

TABLE DES MATIÈRES

INDEX DES TABLEAUX	5
INDEX DES FIGURES.....	8
LISTE DES ABRÉVIATIONS	13
INTRODUCTION	17
CHAPITRE 1 : ÉVALUATION DES ANOMALIES DE LOCOMOTION PAR ACCÉLÉROMÉTRIE TRI-DIMENSIONNELLE.....	29
PREMIÈRE PARTIE.....	31
DEUXIÈME PARTIE	36
I. Évaluation de la locomotion chez des animaux adultes cliniquement stables	36
A) Matériel et Méthode.....	36
1) Matériel	36
2) Variables calculées	36
3) Déroulement du test	38
4) Méthode	39
B) Résultats	48
1) Répétabilité de la méthode de mesure.....	48
2) Reproductibilité inter-opérateur de la méthode de mesure	48
3) Évaluation de la pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD.....	53
II. Évaluation de la locomotion chez de jeunes animaux en cours d'évolution clinique.....	74
A) Matériel et méthodes.....	74
1) Matériel	74
2) Variables calculées	74
3) Déroulement du test	74
4) Méthode	74
B) Résultats	77
1) Déroulement des tests – évolution clinique des chiens	77

2) <u>Évolution des différentes variables de locomotion avec l'âge et l'évolution de la maladie.</u>	78
DISCUSSION	102
CHAPITRE 2 : ÉVALUATION DU MUSCLE DYSTROPHIQUE PAR IMAGERIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE : ÉTUDE LONGITUDINALE DES MUSCLES DE L'AVANT-BRAS ET DE LA JAMBE	114
PREMIÈRE PARTIE	116
DEUXIÈME PARTIE	121
I. Matériels et méthodes	121
A) Animaux et anesthésie	121
B) Imagerie par résonance magnétique nucléaire	121
C) Analyse d'images	124
D) Définition des indices	125
1) <u>Indices de caractérisation musculaire</u>	125
2) <u>Indices d'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH)</u> .	127
E) Analyse statistique	128
1) <u>Détermination des indices permettant de distinguer un chien sain d'un chien GRMD et influence du muscle, de l'âge et du côté du décubitus.</u>	128
2) <u>Influence de la latéralité sur les indices pertinents</u>	128
3) <u>Évaluation de l'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle</u>	128
4) <u>Détermination des muscles les plus affectés et des indices les plus discriminants</u>	128
5) <u>Évaluation des corrélations entre les indices à deux mois et à neuf mois et valeur prédictive des indices des animaux âgés de deux mois sur ceux des animaux de neuf mois</u>	129
II. Résultats	129
A) Évaluation qualitative	129
B) Évaluation quantitative	132
1) <u>Indices de RMN de caractérisation du muscle dystrophique par rapport au muscle sain</u>	132

2) <u>Influence de la latéralité et du côté du décubitus sur les indices de RMN</u>	133
3) <u>Évolution des indices de RMN avec l'âge</u>	134
4) <u>Variation des indices de RMN en fonction du muscle évalué</u>	139
5) <u>Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle</u>	146
6) <u>Détermination des indices de RMN les plus discriminants et des muscles les plus appropriés à évaluer lors d'un essai préclinique</u> .	149
7) <u>Corrélations entre indices chez le chien GRMD</u>	153
DISCUSSION	156
De nouveaux indices de RMN décrivent le muscle dystrophique chez le chien GRMD	158
Distribution topographique des altérations musculaires détectée par imagerie par RMN.....	158
L'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle.....	159
Absence de dégénérescence adipeuse dans les muscles distaux des chiens GRMD de moins de un an.....	160
Une évolution limitée des indices avec l'âge chez le chien GRMD.....	161
Les corrélations entre indices chez le chien GRMD.....	161
Apport de l'imagerie par RMN dans la caractérisation du muscle dystrophique.....	162
DISCUSSION GÉNÉRALE	164
CONCLUSION	169
BIBLIOGRAPHIE	171
ANNEXES	187
Annexe 1 : Grille de score clinique utilisée pour l'évaluation des chiens GRMD	189
Annexe 2 : Atlas de tracés dorso-ventraux- types chez les chiens sains et GRMD.	191

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Accélérométrie - Animaux inclus dans l'étude de répétabilité	40
Tableau 2 : Accélérométrie – Animaux inclus dans l'étude de reproductibilité inter-opérateurs.....	43
Tableau 3 : Accélérométrie – Animaux inclus dans l'étude d'évaluation de la pertinence des différentes variables pour la caractérisation locomotrice du chien GRMD	45
Tableau 4 : Accélérométrie – Chiens adultes atteints de myopathie centronucléaire.....	47
Tableau 5 : Accélérométrie – résultats de l'étude de reproductibilité inter-opérateurs.....	50
Tableau 6 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : résultats de l'analyse de variance (effet groupe sain vs GRMD)	54
Tableau 7 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : résultats de l'analyse de corrélation avec le score clinique moteur.....	65
Tableau 8 : Accélérométrie –suivi longitudinal – Animaux inclus dans l'étude, synthèse des tests réalisés et des allures utilisées.....	75
Tableau 9 : Accélérométrie – suivi longitudinal : résultats de l'analyse de variance.	79
Tableau 10 : Accélérométrie – suivi longitudinal – coefficients de corrélation au score clinique moteur obtenus pour les différentes variables.....	98
Tableau 11: Comparaison des données obtenues dans cette étude chez les chiens adultes aux données existant dans la bibliographie	103
Tableau 12 : Caractéristiques techniques des séquences pondérées T ₁ , densité de protons et T ₂ et aspects des principaux composants biologiques normaux.	116

Tableau 13 : Conséquences des lésions élémentaires rencontrées lors de myopathie dystrophique sur le signal musculaire en imagerie par RMN.	117
Tableau 14: Paramètres d'acquisition.	124
Tableau 15 A: Indices d'hétérogénéité:	132
Tableau 15 B: Indices de signal:	132
Tableau 15 C: Indices issus de la cinétique de rehaussement du signal après injection de Gd-DTPA :	132
Tableau 16: Importance de la latéralité et du côté du décubitus par rapport à la différence entre le signal des muscles sains vs celui des muscles dystrophiques.	134
Tableau 17: Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH) des indices les plus pertinents	146
Tableau 18: Puissance discriminante des principaux indices RMN déterminée par l'aire sous la courbe ROC:	149
Tableau 19: Valeurs seuil, sensibilité (Se) et spécificité (Sp) des cinq indices les plus prometteurs	150
Tableau 20 : Coefficients de corrélation de Spearman à deux mois et à neuf mois (cases grisées)	155

Rapport-Gratuit.com

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Accélérométrie – positionnement du dispositif sur l'animal et axes de mesure des accélérations (A, B), taille du boîtier en comparaison de l'extrémité distale du membre antérieur d'un chien adulte (C).....	39
Figure 2 : Accélérométrie – Reproductibilité inter-opérateur. Graphiques montrant les valeurs moyennes des variables sur les trois tests, obtenues pour chaque chien, opérateur par opérateur (voir page suivante) Abréviations utilisées : DVP/TP : puissance dorso-ventrale/puissance totale ; CCP/TP : puissance cranio-caudale/puissance totale ; MLP/TP : puissance médio-latérale/puissance totale.....	51
Figure 3 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de vitesse normalisée par la hauteur au garrot, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.....	55
Figure 4 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de fréquence de cycle locomoteur, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.....	56
Figure 5 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de longueur de foulée, normalisée par la hauteur au garrot, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.	57
Figure 6 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de régularité obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.....	58
Figure 7 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de	

puissance totale obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.....	59
Figure 8 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance dorso-ventrale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.....	60
Figure 9 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance cranio-caudale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.....	61
Figure 10 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance médio-latérale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.....	62
Figure 11 : Accélérométrie - pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : illustration de la perte globale de puissance, et de sa redistribution vers l'axe medio-latéral chez le chien GRMD.....	63
Figure 12 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de force relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.	64
Figure 13 : Accélérométrie – scores cliniques moteurs des chiens GRMD adultes (A) – corrélation avec la vitesse (B), la puissance totale (C) et la longueur des foulées (D) : illustration par droites de régression. ...	66
Figure 14 : Accélérométrie – analyse en composantes principales : projection des individus (A) et des variables (B) sur le plan d'ACP.	68
Figure 15 : Accélérométrie – analyse en composantes principales : valeurs de distance euclidienne au centre de gravité de la population normale, des individus GRMD, en comparaison des chiens sains.....	69

Figure 16 : Accélérométrie – spécificité des caractéristiques de marche mises en évidence chez le chien GRMD – comparaison avec un groupe de chiens CNM, des valeurs obtenues pour la fréquence des cycles, la longueur des foulées rapportée à la hauteur au garrot, la régularité, la puissance totale, et les puissances relatives dans les trois axes.	71
Figure 17 : Accélérométrie – spécificité des caractéristiques de marche mises en évidence chez le chien GRMD – projection des chiens CNM comme individus supplémentaires sur le plan d'ACP défini par les chiens GRMD et sains adultes.....	72
Figure 18 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des scores cliniques moteurs chez les chiens GRMD.....	78
Figure 19 : Accélérométrie – suivi longitudinal – corrélations entre la hauteur au garrot et la vitesse (A), et la hauteur au garrot et la longueur des foulées (B) chez les chiens sains. Illustration par droites de régression.	86
Figure 20 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la vitesse, normalisée par la hauteur au garrot chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains	87
Figure 21 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la fréquence des cycles locomoteurs chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.....	88
Figure 22 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.....	89
Figure 23 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la régularité chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains	90
Figure 24 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance totale chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains	91
Figure 25 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance médio-latérale relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.....	92

Figure 26 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance dorso-ventrale relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.....	93
Figure 27 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la force relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains	94
Figure 28 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des chiens GRMD sur le plan d'ACP calculé pour les adultes.....	96
Figure 29 : Accélérométrie – suivi longitudinal - évolution de la distance euclidienne au centre de gravité de la population normale, chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.....	97
Figure 30 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des coefficients de variation des différentes variables avec l'âge chez les chiens GRMD .	99
Figure 31 : Exemple de positionnement d'un chien pour un examen.....	123
Figure 32 : Évolution de l'aspect des muscles du bras et de la jambe chez un chien sain et un chien GRMD.....	131
Figure 33 A : Moyennes et écarts-types des indices d'hétérogénéité en fonction de l'âge des chiens.....	136
Figure 33 B : Moyennes et écarts-types des indices d'intensité de signal en fonction de l'âge des chiens	137
Figure 33 C : Moyennes et écarts-types des indices issus de la cinétique de rehaussement du signal après injection de Gd-DTPA en fonction de l'âge des chiens	138
Figure 34 A : Représentation de la répartition des valeurs d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_1 , sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens.....	141
Figure 34 B : Représentation de la répartition des valeurs d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 , sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens.....	142
Figure 34 C : Représentation de la répartition des valeurs des rapports de signal $T2w/T1w$ sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens.....	143

Figure 34 D : Représentation de la répartition des valeurs des rapports de signal PDw/T ₂ w sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens.....	144
Figure 34 E : Représentation de la répartition des valeurs de T ₁ et de rehaussement maximal relatif, en fonction du muscle et de l'âge des chiens	145
Figure 35 : Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle de six indices : évolution au cours du temps chez le chien sain et le chien GRMD	148
Figure 36: Courbes ROC pour les indices les plus prometteurs.....	151

LISTE DES ABRÉVIATIONS

α : Constante temporelle de décroissance du signal après injection de gadolinium-DTPA

AAV : Adeno-Associated Virus (virus adéno-associé)

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADNc : Acide Désoxyribo-Nucléique complémentaire

ANOVA : ANalysis Of VAriance (analyse de variance)

ARNm : Acide Ribo-Nucléique messenger

A_{ROI} : Aire d'une ROI

ASAT : ASpartate Amino- Transférase

B : Bond (type d'allure)

BW : Band Width (bande passante)

CAR : Coefficient d'Amplification du Signal Reçu

CK : Créatine Kinase

CNM : CentroNuclear Myopathy (myopathie centronucléaire)

CV : Coefficient de Variation

CXMD : Canine X-linked Muscular Dystrophy (dystrophie musculaire canine liée à l'X)

CXMDJ : Canine X-linked Muscular Dystrophy in Japan (dystrophie musculaire canine liée à l'X au Japon)

DMD : Dystrophie Musculaire de Duchenne

DTPA : Acide Diéthylène Triamine Penta-acétique

ET : Écart-Type

ECR : Extenseur Radial du Carpe (chef court)

ECRI : Extenseur Radial du Carpe (chef long)

EDL : Extenseur Long des Doigts

FA : Flip Angle (angle de bascule)

FC : Fréquence des Cycles

FCU : Fléchisseur Ulnaire du Carpe

FDS : Fléchisseur Superficiel des Doigts

FS : Fat Saturated (saturation en graisse)

FT : Facteur Turbo

GC : Galop Circulaire (type d'allure)

Gd : Gadolinium

GL : Chef Latéral du Gastrocnémien

GM : Chef Médial du Gastrocnémien

GRMD : Golden Retriever Muscular Dystrophy (dystrophie musculaire du golden retriever)

H : Hétérogénéité du signal

H1 : Hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_1

H2 : Hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2

HFMD : Hypertrophic Feline Muscular Dystrophy (dystrophie musculaire hypertrophique féline)

HG : Hauteur au Garrot

IIH : Hétérogénéité Intermusculaire Intra-individuelle

I_m : Moyenne pondérée par l'aire de la ROI des indices de toutes les ROIs d'un même muscle à un temps donné

IR : Inversion Récupération

I_{ROI} : Indice pour une ROI

K : Constante d'efficacité de l'inversion

kDa : kilo Dalton

LF : Longueur des Foulées

LRMD : Labrador Retriever Muscular Dystrophy (dystrophie musculaire du Labrador retriever)

Max RE : Rehaussement Maximal Relatif

mdx : Muscular dystrophy X-linked (dystrophie musculaire liée à l'X)

Moy : Moyenne

NA : Nombre d'Acquisitions

NFAT : Nuclear Factor of Activated T-cells (facteur nucléaire des cellules T activées)

nNOS : Neuronal Nitric Oxide Synthase (synthase d'oxyde nitrique neuronale)

NO : Nitric Oxide (oxyde nitrique)

NR : Nombre de Répétitions

P : Pas (type d'allure)

PACS : Picture Archiving and Communication System (Système d'archivage et de transmission d'images)

PCC : Puissance Cranio-Caudale

PD : Proton Density (densité de proton)

PDV : Puissance Dorso-Ventrale

PDw : Intensité du signal sur les images pondérées densité de proton

PML : Puissance Médio-Latérale

PT : Puissance Totale

Rég : Régularité

Rfs1 : Contribution relative de la graisse au signal des images pondérées T₁

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROC : Receiver Operating Characteristic

ROI : Region Of Interest (région d'intérêt)

RT-PCR : Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (réaction en chaîne par polymérisation, après transcription réverse)

S : Signal

S₀ : Signal maximal après inversion

SR : Signal Ratio (rapport de signaux)

T : Trot (type d'allure)

T₁ : Temps de relaxation longitudinal

T_{1w} : Intensité du signal sur les images pondérées T₁

T₁₀₀₋₇₅ : Temps nécessaire à la décroissance de 25 % du signal après le rehaussement maximal.

