.G. (2008) 'The PC12 cell as model for neurosecretion', *Acta physiologica (Oxford, England)*, 192(2), pp. 273–285. doi:10.1111/j.1748-1716.2007.01805.x.
- Wu, Z., Nagata, K. and Iijima, T. (2002) 'Involvement of sensory nerves and immune cells in osteophyte formation in the ankle joint of adjuvant arthritic rats', *Histochemistry and Cell Biology*, 118(3), pp. 213–220. doi:10.1007/s00418-002-0443-x.
- Yu, F.H. and Catterall, W.A. (2003) 'Overview of the voltage-gated sodium channel family', *Genome Biology*, 4(3), p. 207.
- Zhao, L. *et al.* (2013) 'The antibody drug absorption following subcutaneous or intramuscular administration and its mathematical description by coupling physiologically based absorption process with the conventional compartment pharmacokinetic model', *Journal of Clinical Pharmacology*, 53(3), pp. 314–325. doi:10.1002/jcph.4.

ANNEXE

Annexe 1 : Calcul de la clairance et du volume de distribution du bedinvetmab d'après le RCP

$$= \times \text{---}$$

$$= \times \quad = \text{---}$$

è é :

$$dC/dt = -k_e \times t$$

$$() = 0 -$$

Soit
$$= - \frac{() - ()}{0 - 1/2}$$

Donc
$$= \frac{(2)}{1/2}$$

Donc
$$= \frac{\times \times 1/2}{(2)\times}$$

Ainsi
$$= \frac{0.84 \times 1000 \times 12}{(2) \times 141} = 0.103$$

Auteur

DEBAENE Florian

Résumé

L'arrivée récente sur le marché vétérinaire d'anticorps monoclonaux anti-NGF pour les chiens et les chats permet une nouvelle méthode de traitement de la douleur arthrosique. Chez l'homme ses anticorps sont en développement mais ne sont pas encore commercialisable.

Ce document a pour objectif de faire une revue bibliographique de l'intérêt de ces anticorps chez l'homme, le chien et le chat, de décrire leur pharmacologie et de comparer leur efficacité par rapport aux traitements actuels. Les études actuelles montrent que chez le chien l'efficacité de ce traitement est supérieure aux anti-inflammatoires classiques, chez le chat l'efficacité est équivalente à ses anti-inflammatoires mais le traitement peut présenter des effets indésirables comme un prurit intense. Chez l'homme les effets indésirables comme des lésions d'arthrose à progression rapide rendent l'utilisation de ce produit obsolète.

Mots-clés

Anti-ngf, Arthrose, Carnivores, Anticorps, Douleur

Jury

Président du jury : **Pr MION François**

Directeur de thèse : **Dr LOUZIER Vanessa**

1er assesseur : **Titre LOUZIER Vanessa**

2ème assesseur : **Titre JUNOT Stéphane**

UFR Médecine Lyon Sud - Charles Mérieux