T₂ : Temps de relaxation transversal

T_{2w} : Intensité du signal sur les images pondérées T₂

TC : Tibial Crânial

TE : Temps d'écho

TI : Temps d'inversion

T_{max} : Temps compris entre le moment de l'injection de Gd-DTPA et le moment du rehaussement maximal

TR : Temps de répétition

USB : Universal Serial Bus (bus universel en série)

XLDCM : X-Linked Dilated CardioMyopathy (cardiomyopathie dilatée liée à l'X)

INTRODUCTION

Un garçon sur trois mille cinq cents naît atteint de la dystrophie musculaire de Duchenne. Connue depuis l'antiquité, et décrite sur le plan clinique et histologique par Edward Meryon en 1852, puis par Duchenne de Boulogne en 1861, le gène et la protéine en cause n'ont été découverts qu'en 1986 et 1987 respectivement (74,116). Il s'agit de la maladie génétique la plus fréquente après la mucoviscidose (55).

Les jeunes garçons atteints de cette myopathie montrent tout d'abord un retard à l'apprentissage de la marche (51,55), associé ou non à un retard de développement mental. Dans la petite enfance, ces patients chutent fréquemment, présentent des difficultés pour courir, monter des marches ou se relever (32,51,55,189). Ces anomalies du développement moteur constituent, dans la plupart des cas, le motif de consultation des parents, sauf dans les formes les plus prononcées, dans lesquelles le retard de développement mental peut conduire à un diagnostic précoce (51). Dans les formes moins prononcées, le diagnostic intervient généralement vers l'âge de cinq ans (32). Ce diagnostic est basé sur des signes cliniques évocateurs. Une stratégie de relever particulière, liée à la faiblesse musculaire des membres inférieurs, consistant à prendre appui avec les mains sur le sol, puis sur les cuisses, et nommée signe de Gowers, doit faire suspecter une DMD chez un jeune garçon qui présente par ailleurs une démarche « chaloupée ». Secondairement, une démarche sur les orteils peut également être observée (32,55). Une élévation des créatine kinases (CK) sériques ou des aspartate amino transférase (ASAT) renforce classiquement la suspicion de DMD, avant la confirmation du diagnostic, par biopsie musculaire ou test génétique (32).

Durant les dix premières années, des contractures se développent, ainsi qu'une lordose lombaire lorsque le patient se tient debout. Parmi ces contractures, les plus classiques sont celles touchant le tendon d'Achille, mais aussi la flexion du genou, et la flexion et l'abduction des hanches (33). La gestion de ces contractures, par kinésithérapie et/ou interventions chirurgicales, a permis de retarder l'âge de perte de la marche de un à trois ans (33). Cette maladie contraint en effet le patient à l'usage permanent du fauteuil roulant, entre 9,3 (54) et 12 ans (189).

Le passage au fauteuil roulant accélère la progression de scolioses (189), présentes chez 90 % des patients (33). Ces scolioses constituent elles-mêmes un facteur aggravant la dysfonction respiratoire. La dystrophie musculaire de Duchenne touchant en effet l'ensemble de la musculature striée, les muscles impliqués dans la fonction respiratoire sont également touchés. Cette dysfonction se manifeste tout d'abord par des hypoventilations à hypercapnies nocturnes, et une toux inefficace. La capacité vitale forcée,

indice spirométrique permettant le suivi de la fonction respiratoire des patients, diminue progressivement de huit à douze pour cent par an à partir de l'âge de dix ans (129,189). Le suivi régulier des patients sur le plan respiratoire conduit à la mise en place de dispositifs de soutien de celle-ci. Ainsi, ventilation nocturne non invasive, assistance à la toux, ou techniques de recrutement de volume pulmonaire sont progressivement instaurées. À un stade très avancé, une trachéostomie peut s'avérer nécessaire, afin de pallier l'inefficacité de la toux, et de permettre de désencombrer plus aisément les voies respiratoires.

Les complications infectieuses respiratoires sont également fréquentes, en raison de cette faiblesse de toux, et des zones d'atélectasie qui se forment. Des fausses déglutitions, chez des patients qui présentent des difficultés à s'alimenter, peuvent également être à l'origine d'infections pulmonaires. Ces dysphagies, liées à des difficultés de mastication et de déglutition, peuvent nécessiter la mise en place d'une gastrostomie, et l'alimentation par ce biais (103).

La prise en charge médicale de plus en plus perfectionnée des patients atteints de DMD, notamment sur le plan respiratoire, a conduit à un allongement de l'espérance de vie moyenne de ces patients de 14,4 ans en 1960 à 25,3 ans ces dernières années (54). L'ensemble de ces progrès a abouti à modifier les causes de mortalité : la cardiomyopathie induite par la DMD est devenue une cause majeure du décès des patients (33), concernant 10 à 50 % d'entre eux (169). Il s'agit d'une cardiomyopathie dilatée, souvent accompagnée d'arythmies, présente chez tous les patients âgés de plus de 18 ans (169).

Cette myopathie invalidante, et responsable d'un décès précoce, est causée par des mutations dans le plus grand gène connu, celui de la dystrophine. Son locus se situe sur le chromosome X, en Xp21. La transmission est donc liée au sexe, et il s'agit d'une maladie récessive. C'est pourquoi la très grande majorité des patients sont des garçons. La très grande taille de ce gène est à l'origine de la fréquence élevée de mutations, et donc de l'incidence de cette maladie. Le gène de la dystrophine, qui comporte 79 exons, code pour la protéine du même nom, issue de la traduction d'un volumineux ARNm de 14 kb. La dystrophine, avec ses 3 685 acides aminés, et son poids moléculaire de 427 kDa (86), est une protéine cytoplasmique, qui se localise à la membrane des fibres musculaires (28,190).

Le déficit en dystrophine, s'il induit un tableau clinique essentiellement musculaire, est également responsable de retards mentaux et de troubles de l'électrorétinogramme, chez certains patients (51). Le gène de la dystrophine est en effet transcrit de manière spécifique dans différents tissus, dont le tissu nerveux et la rétine, dans lesquels sont exprimées des isoformes de différentes tailles (39). Suivant la localisation de la mutation en cause sur le gène, les patients myopathes exprimeront, ou non, ces isoformes dans les tissus non-musculaires. Ceci explique en partie l'hétérogénéité clinique existant, entre formes motrices pures et formes prononcées, avec atteinte du

développement mental (51). Cependant, chez tous les patients atteints de DMD, la dystrophine n'est pas exprimée dans les fibres musculaires, exception faite de rares fibres qui parviennent à exprimer une protéine de plus petite taille, dite révertante.

Le rôle précis de la dystrophine n'est pas connu de manière exacte. Très tôt, un rôle structural (86), de stabilisation de la membrane durant la contraction lui a été attribué (126). En effet, cette protéine relie le cytosquelette à un complexe protéique transmembranaire, lui-même relié à la laminine extra-cellulaire. Cette position de maillon, ainsi que les lésions histologiques dites dystrophiques, qui sont à l'origine de son nom, et qui évoquent une fragilité membranaire, ont justifié cette hypothèse. Ce rôle mécanique n'est cependant pas le seul mécanisme pathogénique impliqué.

Ainsi, une surcharge cytoplasmique en calcium est observée dans les fibres musculaires déficientes en dystrophine (26), et une mauvaise régulation du calcium intracellulaire dans ces mêmes fibres est connue de longue date (186). L'élévation du calcium intracellulaire, suite à une contraction, conduirait à activer les protéases et à induire la destruction de la fibre musculaire. Cette élévation serait liée à une perméabilité anormale des canaux calcium, qu'ils soient membranaires, tels que les canaux sensibles à l'étirement, ou du réticulum sarcoplasmique (1,20).

Une autre hypothèse concerne le rôle pathogénique de l'absence de nNOS (neuronal Nitric Oxide Synthase) correctement localisée. Cette protéine co-localise avec la dystrophine dans un contexte physiologique. La localisation correcte de la nNOS serait dépendante de la dystrophine. En son absence, la nNOS n'est plus exprimée sous la membrane, et la transcription de son gène est régulée négativement (94). Lors d'un exercice musculaire, la nNOS libère du NO dans le milieu extracellulaire, induisant une vasodilatation. En l'absence de cette protéine correctement localisée, la vasoconstriction est maintenue durant la contraction, conduisant à une ischémie, contribuant à la pathogénie de la DMD (143).

Enfin, un rôle actif du système immunitaire dans la pathogénie de la DMD a été mis en évidence, et une composante auto-immune évoquée (68,132,154).

L'ensemble de ces mécanismes pathogéniques conduit à un tableau histologique montrant initialement des lésions de fibres hypercontractées et nécrotiques, et des fibres en régénération. Puis, les capacités de régénération diminuant, une métaplasie adipeuse et une fibrose s'installent (55).

Malgré une meilleure connaissance des mécanismes pathogéniques impliqués, il n'existe à ce jour aucune solution thérapeutique pour la DMD. Seuls les stéroïdes ont montré leur efficacité, et permettent de ralentir l'évolution de la maladie (185). Néanmoins, les axes thérapeutiques

envisagés sont nombreux, et peuvent être subdivisés en deux grandes catégories.

Le premier grand axe thérapeutique consiste à rétablir une expression de dystrophine dans les fibres musculaires des patients.

Dans cet objectif, des greffes de cellules souches à potentiel myogénique, issues de donneurs sains, ont été envisagées (50,112,142), mais nécessitent une immunosuppression. L'administration d'un plasmide codant pour la dystrophine complète, administré par voie intraveineuse sous pression ou électrotransfert a également été réalisée (130,139). Aucune réponse immune contre la dystrophine n'a été observée, mais les résultats n'ont pas été concluants et une administration par voie systémique serait difficilement envisageable. Un obstacle à l'élaboration de stratégies thérapeutiques est la taille de l'ADNc de la dystrophine. Ses 14 kb sont incompatibles avec son inclusion dans le génome d'un vecteur viral, et donc la correction de cellules de patients *ex vivo*, ou l'élaboration de vecteurs portant l'ADNc complet.

En réponse à cette problématique, deux types de solutions ont été trouvées. La première est basée sur la constatation selon laquelle certaines parties de la protéine peuvent être supprimées sans nuire à sa fonction, tandis que certaines zones sont, au contraire, indispensables (37). Ainsi, des constructions ont été créées, retenant ces portions nécessaires au maintien d'une fonctionnalité, mais permettant de réduire la taille de l'ADNc, et de l'inclure dans un vecteur. L'ADNc des mini- et micro-dystrophines a ainsi été employé intégré dans un plasmide (131), dans des vecteurs AAV (adeno-associated virus) (89), ou lentiviraux, afin de corriger des cellules de patients *ex vivo* (131,142).

La deuxième solution, permettant de s'affranchir de la problématique liée à la taille de l'ADNc de la dystrophine est, elle, basée sur la constatation que les patients sont capables, dans quelques rares fibres musculaires, d'exprimer une dystrophine, par un mécanisme dit de saut d'exon, et permettant de rétablir le cadre de lecture. L'objectif est d'induire et de diriger ce phénomène, rare à l'état physiologique, afin qu'il prenne une ampleur suffisante pour apporter un bénéfice. À l'aide de séquences antisens très spécifiques, il est possible de masquer sélectivement des sites d'épissage, afin de conduire le spliceosome à épisser le ou les exons nécessaires à un retour en phase (69). L'ARNm ainsi produit peut donc être traduit en une protéine, nommée quasi-dystrophine, plus petite mais fonctionnelle, si la mutation le permet. Seuls huit pour cents des patients ne pourraient pas bénéficier de cette stratégie (8). Ces séquences antisens peuvent être utilisées sous forme d'oligonucléotides pharmacologiquement modifiés, pour permettre leur entrée dans les cellules (83,170). Leur petite taille rend également possible leur inclusion dans le génome d'un AAV (69) ou d'un lentivirus, afin de corriger des cellules *ex vivo* (21).

Lointaines cousines des stratégies de saut d'exon thérapeutiques, certaines thérapies pharmacologiques ont également été testées. Certains antibiotiques, de la famille des aminoglycosides, tels que la gentamicine, ont la propriété de favoriser la translecture des codons stops. Lorsque la mutation conduit à un codon stop, qui induit à un arrêt prématuré de la traduction, ces antibiotiques, mais également des molécules optimisées sur le plan pharmacologiques, peuvent permettre d'outrepasser ce codon stop et de produire de la dystrophine (71,99).

Ces stratégies visant à rétablir l'expression de dystrophine posent cependant le problème de la réponse immunitaire anti-dystrophine. La présence de fibres révertantes chez la majorité des patients a conduit à considérer que cette protéine raccourcie était connue de l'organisme. Il s'agit d'ailleurs de l'un des arguments en faveur de la stratégie du saut d'exon thérapeutique. Néanmoins, une récente étude remet en question ces éléments, puisque la démonstration d'une réponse immune contre les fibres révertantes a été faite, rendant les patients plus réactifs face à une expression iatrogène de dystrophine (110).

Le deuxième grand groupe de stratégies thérapeutiques n'est pas touché par cette problématique puisqu'il n'a pas pour objectif de faire exprimer la protéine manquante.

Dans cette seconde catégorie figurent essentiellement des thérapies de type pharmacologique, intervenant sur les mécanismes pathogéniques impliqués, ou offrant des solutions alternatives à l'expression d'une dystrophine fonctionnelle. Dans ce grand groupe peuvent être citées les stratégies de surexpression de l'utrophine, analogue de la dystrophine, qui, au cours du développement, est exprimée sous la membrane des fibres musculaires, mais est, plus tard, restreinte aux plaques motrices. Sa surexpression par des stratégies pharmacologiques (activation de la voie calcineurine-NFAT, ou donneurs de NO) (114), ou géniques (35), doit permettre d'assurer une partie de la fonctionnalité de la dystrophine.

L'atrophie musculaire et la diminution progressive du pool de cellules satellites chez les patients atteints de DMD ont conduit à envisager l'inhibition de l'action de la myostatine en tant qu'axe thérapeutique. La myostatine est une hormone régulant négativement la croissance musculaire. Les animaux déficients en myostatine montrent une hypertrophie musculaire marquée (118). Le blocage de cette hormone, par un anticorps spécifique (27), ou un récepteur soluble (117), a pour objectif d'augmenter la masse musculaire, et/ou les capacités de régénération (36).

La fibrose a également été envisagée comme cible thérapeutique. Des antifibrotiques, tels que l'halofuginone, ont été proposés (164).

Un apport de Glutamine, un acide aminé non essentiel essentiellement produit et stocké par le tissu musculaire, et dont la synthèse est réduite chez le patient atteint de DMD, a par ailleurs été proposé (115).

Une autre voie pharmacologique vise à traiter les surcharges calciques, responsables de la cascade protéolytique intervenant dans la pathogénie de la DMD. Ont été envisagés des antagonistes calciques (128), et, plus récemment, des molécules stabilisatrices du récepteur à la ryanodine RyR1, permettant de réduire les fuites calciques par ce canal (20).

Malgré les nombreuses voies thérapeutiques identifiées, peu ont cependant déjà atteint le stade de l'essai clinique (71,83,99,112,115,162,170).

Dans le cadre de l'identification d'axes thérapeutiques et de leur évaluation en amont des essais cliniques, différents modèles animaux de DMD existent et sont, pour certains, largement utilisés (12,183). Trois espèces de mammifères ont spontanément développé cette maladie, et leur mutation a été conservée pour l'établissement de colonies.

La première de ces espèces, et la plus largement utilisée, est l'espèce murine. En particulier, le modèle spontané *mdx* (X-linked muscular dystrophy), décrit sur le plan phénotypique avant même la découverte du gène de la dystrophine, a pu être identifié comme un modèle probable de DMD, en raison des lésions musculaires dystrophiques, de l'élévation des CK, et du mode de transmission, lié à l'X (31). Une mutation ponctuelle dans l'exon 23 du gène de la dystrophine a permis de confirmer que le modèle *mdx* était un modèle génétique de DMD (151). Par ailleurs, d'un point de vue histologique, les muscles de la souris *mdx* montrent un phénotype dystrophique avec nécrose et régénération. Une importante vague de nécrose est observée à l'âge de trois semaines, puis s'ensuivent des cycles de nécrose-régénération, si bien qu'à l'âge de huit semaines, la grande majorité des fibres sont déjà centronucléées (témoin de régénération). Leur proportion atteint 80 à 90% des fibres à 26 semaines (124,163).

Une dysfonction musculaire peut être mise en évidence par mesure de force, notamment après contractions excentriques (136,140). Une dysfonction respiratoire et une cardiomyopathie dilatée ont également pu être quantifiées (76,135). Cependant, ce modèle diffère en plusieurs points de la DMD. D'une part, les souris mutées montrent très peu de signes cliniques. Ceux-ci se limitent en effet à un décès un peu plus précoce que les souris sauvages (91 semaines vs 108 semaines) et à des difficultés à se déplacer pour s'alimenter mais qui ne surviennent que relativement tardivement (78 semaines) (125). Par ailleurs, la fibrose et l'infiltration adipocytaire majeures observées dans le muscle dystrophique humain sont très peu visibles, voire absentes, chez la souris (31,47), à l'exception du diaphragme (155).

La souris *mdx* présente donc les avantages d'être de petite taille, facile d'entretien, de manipulation et d'obtention et d'être un modèle génétique

vrai de DMD avec des lésions musculaires présentes et des altérations fonctionnelles mesurables. Ces avantages en font un modèle largement utilisé dans une première étape de validation *in vivo* des biothérapies. Ses limites sont sa petite taille, bien éloignée de celle de l'enfant DMD, les difficultés d'une évaluation clinique chez cet animal étant donné le peu de symptômes présents, et son tableau lésionnel musculaire qui diffère de celui du patient DMD.

Des modèles combinant la mutation *mdx* avec d'autres mutations ont été créés, afin d'obtenir des souris présentant une atteinte histologique et clinique plus proche de celle des patients atteints de DMD. Néanmoins, le contexte génétique et moléculaire s'en trouve alors modifié (183).

Le chat déficient en dystrophine a cela en commun avec la souris *mdx* qu'il présente une atteinte clinique modérée. Le modèle félin de DMD est un modèle spontané également, nommé HFMD (hypertrophic feline muscular dystrophy), en raison des hypertrophies musculaires que les chats atteints arborent. La macroglossie peut être telle que l'animal ne peut plus déglutir. Le chat dystrophique présente une discrète raideur dans la démarche, parfois des difficultés à sauter, ou une fatigue à l'effort, mais reste actif physiquement (34,63) et peut dépasser l'âge de 10 ans. Son atteinte cardiaque est en revanche précoce et très marquée (40). Contrairement au patient, il s'agit d'une cardiomyopathie hypertrophique. La concentration sérique en CK est très augmentée, et majorée par un stress ou un exercice physique. Certains chats, peuvent par ailleurs, suite à un stress, développer une rhabdomyolyse aiguë, qui peut conduire à un décès brutal de ces animaux (62).

L'examen histopathologique du tissu musculaire chez ces animaux met en évidence un phénotype dystrophique avec nécroses et régénérations, mais, comme chez la souris *mdx*, peu de fibrose, à l'exception du diaphragme (61). Des foyers de calcification sont fréquemment observés, sans que leur origine soit réellement déterminée. La taille des fibres musculaires est significativement augmentée chez ce chat, qui présente donc une hypertrophie musculaire vraie (63).

La mutation des chats HFMD touche, comme chez les patients atteints de DMD, le gène de la dystrophine. Cependant, il s'agit d'une délétion incluant le promoteur musculaire du gène. L'isoforme musculaire ne peut donc plus être produite. Néanmoins, les promoteurs d'autres isoformes de 427 kDa sont épargnés par cette délétion. Le chat HFMD exprime donc une faible quantité d'isoforme neuronale, sous la membrane de ses fibres musculaires (184). Ceci peut constituer une voie d'explication à la faible atteinte clinique motrice de ces animaux. En revanche, les cardiomyocytes ne sont pas capables de stimuler le promoteur de l'isoforme neuronale. Dans le tissu cardiaque, la dystrophine est donc totalement absente. Le modèle HFMD peut donc, par ces aspects moléculaires, être considéré comme un modèle de cardiomyopathie dilatée liée à l'X (XLDCM), dystrophinopathie épargnant les patients sur le plan moteur mais entraînant un phénotype de

cardiomyopathie, selon les mêmes mécanismes moléculaires (120). Toutefois, le fait que la cardiomyopathie observée dans ce modèle ne soit pas de même nature en fait un modèle imparfait, de même que sa sensibilité au stress, et les difficultés inhérentes à sa manipulation qui en découlent.

La troisième espèce de mammifère dans laquelle un modèle de DMD a été identifié est l'espèce canine. Des cas spontanés de dystrophies musculaires canines liées à l'X (CXMD) ont été décrits dans de nombreuses races. Le premier cas a été identifié dans un pedigree de terriers irlandais, bien avant la découverte du gène de la dystrophine, en raison d'un phénotype clinique et histologique et d'un mode de transmission évoquant la DMD (181). Depuis, de nombreux cas ont été ainsi suspectés, sans confirmation du déficit en dystrophine, dans des races aussi diverses que le samoyède (134), le groenendael (171), ou l'épagneul breton (172). Certains cas ont été davantage documentés, et l'absence de dystrophine démontrée par immunomarquage et/ou western blot, chez le Schnauzer nain (122), le Spitz (80), le rat terrier (182), le braque de Weimar (11), le grand basset griffon vendéen (84), le labrador retriever (22). Enfin, la mutation en cause a été identifiée totalement ou partiellement, chez le pointer allemand (146), le labrador retriever (17), le cavalier King Charles (25,175), le corgi (153), et le golden retriever (149).

Ce dernier a été décrit sur le plan clinique, histologique et moléculaire il y a une vingtaine d'années (44,90,149,167), et une colonie a été créée et est désormais utilisée dans plusieurs centres dans le monde. Ce modèle a été baptisé GRMD pour Golden Retriever Muscular Dystrophy. Dans une unité de recherche japonaise, la mutation a été transférée, par croisements dirigés, sur le fond génétique du beagle, et les animaux de cette colonie, des beagles portants la mutation GRMD, ont été nommés CXMDJ (pour CXMD japonais) (150).

Le chien GRMD est le mieux décrit sur le plan clinique, mais il partage les principales manifestations de la maladie avec les autres animaux décrits. L'évolution clinique du chien GRMD est proche de celle de l'enfant DMD. Jusqu'à l'âge de six semaines, seuls un retard de croissance et une élévation des CK peuvent permettre de distinguer cliniquement un chiot dystrophique d'un chiot normal. Cependant, certains animaux présentent une forme dite néonatale fulminante, fatale dans les dix premiers jours de vie (168). Cette manifestation clinique, propre au modèle GRMD, est liée à une nécrose aiguë des muscles les plus sollicités par l'animal et en particulier la langue (tétée), le diaphragme (respiration), et les muscles des membres impliqués dans la reptation (121,166).

Chez les animaux échappant à cette forme néonatale, les premiers signes cliniques apparaissent entre six et neuf semaines et sont limités à une raideur débutante de la démarche, avec une course dite en « saut de lapin », les deux postérieurs avançant simultanément. Entre neuf et douze semaines, les premiers signes de rétractions musculo-tendineuses peuvent apparaître, et le

chien GRMD peut devenir palmigrade et plantigrade. Peu à peu, des ankyloses articulaires parfois prononcées se mettent en place. Une stabilisation clinique survient entre six mois et un an. Contrairement à l'enfant atteint de DMD, le chien GRMD ne perd en général pas l'usage de la marche, sans doute en liaison avec la quadrupédie (168).

Outre l'atteinte locomotrice, ce modèle développe également une dysphagie, se manifestant par des troubles de la déglutition, liés à une macroglossie parfois majeure, et à une dysfonction pharyngée (168). Les régurgitations sont fréquentes, et sont à relier au développement de mégaoesophages. Des hernies hiatales peuvent également être identifiées (90). Sur le plan respiratoire, le chien GRMD présente également des signes de dyspnée, tels que respiration discordante, ou polypnée après un exercice modéré (168).

Enfin, les animaux les plus âgés développent une cardiomyopathie dilatée, qui peut conduire à une insuffisance cardiaque, elle-même responsable du décès, chez les animaux survivant jusqu'à cinq ou six ans (168). Les autres animaux décèdent prématurément des conséquences de leur dysphagie ou de complications telles que des bronchopneumonies par fausse déglutition. La survie de ces animaux est donc fortement altérée : 25 % d'entre eux décèdent avant l'âge de neuf mois, 50 % avant 18 mois, et trois chiens sur quatre sont décédés avant l'âge de trois ans et trois mois (24).

Sur le plan électromyographique, les chiens GRMD, comme les patients atteints de DMD, présentent une activité spontanée sous forme de décharges pseudomyotoniques (90)

Le déficit en dystrophine, responsable du tableau clinique du chien GRMD, est lié à une mutation ponctuelle dans le gène de la dystrophine, substituant une adénine par une guanine, dans le site accepteur d'épissage de l'intron six (149), créant ainsi un site de restriction Sau96I exploité dans le test génétique de référence (19). Cette mutation induit le saut de l'exon sept, conduisant à un décalage du cadre de lecture. Une faible quantité d'ARNm délété de son exon sept est présente, mais la traduction de celui-ci en protéine est impossible en raison du décalage du cadre de lecture (149). Si le marquage immunohistochimique montre que la dystrophine est absente de la majorité des fibres musculaires, des fibres révertantes peuvent être identifiées dans ce modèle, comme chez les patients. La proportion de ces dernières a été évaluée dans le muscle sartorius, dans lequel elle est de 0 à 0.002 % (50) et peut atteindre 0,3% (88). Par RT-PCR, il a pu être établi que la dystrophine révertante chez le GRMD est issue de deux types de transcrits, l'un ayant bénéficié d'un saut des exons trois à neuf l'autre des exons cinq à douze, ce qui permet, dans les deux cas, de rétablir le cadre de lecture et la synthèse d'une protéine d'environ 390 kDa (145). Si cette protéine tronquée comporte les domaines indispensables à la fonctionnalité de la dystrophine, elle ne constitue pas un obstacle à la mise en œuvre et à l'évaluation

d'essais de biothérapies chez le modèle GRMD, de par la faible prévalence des fibres l'exprimant.

Les caractéristiques histopathologiques musculaires du chien GRMD sont très similaires à celles du patient atteint de DMD. Après d'intenses cycles de nécrose et régénération chez le jeune, une fibrose importante s'installe peu à peu dans tous les groupes musculaires (167). Des fibres hypercontractées sont fréquemment observées chez le jeune (jusqu'à 19% à quinze jours) et régulièrement chez l'adulte (4 %). Les centralisations nucléaires sont bien moins courantes que chez le modèle murin *mdx*, n'atteignant que 12 % chez le chien de 6 mois, et ne dépassant qu'exceptionnellement 1 % dans le quadriceps fémoral du chien adulte (46).

Cette description du chien GRMD démontre qu'il s'agit du modèle le plus proche, sur le plan phénotypique, du patient atteint de DMD. Ces importantes similitudes sur le plan clinique et histologique, ainsi que sa taille, proche de celle d'un enfant, en font un modèle de choix pour l'évaluation pré-clinique de stratégies thérapeutiques préalablement validées chez la souris *mdx*. Les questions de voies d'administration et de bénéfice fonctionnel peuvent être posées dans ce modèle, avec davantage de pertinence que dans le modèle murin. Quelques-uns des axes thérapeutiques évoqués plus haut ont d'ailleurs déjà fait l'objet d'essais pré-cliniques dans ce modèle (35,50,82,89,142).

S'il constitue le modèle le plus fidèle de DMD, il présente néanmoins quelques défauts qui lui valent des critiques, et une remise en question de son intérêt dans le cadre d'essais pré-cliniques. Outre le fait qu'il s'agit d'un modèle coûteux, difficile d'obtention et de maintien, le principal reproche fait aux chiens GRMD est leur grande variabilité inter-individuelle (12,183). En effet, si le tableau clinique précédemment décrit est présent chez tous les chiens GRMD, l'intensité de ces signes cliniques est éminemment variable d'un animal à l'autre (168) : certains animaux évoluent très rapidement et nécessitent d'être euthanasiés avant l'âge de six mois, tandis que d'autres montrent une locomotion remarquablement préservée et une dysphagie peu marquée à l'âge de six ans, tous les intermédiaires existant (3,4) . Cette variabilité inter-individuelle peut constituer un obstacle majeur à l'évaluation d'un éventuel bénéfice thérapeutique, et contraindre à devoir utiliser un nombre très important d'animaux pour démontrer un effet (12,183).

Ces critiques, faites à l'encontre de ce modèle, sont également liées au fait que peu de méthodes d'évaluation objectives et quantitatives de ce modèle existent. Or, une connaissance quantifiée de l'hétérogénéité phénotypique pourrait permettre de contrôler celle-ci, et de déterminer de manière fiable le nombre d'individus à évaluer pour espérer démontrer un bénéfice donné, sur une fonction donnée.

Quelques indices ont toutefois déjà été démontrés comme pertinents pour l'évaluation des chiens GRMD, et trois grands types d'outils développés.

Un outil d'évaluation de la fonction musculaire a été développé, permettant la mesure de la force musculaire des chiens GRMD *in vivo* (87). Les fléchisseurs et extenseurs du tarse ont été évalués à différents âges. La faiblesse de ces deux muscles a été mise en évidence pour les deux groupes musculaires. Cependant, la diminution de la force avec l'âge s'est avérée plus clairement marquée pour les extenseurs, traduisant l'atteinte plus prononcée de ce groupe musculaire. Cet outil permet de quantifier un déficit fonctionnel chez le chien GRMD, et il a été utilisé dans le cadre d'essais pré-cliniques, contribuant à démontrer un bénéfice thérapeutique suite à un traitement par thérapie cellulaire (142) ou génique (174). Cet outil peut par ailleurs être utilisé qu'il s'agisse d'administrations locales, ou systémiques.

La cardiomyopathie du chien GRMD a par ailleurs fait l'objet d'une évaluation quantifiée par échocardiographie et doppler tissulaire (41,42,174). Outre la chute de fraction de raccourcissement, qui peut être observée en échocardiographie conventionnelle chez des chiens âgés de plus d'un an, le doppler tissulaire permet de mettre en évidence une dysfonction myocardique précoce. Notamment, un indice a été évalué : le gradient de vélocité myocardique, défini comme la différence des vélocités endo- et épicaudiques, normalisée par l'épaisseur de la paroi du ventricule gauche. A l'âge de six mois, cet indice est significativement diminué (42). Ces indices permettent de quantifier la dysfonction myocardique, y compris de manière précoce, ce qui peut permettre d'évaluer l'efficacité de stratégies thérapeutiques sur le plan cardiaque, chez de jeunes animaux.

La dernière méthode d'évaluation développée est une grille de score clinique (45,161). Cette grille, qui figure en Annexe 1, comprend 17 items, répartis en deux parties. La première partie, qui a pour objectif d'évaluer la dysphagie et la dysfonction respiratoire, contient six items. La seconde partie, orientée vers l'évaluation de la fonction motrice, comprend 11 items. Chacun des items peut se voir attribuer une note comprise entre zéro et deux (demi-points compris), zéro représentant la situation normale, et deux la situation la plus critique. Les chiens présentant le score le plus élevé sont donc les plus touchés. Un opérateur formé à l'usage de la grille note le chien à tester, soit à l'issue de simples observations, soit après avoir demandé un exercice simple à l'animal, en fonction des items. Il s'agit donc d'une méthode semi-quantitative, qui conserve une part de subjectivité. Malgré cela, ce type de méthode est très répandu pour l'évaluation des patients atteints de DMD (173), et les diverses équipes travaillant avec des chiens GRMD se sont également créées une grille d'évaluation du même type (82,150). L'engouement pour ce type de méthode d'évaluation, bien qu'imparfaite, traduit un besoin d'outils d'évaluation simples de mise en œuvre, et capables de mettre en évidence la dysfonction, notamment motrice, du chien GRMD.

Le travail présenté ci-après a pour objectif de répondre à un besoin d'outils pertinents, objectifs, simples de mise en œuvre, et non invasifs, permettant de

quantifier la locomotion d'une part et la structure musculaire d'autre part, chez le chien GRMD, en complément de ceux déjà mis en place.

Une méthode d'évaluation de la locomotion par accélérométrie tri-axiale a été proposée, et évaluée, tout d'abord chez des chiens adultes stabilisés, afin d'évaluer la capacité de cette méthode à détecter de manière répétable et reproductible des anomalies de locomotion chez des chiens GRMD et d'identifier ces anomalies. Dans un second temps, cet outil a été appliqué au suivi de chiens en cours d'évolution clinique, afin de déterminer s'il permet de détecter une dégradation de la fonction locomotrice au cours du temps.

Une méthode d'imagerie par résonance magnétique nucléaire a également été évaluée chez des chiens GRMD suivis de manière itérative durant leur première année, et comparés à des chiens sains, afin d'identifier des indices pertinents permettant d'évaluer les chiens GRMD par cette méthode. Ce travail devait permettre de déterminer si cette méthode d'imagerie du muscle strié squelettique peut constituer un outil de suivi des animaux inclus dans des essais pré-cliniques. Cette méthode a pour objectif de constituer une alternative non-invasive à la biopsie musculaire, tout en étant bien plus puissante quant à la quantité de tissu musculaire analysé.

L'ensemble de ce travail a donc fourni deux outils complémentaires, permettant d'optimiser l'utilisation du chien GRMD au cours d'essais pré-cliniques, et de mieux maîtriser l'hétérogénéité clinique de ces animaux, qui représentent le meilleur modèle phénotypique de DMD.

CHAPITRE 1 : ÉVALUATION DES ANOMALIES DE LOCOMOTION PAR ACCÉLÉROMÉTRIE TRI- DIMENSIONNELLE.

PREMIÈRE PARTIE

Évaluer la locomotion, chez le patient atteint de DMD comme chez le chien GRMD, représente un enjeu important, tant pour le suivi clinique du patient, que pour son évaluation dans le cadre d'un essai thérapeutique. La locomotion est la première fonction touchée de manière évidente dans ces deux maladies (32,90,168,189), et son altération ou son retard de développement représentent le plus souvent, chez les enfants, le motif de consultation au diagnostic (100). De plus, la perte de la marche est systématique chez les patients, et survient, suivant les études, entre 9.3 (54) et 12 ans (189), contraignant l'enfant à l'usage permanent du fauteuil roulant. Cet âge de perte de la marche, variable d'un individu à l'autre, est d'ailleurs couramment utilisé comme critère de gravité de l'atteinte, ou pour évaluer l'effet d'un traitement. D'autres tests, plus fonctionnels, tels que le 2 ou le 6 minutes de marche, ou encore le 10 mètres de marche sont également utilisés chez le patient encore ambulateur (111,115).

Ainsi, si l'altération de la fonction locomotrice n'est pas la cause du décès des patients, elle n'en reste pas moins une fonction emblématique, l'objectif phare des stratégies thérapeutiques mises en place pour DMD étant de retarder, voire d'éviter le passage au fauteuil.

Chez le chien GRMD, lorsque le travail présenté ici a débuté, aucun outil d'analyse de la locomotion n'avait été publié. La perte de la locomotion étant décrite comme inhabituelle chez le chien GRMD (168), et les tests de 6 minutes et de 10 mètres de marche étant difficilement exécutables car nécessitant la coopération de l'animal, ces critères et tests n'ont jamais été envisagés dans ce modèle. Néanmoins, disposer d'un outil d'analyse quantifiée de la locomotion chez le chien GRMD est devenu indispensable avec l'essor des stratégies de traitements par voie systémique (82,89,142), l'atteinte locomotrice étant, comme souligné plus haut, le principal signe clinique de cette maladie, du moins à des stades précoces (168), et probablement un reflet global de l'atteinte musculaire striée squelettique.

Les différentes méthodes existantes d'analyse de marche ont connu, au cours des vingt dernières années, un développement important, en réponse à un besoin d'objectiver et de quantifier des altérations souvent subtiles de la locomotion, chez des patients atteints de troubles orthopédiques (6), de maladies neuromusculaires (7) ou neurodégénératives (101,141), mais également chez le cheval (13) ou le chien (65,109), dans le cadre de détection de boiteries (9,29,127,133), ou d'évaluation de procédures chirurgicales correctives de troubles orthopédiques par exemple (56). Les outils à disposition sont nombreux, mais il existe deux méthodes de référence qui sont la cinématique d'une part, et la cinétique via plateformes de force d'autre part.

La cinématique consiste à analyser les mouvements produits au cours de la marche. Concrètement, des marqueurs sont positionnés sur la peau, en regard de reliefs osseux d'intérêt, et le patient est ensuite filmé au cours de la

marche, par une ou plusieurs caméras à haute fréquence d'acquisition (13,65,109). L'image ainsi obtenue est ensuite analysée dans des logiciels dédiés, qui calculent, au cours d'un cycle de marche, des distances, des angles, ou des vitesses à partir du déplacement, dans un plan ou dans l'espace, d'un marqueur donné, ou de marqueurs les uns par rapport aux autres. Cette analyse permet d'obtenir des courbes représentant l'évolution d'un angle articulaire, de la vitesse de déplacement d'un site anatomique donné, ou de la distance entre deux membres au cours d'un cycle de marche (43,133).

La cinétique consiste à mesurer les forces produites au cours de la marche. Classiquement, ce sont les forces exercées par les membres au sol qui sont étudiées, grâce à l'utilisation de plateformes de force (13,65). Ces plateformes sont généralement équipées de quatre capteurs, qui, positionnés à chacun des coins, permettent de mesurer précisément la force exercée dans les trois axes (vertical, cranio-caudal et médio-latéral) au cours du temps (58,109). Les données enregistrées par plateformes de force peuvent être représentées graphiquement par des courbes de force en fonction du temps (58), et l'analyse des données permet l'obtention de valeurs pour des paramètres tels que force maximale, impulsion (force produite par unité de temps, calculée par mesure de l'aire sous la courbe), ou pente d'établissement de la force maximale (58,109). Chez le chien, la majorité des études réalisées en cinétique se focalise sur les forces verticales, et sur le pic de force et l'impulsion verticales (56,65,109).

Autour de ces deux méthodes de référence que sont cinématique et plateformes de force, d'autres méthodes de mesure se sont développées, en réponse à certaines problématiques soulevées par l'utilisation de ces deux techniques.

Ainsi, des tapis roulants avec capteurs à cristaux de quartz incorporés (29,58), ou encore des « chemins de force » mesurant plusieurs mètres de long (92), ont été développés afin de pallier la faible distance de marche que peut enregistrer une plateforme de force, et qui contraint l'individu étudié à effectuer de multiples passages. Si le tapis roulant permet une standardisation de la vitesse, démontrée comme ayant un effet majeur sur les forces enregistrées au sol, son usage est controversé, suite aux conclusions de plusieurs études, chez l'Homme et l'animal, démontrant que celui-ci modifie la qualité de la marche (14,30,67,156,179). Les chemins de force, composés de jauges de contrainte à haute densité (65,92), permettent l'enregistrement de nombreux cycles de marche successifs, en un nombre limité de passages. Ce type de système a été utilisé avec succès chez les carnivores domestiques (91,92). Néanmoins, seules les forces verticales sont alors enregistrées.

Dans le domaine de la cinétique, définie par l'analyse des causes du mouvement, d'autres systèmes ont vu le jour, en réponse à une autre problématique, qui est celle de l'accessibilité des systèmes d'analyse de marche classiques. Les installations de cinématique et les plateformes de force sont en effet complexes et non aisément transportables. Leur accès est donc restreint aux laboratoires d'analyse de marche, ce qui constitue une des causes de leur sous-utilisation (152).

C'est ainsi qu'accéléromètres et gyroscopes, associés ou non, sont apparus comme outils d'analyse de marche (81,107). Ces systèmes sont miniaturisés, permettant leur utilisation hors du cadre d'un laboratoire d'analyse de marche, et leur faible encombrement permet de ne pas gêner le patient. Les accéléromètres peuvent être utilisés accrochés à un membre, ou à un site anatomique particulier (81,107), ou être positionnés à proximité du centre de gravité (10,95). Dans ce dernier cas de figure, les accélérations enregistrées sont, selon, la seconde loi fondamentale de la dynamique de Newton, le reflet direct des forces exercées au sol durant la locomotion. Ainsi, si trois accéléromètres sont placés au centre de gravité et orthogonalement les uns par rapport aux autres, ils permettent une mesure cinétique de la locomotion de l'individu porteur du dispositif. À partir des courbes d'accélération, peuvent être calculées de nombreuses variables descriptives, telles que fréquence des foulées, puissance, et des variables qualitatives telles que régularité (également appelée variabilité, suivant les auteurs) ou symétrie (52,95). Les premières sont calculées par analyse spectrale, et plus précisément par transformée rapide de Fourier le plus souvent. Les secondes sont issues de calculs de corrélations visant à étudier la répétabilité du signal d'un cycle de marche à l'autre ou d'un pas à l'autre (10). Cette technique permet donc d'étudier la dynamique de la marche, et sa qualité.

Parmi tous ces outils disponibles, et alors qu'aucune méthode d'évaluation de la locomotion du chien GRMD n'avait été développée lorsque ce travail a débuté, le choix de l'outil de mesure a dû être effectué, en suivant plusieurs critères.

En premier lieu, le test recherché devait être réalisable chez les chiens GRMD, et donc notamment tenir compte de leur fatigabilité. Des tests d'assez longue durée dans leur préparation et dans leur exécution, tels que les tests de cinématique (152), ont donc semblé ne pas répondre à cette exigence. Par ailleurs, dans la mesure où ce test devait pouvoir être réalisé chez de très jeunes animaux en début d'évolution, au moment de leur inclusion dans un essai thérapeutique, une méthode nécessitant un apprentissage conséquent, tel que, par exemple, l'utilisation d'un tapis roulant (58), n'était pas souhaitable. De surcroît, l'usage d'un tapis roulant pour une étude de cinématique (57) avait été testé sur des chiens GRMD quelques années avant ce travail, dans le cadre d'une thèse vétérinaire. L'expérience avait été peu concluante en liaison avec les difficultés rencontrées pour habituer les chiens au tapis roulant et déterminer une vitesse de confort. Cette étude a également mis en évidence la difficulté de standardiser la vitesse d'un individu à l'autre, en liaison avec l'hétérogénéité de l'atteinte locomotrice, qui contraint à choisir une vitesse très faible.

Une autre exigence pour ce test était sa simplicité de mise en œuvre, et son coût le plus réduit possible. Ce point du cahier des charges s'inscrivait dans un contexte de mise en place de consortiums, visant à harmoniser les méthodes d'évaluation chez les patients, comme dans les modèles animaux, ce, afin de rendre comparables les résultats obtenus par différentes équipes (111). Dans un souci de permettre l'utilisation de cet outil par les différentes équipes travaillant sur le chien déficient en dystrophine, le test se devait

d'être simple, avec la possibilité d'être mis en œuvre par une personne non spécialisée en biomécanique, hors d'un laboratoire d'analyse de marche, d'être le plus rapide possible dans son analyse, et enfin d'être d'un coût raisonnable afin que ce facteur ne soit pas limitant pour l'équipement des différents laboratoires. Les deux méthodes de référence que sont cinématique et cinétique par plateformes de force ne répondent pas à ce critère.

Un dernier point du cahier des charges était le potentiel de transposabilité de l'outil du chien au patient, et donc potentiellement des résultats obtenus. De par la position particulière pré-clinique du modèle GRMD, l'outil choisi devait être le plus clinique possible, transposable au patient et si possible déjà utilisé chez le patient DMD. Seules quelques études sur la locomotion du patient DMD ont été publiées. Elles utilisent la cinématique et/ou des plateformes de force (48,64,159). Néanmoins, ces analyses de marche du patient DMD restent ponctuelles et ces deux outils de mesure n'ont jamais été proposés comme méthode d'évaluation au cours d'un essai thérapeutique, sans doute en liaison avec la complexité et la faible accessibilité de ces techniques. Plus récemment, un intérêt croissant pour l'utilisation de l'accélérométrie chez ces patients est apparu (78,79,111), orientant notre choix vers cette méthode de mesure.

Avant la publication de cette étude, l'accélérométrie n'avait jamais été utilisée dans le cadre d'une analyse de marche chez le chien, mais uniquement comme outil d'actimétrie (72,188). Néanmoins, cette technique avait été validée chez un autre quadrupède, le cheval (95), chez lequel sa répétabilité, sa précision et ses capacités à détecter des anomalies avaient été démontrées (23,95). Chez l'Homme, l'accélérométrie a démontré ses capacités à mettre en évidence des anomalies spécifiques de la locomotion chez des patients âgés ou atteints de neuropathies ou de maladies neurodégénératives (77,101,123). L'hypothèse que cette méthode de mesure permettrait d'identifier et de quantifier des anomalies locomotrices chez le chien GRMD a donc été formulée.

Le développement de l'accélérométrie a été conduit en deux grandes phases.

Tout d'abord, une phase de validation de la pertinence de l'outil pour le modèle GRMD. Cette partie du travail a été effectuée chez des animaux adultes, cliniquement stabilisés, et présentant une atteinte locomotrice installée. La reproductibilité inter-opérateur ainsi que la répétabilité des mesures ont été évaluées. Dans un second temps, la pertinence des différentes variables sélectionnées comme pouvant présenter un intérêt potentiel a été évaluée, par comparaison des valeurs obtenues dans la population GRMD à celles obtenues dans une population de chiens sains.

La deuxième phase de ce travail a consisté en l'établissement d'une histoire naturelle de l'accélérométrie chez le chien GRMD en cours d'évolution, de l'âge de deux mois à l'âge de neuf mois. Cette deuxième phase avait pour objectif de répondre à plusieurs problématiques. Tout d'abord celle de

vérifier qu'un suivi longitudinal de la locomotion par accélérométrie était possible, et pertinent (c'est-à-dire permettait de détecter une évolution de la locomotion). En effet, les différentes stratégies thérapeutiques testées dans ce modèle le sont à un stade généralement précoce de la maladie, c'est-à-dire dans les premiers mois (82,89,142). Être capable de détecter des anomalies de locomotion à ces stades précoces, de manière sensible, et leur évolution de manière quantifiée était donc primordial. Enfin, un dernier objectif de cette deuxième partie de l'étude était tout simplement de disposer d'une population témoin, décrite grâce à cet outil, et disponible comme population de référence pour évaluer des chiens traités.

DEUXIÈME PARTIE

I. Évaluation de la locomotion chez des animaux adultes cliniquement stables

A) Matériel et Méthode

1) Matériel

L'équipement choisi et utilisé dans cette étude était un Locometrix 3D ®. Il comportait notamment l'avantage d'être commercialisé avec un logiciel d'analyse de marche dédié, et adapté au quadrupède (10).

Le Locometrix 3D ®, composé de trois accéléromètres disposés orthogonalement les uns par rapport aux autres (figure 1), a permis l'enregistrement des accélérations dans les axes cranio-caudal, dorso-ventral et médio-latéral. La plage de mesure des accéléromètres était de ± 2 g, avec une résolution de 0,001 g. Un enregistreur de données intégré, connecté aux accéléromètres, a permis l'enregistrement continu du signal, via trois voies synchrones, à une fréquence d'acquisition de 100 Hz. Disposant d'une autonomie en enregistrement de onze heures, le système Locometrix a permis l'enregistrement de plusieurs tests le même jour sans contraindre l'opérateur à recharger l'appareil ou à le décharger de ses données entre deux tests.

Les tracés d'accélération collectés et enregistrés dans l'appareil ont ensuite été transférés via un port USB et l'interface du logiciel Equimetrix ®.

2) Variables calculées

Les différentes variables étudiées ont été calculées dans le logiciel Equimetrix ®. Sur les tracés d'accélérations dorso-ventrales, des séquences de 10,24 secondes de locomotion stable ont été sélectionnées. S'entendent par séquences de locomotion stable des tracés correspondant à une même allure maintenue, hors phases d'accélération et de décélération. Afin d'optimiser au mieux le choix de ces séquences, le curseur permettant de déterminer le début de l'échantillonnage était déplacé plusieurs fois et la position permettant d'obtenir la meilleure valeur de régularité, donc de qualité de marche (voir infra), a été conservée pour l'analyse.

Les variables choisies ont été les suivantes :

a) La vitesse (exprimée en m/s)

Celle-ci a été mesurée par chronométrage des chiens sur une zone de 5 mètres, délimitée sur le parcours. Dans la mesure où cette variable est le plus probablement corrélée à la taille de l'animal, elle a été ici normalisée par la hauteur au garrot, elle-même définie par la hauteur (en mètres) du chien par rapport au sol, mesurée sur le dos, en arrière des scapulae. Cette variable, issue d'une normalisation par la hauteur en mètres, est donc exprimée en s^{-1} .

b) La fréquence des cycles locomoteurs (exprimée en s^{-1})

Chez les quadrupèdes, un cycle de marche comporte quatre accélérations dorso-ventrales, en cas d'allure à quatre temps, telle que le pas, et deux accélérations dorso-ventrales en cas d'allures à deux temps telles que le trot ou le galop (annexe 1). Par conséquent, en fonction du type d'allure employé, la fréquence des cycles a été calculée comme le quart ou la moitié de la fréquence fondamentale (correspondant en fait à la fréquence d'un pas), dérivée du signal d'accélérations dorso-ventrales par une transformée rapide de Fourier. Une vérification de la valeur calculée par le logiciel, notamment sur des allures aux tracés très modifiés (fusion de pics d'accélération par exemple) telles que le galop dit « en saut de lapin » (bonds) (annexe 1) a été réalisée par l'opérateur par comptage « manuel » du nombre de cycles observés sur le tracé durant les 10,24 secondes.

c) La longueur de foulée (exprimée en m)

Cette variable correspond à la distance parcourue au cours d'un cycle de marche (c'est-à-dire entre deux appuis successifs d'un même membre). Elle a été calculée par le logiciel en divisant la vitesse par la fréquence. De la même façon que la vitesse, la longueur des foulées a été normalisée par la hauteur au garrot, afin de s'affranchir de différences entre individus simplement dues à des tailles différentes. Cette variable, issue d'une normalisation par la hauteur en mètres, est donc sans unité.

d) La régularité (sans unité)

Il s'agit d'un score normalisé qui a pour objectif de quantifier la répétabilité des accélérations dorso-ventrales au cours des cycles successifs de locomotion compris dans l'échantillonnage de 10,24 secondes. La régularité a été calculée par le logiciel, et par addition de deux coefficients de corrélation, nommés C1 et C2, C1 représentant la corrélation des accélérations entre chaque cycle locomoteur, et C2 la corrélation entre accélérations d'un même cycle. C1 et C2 ont été obtenus par calcul d'une fonction d'autocorrélation sur le signal d'accélérations dorso-ventrales. De manière à obtenir une échelle de score linéaire, les coefficients C1 et C2 ont été multipliés par 100 et le résultat normalisé par une transformée en Z.

e) La puissance totale (exprimée en W/kg)

Dans chacun des trois axes de mesure des accélérations, la puissance des accélérations a été calculée comme l'intégrale du spectre de puissance obtenue par transformée rapide de Fourier, à partir du signal brut d'accélérations. La puissance totale correspond à la somme des puissances calculées dans les trois axes.

f) Puissance relative dans chaque axe (exprimée en %)

Afin de déterminer la contribution de chaque axe à la puissance totale, la puissance des accélérations dans chaque axe a été rapportée à la puissance totale, permettant d'obtenir la proportion de puissance cranio-caudale, dorso-ventrale et médio-latérale.

g) La force relative (exprimée en N/kg)

Afin de s'affranchir des différences de vitesse et d'allure influençant de manière certaine la valeur de la puissance totale, celle-ci (en W/kg) a été rapportée à la vitesse (en m/s), donnant lieu à une variable en N/kg, qui a été appelée force relative.

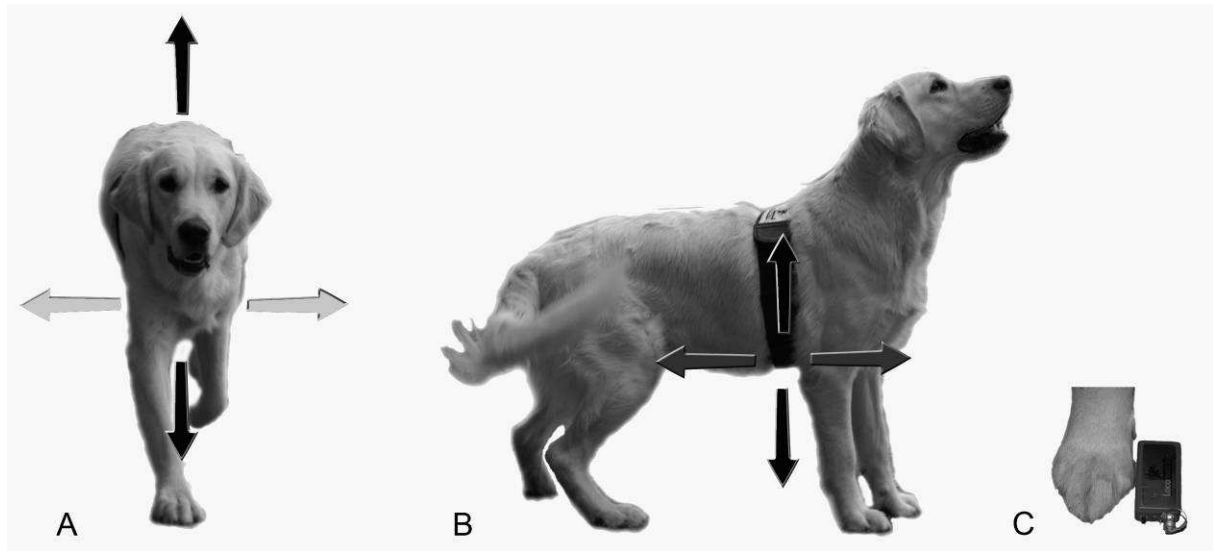
3) Déroulement du test

Au moment du test, et afin d'éviter toute fatigue préalable, le chien à évaluer était porté, jusqu'au couloir de marche, situé devant le chenil, et mesurant trente mètres de long. Les chiens sains progressant souvent à une vitesse trop importante pour permettre un enregistrement aisé de 10,24 secondes de locomotion stable sur trente mètres, ce couloir était alors rallongé à quarante-cinq mètres. Suivant le tempérament de l'animal, une petite phase d'acclimatation au couloir et/ou au port de l'appareillage a parfois été réalisée durant quelques minutes lors du premier test. Le boîtier contenant les accéléromètres et la mémoire était inséré dans une ceinture élastique. Cette ceinture était ensuite serrée délicatement mais assez fermement autour du thorax, afin d'éviter, ou, du moins, limiter, les mouvements du boîtier au cours du test (figure 1). L'ensemble, d'une masse de 156 g (50 g pour le boîtier, (voir taille de celui-ci figure 1C) et 106 g pour la ceinture), a permis le maintien du dispositif à proximité du centre de gravité du chien au repos, en regard de l'appendice xiphoïde du sternum. Une attention particulière a dû être portée d'une part à la bonne orientation du boîtier par rapport au chien, afin que l'enregistrement des accélérations ne soit pas inversé, et d'autre part aux mouvements éventuels du dispositif durant le test, et plus particulièrement aux déplacements latéraux du boîtier. Ceux-ci auraient en effet pu être responsables d'une surestimation de la puissance des accélérations médio-latérales, car l'accéléromètre placé sur cet axe aurait alors été impacté par les accélérations générées dans l'axe dorso-ventral (Annexe 1). Ainsi, à la fin de chaque longueur de couloir, le bon positionnement du boîtier sur le sternum était contrôlé.

Une fois le dispositif en place, l'enregistrement était déclenché manuellement, chien debout et immobile durant quelques secondes. Le test proprement dit pouvait ensuite débuter, l'opérateur encourageant l'animal à avancer à ses côtés, sans laisse, à l'allure et la vitesse de son choix, mais en stimulant par la voix l'animal, avec pour but de faire atteindre au chien le maximum de ses capacités. L'opérateur était en charge de chronométrer l'animal à chaque passage exploitable (allure stabilisée, sans arrêt) et sur une zone de 5 mètres délimitée par des marques au sol.

Hormis pour l'étude de reproductibilité, tous les tests ont été réalisés par le même opérateur (IB).

Figure 1 : Accélérométrie – positionnement du dispositif sur l'animal et axes de mesure des accélérations (A, B), taille du boîtier en comparaison de l'extrémité distale du membre antérieur d'un chien adulte (C).



A : Chien vu de face ; les flèches noires schématisent l'axe dorso-ventral, et les flèches gris clair l'axe médio-latéral. B : Chien vu de profil, portant la ceinture dans laquelle est inséré le boîtier de mesure, placé en regard de l'appendice xiphoïde du sternum ; les flèches noires schématisent l'axe dorso-ventral, et les flèches gris foncé l'axe cranio-caudal. C : boîtier contenant les trois accéléromètres et l'enregistreur de données, en comparaison de l'extrémité distale d'un antérieur de chien adulte. Noter la petite taille de l'appareil.

4) Méthode

a) Évaluation de la répétabilité de la méthode de mesure

Animaux

L'étude de répétabilité a été conduite sur dix-neuf chiens adultes cliniquement stabilisés, dont huit chiens golden retriever mâles sains (âge moyen : 24,3 mois, écart-type : 25,3 mois) et onze chiens GRMD (âge moyen : 21,6 mois, écart-type : 17,8 mois) (Tableau 1). Parmi les chiens sains, cinq étaient issus de la colonie GRMD, et trois étaient des chiens en cours d'éducation par des étudiants vétérinaires volontaires auprès de l'association Handi'chien, qui éduque des chiens guides pour personnes en fauteuil roulant. Parmi les cinq chiens issus de la colonie GRMD, seuls quatre étaient hébergés au chenil, le cinquième (Spirou) avait été adopté, et revenait avec son propriétaire pour les tests d'accélérométrie.

Tableau 1 : Accélérométrie - Animaux inclus dans l'étude de répétabilité

Nom	Statut (origine)	Age au 1 ^{er} test (mois)	Intervalle entre 1 ^{er} et 3 ^{ème} test (jours)
Cbof	Sain (colonie GRMD)	12,3	9
Ckan	Sain (colonie GRMD)	12,4	8
Cayak	Sain (Handi'chien)	10,6	53
Caïd	Sain (Handi'chien)	15,7	55
Chips	Sain (Handi'chien)	15,1	34
Spirou	Sain (colonie GRMD)	86,3	20
Cliff	Sain (colonie GRMD)	21,0	3
Crock	Sain (colonie GRMD)	21,5	2
Cki	GRMD	12,1	2
Cbidon	GRMD	9,8	2
Cballot	GRMD	12,5	2
Clown	GRMD	11,6	38
Clovis	GRMD	12,9	7
Cobra	GRMD	15,9	3
Charlot	GRMD	13,9	53
Charly	GRMD	12,6	3
Ajax	GRMD	34,2	3
Athos	GRMD	34,1	3

<i>T-Fal</i>	<i>GRMD</i>	68,5	3
--------------	-------------	------	---

Déroulement de l'étude

Chacun des dix-neuf chiens a subi un test d'accélérométrie, trois fois à quelques jours d'intervalle (voir tableau 1), et par le même opérateur. Les tests ont été conduits conformément à la procédure énoncée précédemment. Tous les animaux inclus dans l'étude avaient déjà subi des tests d'accélérométrie auparavant, et pouvaient donc être considérés comme des animaux « habitués » à ce test, ce qui permettait *a priori* d'éviter, ou du moins d'atténuer, un éventuel effet apprentissage ou habituation.

Analyse des données

Pour chacun des tests, toutes les séquences exploitables ont été analysées dans le logiciel Equimetrix, et les données suivantes ont été retenues pour l'analyse statistique : vitesse (m/s), fréquence des foulées (/s), longueur des foulées (m), régularité, puissance totale (W/kg), puissances relatives dans chacun des trois axes (%), force (N/kg).

Pour chaque test, les valeurs obtenues au cours de deux séquences différentes d'un même test ont été conservées, afin de déterminer s'il existait un effet intra-jour. Lorsque plus de deux séquences étaient exploitables au cours du même test, un tirage au sort a été effectué permettant de sélectionner deux d'entre elles.

Analyse statistique

Une analyse de variance (ANOVA) à mesures répétées à deux facteurs (intra- et inter-jour) a été effectuée dans le logiciel Statistica 10 afin de déterminer la répétabilité de la méthode. Le seuil de significativité a été fixé à $p = 0,05$.

b) Évaluation de la reproductibilité inter-opérateurs de la méthode

Animaux

L'étude de reproductibilité inter-opérateur a été conduite sur huit chiens adultes cliniquement stabilisés, dont quatre chiens golden retriever sains issus de la colonie GRMD et hébergés au chenil, deux chiens GRMD et deux chiens LRMD (Labrador Retriever Muscular Dystrophy) (Tableau 2). Tous les chiens avaient déjà effectué des tests auparavant.

Tableau 2 : Accélérométrie – Animaux inclus dans l'étude de reproductibilité inter-opérateurs.

Nom	Statut	Age au 1 ^{er} test (mois)	Intervalle entre 1 ^{er} et 3 ^{ème} test (jours)
Dclack	Sain	18,3	4
Crock	Sain	32,0	4
Dzastre	Sain	10,4	4
Dzer	Sain	10,4	4
Ajax	GRMD	50,8	2
Athos	GRMD	50,7	2
Alcaline	LRMD	52,5	2
Desmet	LRMD	17,8	2

Déroulement de l'étude

Les chiens ont été examinés par trois opérateurs différents, trois fois à quelques jours d'intervalle. L'étude a été réalisée en deux temps : une première session de tests sur chiens dystrophiques, et une seconde sur chiens sains. Chacune des sessions était composée de trois jours de tests, en une courte période de temps (Tableau 2). Au cours de chaque jour de test, chaque opérateur a dû réaliser le test d'accélérométrie sur chacun des chiens. Afin de limiter l'influence de la fatigue sur les performances de l'animal, les trois opérateurs ont effectué leurs tests à des créneaux horaires espacés d'au moins deux heures. De plus, et malgré ces précautions, afin que l'effet opérateur ne soit pas confondu avec un effet fatigue ou heure de passage dans la journée, l'ordre d'intervention des différents opérateurs a été modifié chaque jour.

Parmi les trois opérateurs, se trouvaient un opérateur semi-expérimenté (opérateur numéro un), un opérateur novice (opérateur numéro deux) et un opérateur expérimenté (opérateur numéro trois). Une formation préalable avait été dispensée par l'opérateur expérimenté aux deux autres intervenants.

Analyse des données

Pour chacun des tests, toutes les séquences exploitables ont été analysées dans le logiciel Equimetrix ®, et les données suivantes ont été retenues pour

l'analyse statistique : vitesse (m/s), fréquence des foulées (/s), longueur des foulées (m), régularité, puissance totale (W/kg), puissances relatives dans chacun des trois axes (%), force (N/kg).

Analyse statistique

Une ANOVA à mesures répétées avec un effet opérateur et un effet jour a été effectuée dans le logiciel Statistica 10, afin de déterminer l'effet opérateur, et la répétabilité de chaque opérateur. Le seuil de significativité a été fixé à $p = 0,05$.

c) Évaluation de la pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD

Animaux

L'étude d'évaluation de la pertinence des différentes variables dans le modèle GRMD a été conduite sur 29 chiens adultes cliniquement stabilisés, dont 11 chiens golden retriever sains, d'un âge moyen de 21,3 mois (écart-type : 21,9 mois) et 18 chiens GRMD d'un âge moyen de 17,8 mois (écart-type : 14,5 mois) (Tableau 3). Les chiens GRMD montraient une importante hétérogénéité clinique sur le plan locomoteur, comme peuvent en témoigner leurs scores cliniques moteurs, compris entre 27,3 % pour un chien très peu touché (T-Fal) et 86,3 %, pour un chien présentant une atteinte motrice importante (Charlot) (Tableau 3).

Afin de déterminer dans quelle mesure les caractéristiques de marche dégagées chez le chien GRMD sont spécifiques de cette myopathie chez le chien, neuf chiens labradors adultes atteints de myopathie centronucléaire (CNM) ont également subi des tests d'accélérométrie (Tableau 4). Cette myopathie entraîne sur le plan clinique une faiblesse musculaire et une hypotonie, avec une altération de la locomotion plus discrète que chez le chien GRMD.

Parmi tous ces animaux, huit des onze chiens sains, dix des dix-huit chiens GRMD et cinq des neuf chiens CNM avaient subi des tests au préalable, dans le cadre de suivis longitudinaux durant leurs premiers mois de vie.

Tableau 3 : Accélérométrie – Animaux inclus dans l'étude d'évaluation de la pertinence des différentes variables pour la caractérisation locomotrice du chien GRMD

Nom	Symbole (graphiques)	Statut (origine)	Age (mois)	Poids (kg)	Hauteur au garrot (m)	Score moteur (%)
Cbof	✖	Sain (colonie GRMD)	12,3	30,9	0,60	-
Ckan	◆	Sain (colonie GRMD)	12,4	31,7	0,61	-
Cayak	■	Sain (Handi'chien)	10,6	30,5	0,61	-
Caïd	✕	Sain (Handi'chien)	15,7	33,6	0,63	-
Chips	◇	Sain (Handi'chien)	15,1	28,7	0,56	-
Spirou	□	Sain (colonie GRMD)	86,3	23,7	0,54	-
Cliff	●	Sain (colonie GRMD)	21,0	27,2	0,58	-
Crock	—	Sain (colonie GRMD)	21,5	27,4	0,61	-
Dzastre	○	Sain (colonie GRMD)	10,4	24,1	0,62	-
Dzer	△	Sain (colonie GRMD)	10,4	22,0	0,56	-
Dclack	■	Sain (colonie GRMD)	18,3	26,9	0,62	-
Cki	●	GRMD	12,1	14,7	0,52	43,2
Cbidon	+	GRMD	9,8	20,1	0,59	45,5
Cballot	▲	GRMD	12,5	16,2	0,55	52,3
Clown	◆	GRMD	11,6	19,4	0,52	54,5
Clovis	●	GRMD	12,9	22,3	0,54	45,5
Cobra	✕	GRMD	15,9	22,4	0,60	38,6
Charlot	✕	GRMD	13,9	14,3	0,45	86,3
Charly	—	GRMD	12,6	17,4	0,49	70,4
Ajax	✕	GRMD	34,2	24,5	0,56	36,4
Athos	◆	GRMD	34,1	21,4	0,46	59,1
T-Fal	✕	GRMD	68,5	24,4	0,50	27,3
Ebam	—	GRMD	11,2	24,4	0,62	40,9
Eboum	■	GRMD	11,2	16,8	0,54	43,2
Dlice	+	GRMD	10,2	18,4	0,50	52,3
Dluge	—	GRMD	13,6	16,5	0,52	56,8
Dk	●	GRMD	13,9	18,4	0,51	59,1
Eaudvy	—	GRMD	11,7	23,5	0,54	47,7

Dbrouille	■	GRMD	11,4	27,2	0,64	31,8
-----------	---	------	------	------	------	------

Tableau 4 : Accélérométrie – Chiens adultes atteints de myopathie centronucléaire

Nom	Age (mois)	Sexe	Poids (kg)	Hauteur au garrot (m)
Elvis	12,1	Mâle	21,1	0,53
Elton	12,1	Mâle	24,0	0,58
Elios	12,1	Mâle	19,2	0,56
Elnett	12,1	Femelle	18,6	0,52
Elisa	12,1	Femelle	19,9	0,52
Tex	81,5	Mâle	26,5	0,54
Teddy	81,5	Mâle	31,6	0,57
Team	81,5	Mâle	29,0	0,57
Sprag	96,8	Mâle	26,0	0,55

Déroulement de l'étude

Les vingt-neuf chiens ont effectué au moins un test d'accélérométrie. Les animaux également inclus dans l'étude de répétabilité ont été testés trois fois (voir plus haut). Les autres chiens ont subi au moins un test. Les tests ont été effectués en suivant la procédure énoncée plus haut. Tous les tests ont été réalisés par le même opérateur.

Analyse des données

Toutes les séquences exploitables ont été analysées puis les données obtenues moyennées, de manière à obtenir une valeur moyenne par chien et par variable. Les variables étudiées ont été les suivantes : vitesse/hauteur au garrot (/s), fréquence des cycles (/s), longueur des foulées /hauteur au garrot, régularité, puissance totale (W/kg), puissances relatives dans chacun des trois axes (%), force (N/kg).

Analyse statistique

Une ANOVA à un facteur (statut : sains versus GRMD) a été effectuée dans le logiciel Statistica 10, afin de déterminer quelles variables pouvaient présenter un intérêt dans la caractérisation de la locomotion et la quantification du

déficit locomoteur chez GRMD, c'est-à-dire quelles variables présentaient des valeurs différentes de celles rencontrées dans la population normale.

Un coefficient de corrélation de Pearson a été calculé afin de déterminer si les variables calculées étaient corrélées au score clinique moteur.

Des coefficients de variation, pour chaque variable et chacun des groupes ont été calculés, en normalisant l'écart-type par la moyenne, de manière à étudier l'aptitude des différentes variables à décrire la dispersion de la population (c'est-à-dire son hétérogénéité).

Une Analyse en Composantes Principale (ACP), méthode d'analyse multivariée, a enfin été réalisée, afin de déterminer si les variables interagissaient, et si oui, de quelle manière. Elle a également été effectuée afin d'étudier de quelle manière les individus se projetaient sur le plan d'ACP, et d'évaluer la capacité des différentes variables à séparer les individus GRMD des individus sains. Sept variables ont été utilisées pour la réalisation de cette ACP et sont les suivantes : la fréquence des cycles, la longueur des foulées/hauteur au garrot, la régularité, la puissance totale, et les trois puissances relatives. La vitesse, corrélée de manière évidente à la fréquence et à la longueur des foulées, de même que la force, corrélée à la puissance totale, n'ont pas été incluses.

De manière à disposer d'un index permettant de situer les individus les uns par rapport aux autres, suivant les valeurs obtenues pour chacune des variables, la distance euclidienne au centre de gravité des individus sains a été calculée pour chaque chien. Cette distance a, comme les variables brutes, fait l'objet d'une ANOVA à un facteur afin de déterminer si elle permet de différencier les chiens GRMD des chiens sains.

Le seuil de significativité a été fixé à $p = 0,01$.

B) Résultats

1) Répétabilité de la méthode de mesure

Pour aucune des variables étudiées n'a été identifié d'effet intra- ou inter-jour significatif ($p > 0,05$), et ce quel que soit le type d'animaux considéré (GRMD ou sains). Ce résultat démontre que les mesures effectuées par cette méthode sont répétables, chez des chiens sains comme chez des chiens GRMD.

2) Reproductibilité inter-opérateur de la méthode de mesure

L'ensemble des tests prévus ont pu être réalisés. Tous les tracés obtenus ont pu être analysés, c'est-à-dire que chaque opérateur a été en mesure d'obtenir de la part de chacun des huit chiens au moins une séquence de dix secondes de locomotion stabilisée, et ce à chacun des trois tests effectués. Néanmoins, des tracés évoquant fortement une rotation de la ceinture au cours du test ont été obtenus par les opérateurs numéro un et numéro deux, pour trois tests sur chiens sains. En ce qui concerne l'opérateur numéro un, les tracés en question concernaient des tests de Dclack, Dzer et

Dzastre ; pour l'opérateur numéro deux, ces trois tracés concernaient deux tests de Dclack, et un test de Dzer.

L'analyse statistique a tout d'abord confirmé les résultats obtenus dans l'étude de répétabilité : pour chacune des variables étudiées, aucun effet jour n'a été identifié ($p > 0,05$). Chaque opérateur a donc obtenu des mesures comparables d'un jour à l'autre, ce qui démontre une nouvelle fois la répétabilité de la méthode de mesure, pour un opérateur donné.

Cependant, un effet opérateur significatif ($p < 0,05$) a été révélé par l'analyse de variance, pour plus de la moitié des variables étudiées, à savoir : la vitesse, la fréquence des cycles (FC), la longueur des foulées (LF), la régularité (reg), et la puissance totale (PT). La force, calculée en normalisant la puissance totale par la vitesse, deux variables significativement impactées par le changement d'opérateur, ne subit pas, quant à elle, l'effet de ce changement. Les variations de puissance totale sont donc probablement essentiellement dues à des modifications de la vitesse choisie par le chien en fonction de l'opérateur, et ces variations sont donc lissées par la normalisation.

Le détail de l'analyse de variance montre que l'effet opérateur identifié pour les variables précédemment énumérées est essentiellement dû aux variations entre opérateurs sur les tests réalisés sur les chiens sains. Les cinq variables considérées sont significativement impactées par l'opérateur chez les chiens sains, tandis qu'une seule d'entre elles, la fréquence des cycles, est modifiée par le changement d'opérateur chez les chiens dystrophiques. La force est, chez les chiens dystrophiques, significativement modifiée par l'opérateur.

Les résultats détaillés de l'analyse de variance à mesures répétées utilisée ici sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Accélérométrie – résultats de l'étude de reproductibilité inter-opérateurs.

	Vitesse	FC	LF	Rég	PT	PDV/PT	PCC/PT	PML/PT	Force
Effet opérateur (tous)	p = 0,0034	p = 0,0047	p = 0,0515	p = 0,0282	p = 0,0131	p = 0,7956	p = 0,2177	p = 0,7921	p = 0,1578
Effet opérateur (sains)	p = 0,0018	p = 0,0051	p = 0,0107	p = 0,0093	p = 0,0164	p = 0,2830	p = 0,2783	p = 0,6881	p = 0,2122
Effet opérateur (GRMD)	p = 0,0846	p = 0,0337	p = 0,2697	p = 0,3032	p = 0,0658	p = 0,8296	p = 0,0808	p = 0,9479	p = 0,0210

La première ligne du tableau contient les effets opérateurs calculés sur l'ensemble des chiens. La deuxième et la troisième ligne contiennent respectivement les effets opérateurs calculés dans les populations saine et GRMD.

Abréviations utilisées : FC : fréquence des cycles ; LF : longueur des foulées ; Rég : régularité ; PT : puissance totale ; PDV/PT : puissance dorso-ventrale/puissance totale ; PCC/PT : puissance cranio-caudale/puissance totale ; PML/PT : puissance médio-latérale/puissance totale.

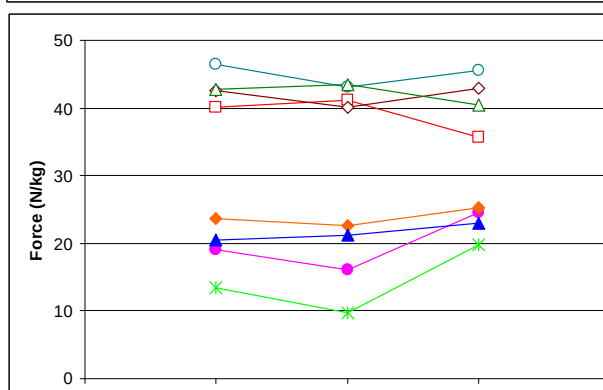
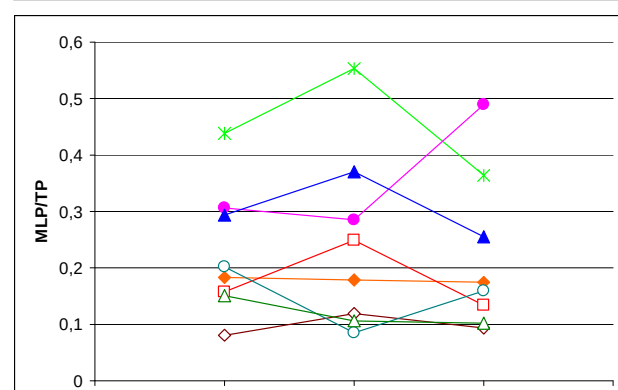
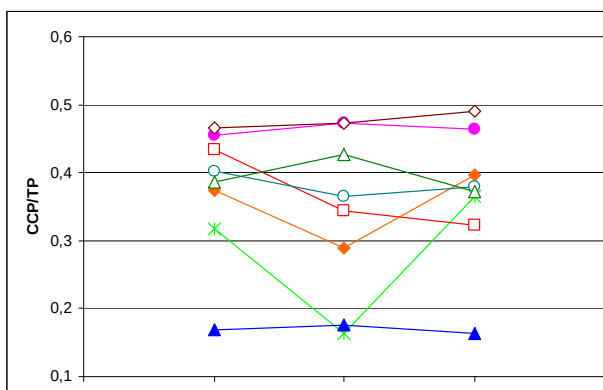
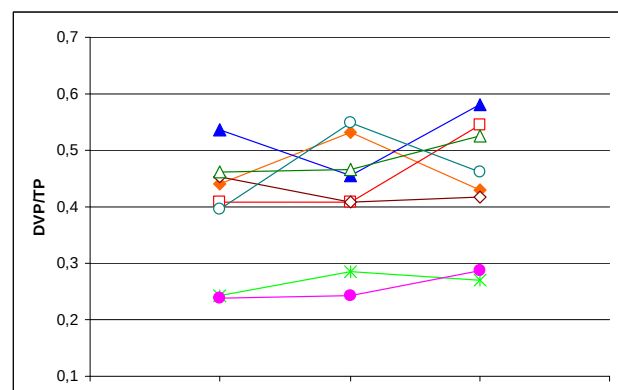
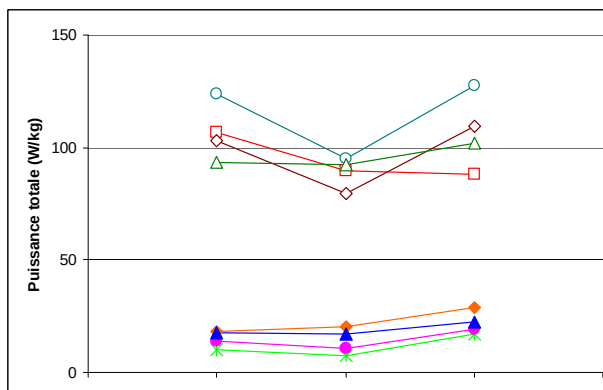
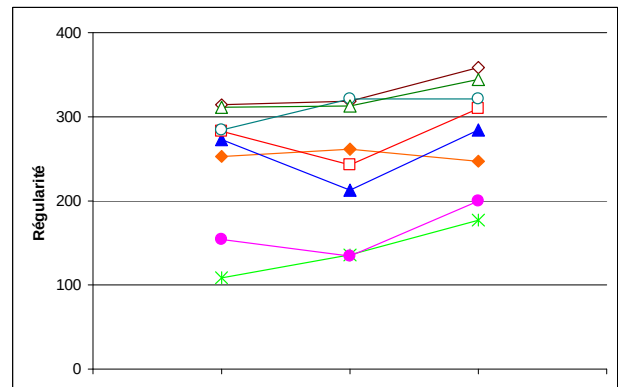
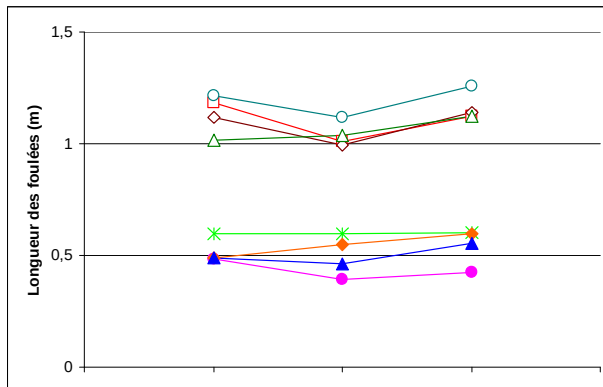
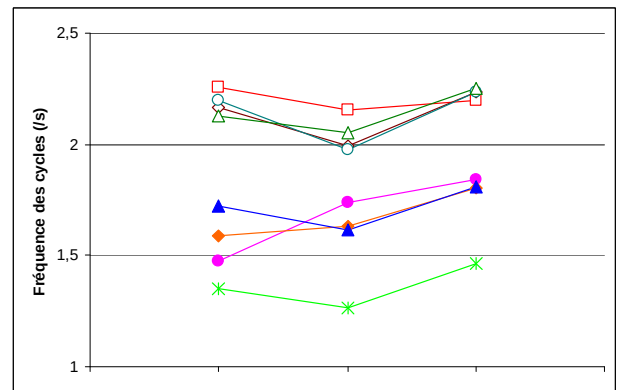
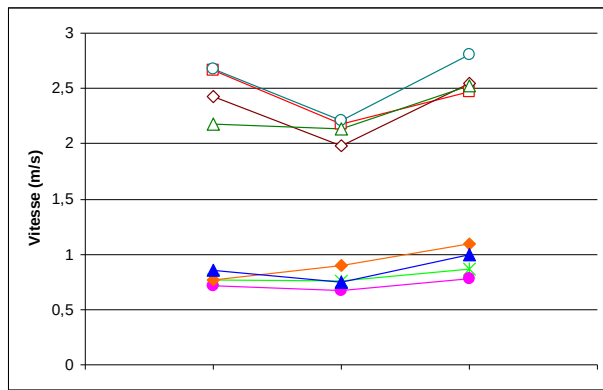
La figure 2 contient des graphiques illustrant les résultats obtenus pour chacune des variables étudiées, par les trois opérateurs, et sur les huit chiens examinés. Pour davantage de lisibilité, et étant donné que la répétabilité intra-opérateur a été démontrée, la moyenne des trois tests effectués par chaque opérateur et pour chaque chien a été utilisée pour réaliser ces graphiques. Il apparaît, à la lecture de ces graphiques, que la vitesse utilisée par les chiens est plus élevée en présence de l'opérateur numéro trois (moyenne sains : 2,59 m/s écart-type : 0,15 m/s ; moyenne GRMD : 0,94 m/s, écart-type : 0,14 m/s) qu'en présence de l'opérateur numéro un (moyenne sains : 2,48 m/s écart-type : 0,23 m/s ; moyenne GRMD : 0,78 m/s, écart-type : 0,06 m/s), avec lequel les chiens sont plus rapides qu'avec l'opérateur numéro deux (moyenne sains : 2,12 m/s écart-type : 0,10 m/s ; moyenne GRMD : 0,77 m/s, écart-type : 0,09 m/s). Ces variations de vitesse s'expliquent essentiellement par une modification dans le même sens de la fréquence des cycles locomoteurs, et dans une moindre mesure de la longueur des foulées. Parallèlement, et en conséquence de ces variations de vitesse, la puissance totale calculée est également plus importante à l'issue des tests réalisés par l'opérateur numéro trois (moyenne sains : 106,8 W/kg écart-type : 16,5 W/kg ; moyenne GRMD : 22,1 W/kg, écart-type : 5,0 W/kg), qu'à l'issue de ceux réalisés par l'opérateur numéro un (moyenne sains : 106,8 W/kg écart-type : 12,8 W/kg ; moyenne GRMD : 15,0 W/kg, écart-type : 3,7

W/kg), et surtout par l'opérateur numéro deux (moyenne sains : 89,1 W/kg écart-type : 6,8 W/kg ; moyenne GRMD : 13,8 W/kg, écart-type : 5,8 W/kg). En bref, les chiens présentent une locomotion plus rapide avec l'opérateur expérimenté, moins rapide avec l'opérateur semi-expérimenté et encore moins rapide avec l'opérateur novice, et les autres variables participant à la vitesse suivent également ce schéma. L'index de régularité est par ailleurs également supérieur pour les séquences enregistrées par l'opérateur numéro trois (moyenne sains : 333,4 écart-type : 22,2 ; moyenne GRMD : 227,3, écart-type : 48,0), que pour celles enregistrées par l'opérateur numéro un (moyenne sains : 298,2 écart-type : 16,6 ; moyenne GRMD : 196,8, écart-type : 78,5), elles-mêmes comparables à celles obtenues par l'opérateur numéro deux (moyenne sains : 299,0 écart-type : 37,5 ; moyenne GRMD : 186,2 écart-type : 62,2).

Comme démontré par les résultats de l'analyse statistique, ces modifications en fonction de l'opérateur sont essentiellement présentes dans le groupe de chiens sains. Néanmoins, le même type de profil opérateur-dépendant est observé chez les chiens GRMD, certes dans une moindre mesure.

Enfin, si l'existence d'un effet opérateur est indéniable, les animaux n'en restent pas moins classés les uns par rapport aux autres de manière quasi équivalentes par les trois opérateurs.

Figure 2 : Accélérométrie – Reproductibilité inter-opérateur. Graphiques montrant les valeurs moyennes des variables sur les trois tests, obtenues pour chaque chien, opérateur par opérateur (voir page suivante)

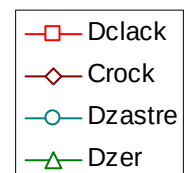


Légende :

Chiens dystrophiques



Chiens sains



Abréviations utilisées : DVP/TP : puissance dorso-ventrale/puissance totale ; CCP/TP : puissance cranio-caudale/puissance totale ; MLP/TP : puissance médio-latérale/puissance totale.

3) Évaluation de la pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD

Tous les animaux prévus pour les tests ont pu être évalués, et des séquences de locomotion exploitables ont été obtenues pour tous. Paradoxalement, il a fréquemment été plus difficile d'obtenir des séquences de locomotion stabilisée chez les chiens sains, plus dissipés que les chiens malades. Aucun des chiens examinés n'a eu besoin d'une phase d'apprentissage (port de la ceinture, marche dans un couloir) excédant quelques minutes d'acclimatation, même des chiens n'ayant jamais subi d'enregistrement auparavant.

L'allure préférentiellement et systématiquement choisie par les chiens sains, ainsi que par les chiens atteints de myopathie centronucléaire est le trot. Les chiens GRMD quant à eux ont employé deux allures différentes : le trot pour les animaux les moins touchés, ou le pas pour les animaux plus atteints.

a) Résultats de l'analyse de variance : étude de l'effet groupe (Sain vs GRMD)

L'analyse de variance visant à explorer l'effet groupe, donc les différences éventuelles entre chiens sains et chiens GRMD, a démontré que toutes les variables étudiées, à l'exception des puissances dorso-ventrale et cranio-caudale relatives sont très significativement ($p < 0,0001$) différentes chez le chien GRMD en comparaison de la population normale.

Les résultats détaillés de cette analyse statistique sont donnés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : résultats de l'analyse de variance (effet groupe sain vs GRMD)

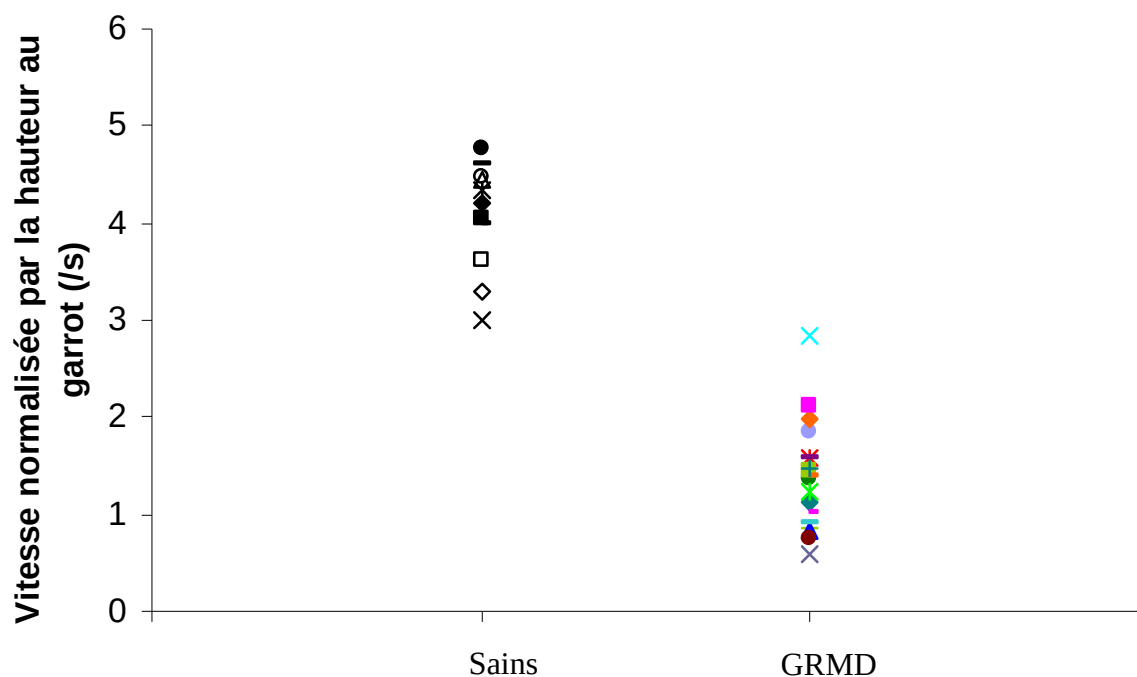
	Vitesse/HG (s ⁻¹)	FC (s ⁻¹)	LF /HG	Reg	PT (W/kg)	PDV/PT (%)	PCC/PT (%)	PML/PT (%)	Force (N/kg)
Valeur de p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0773	0,0437	<0,0001	<0,0001
Moy (ET)	4,07 (0,56)	2,15 (0,14)	1,90 (0,16)	330,6 (27,5)	98,7 (22,2)	47,5 (6,3)	43,1 (7,4)	9,5 (2,6)	40,6 (5,1)
CV (%) sains	13,7%	6,5 %	8,4 %	8,3 %	22,5 %	13,3 %	17,2 %	27,4 %	12,6 %
Moy (ET)	1,38 (0,56)	1,57 (0,19)	0,86 (0,27)	218,7 (75,9)	15,9 (9,0)	38,0 (16,1)	33,2 (14,1)	28,7 (12,9)	20,6 (6,2)
CV (%) GRMD	40,6 %	12,1 %	31,4 %	34,7 %	56,6 %	42,4 %	42,5 %	44,9 %	30,1 %

Les niveaux de significativité < 0,01 figurent en gras.

Abréviations utilisées : Moy : moyenne ; ET : écart-type ; CV : coefficient de variation ; Vitesse/HG : vitesse normalisée par la hauteur au garrot ; FC : fréquence des cycles ; LF/HG : longueur des foulées normalisée par la hauteur au garrot ; Reg : régularité ; PT : puissance totale ; PDV/PT : puissance dorso-ventrale normalisée par la puissance totale ; PCC/PT : puissance cranio-caudale normalisée par la puissance totale ; PML/PT : puissance médio-latérale normalisée par la puissance totale.

La vitesse, normalisée par la hauteur au garrot (elle-même significativement ($p = 0,0017$) diminuée chez les chiens GRMD) afin de prendre en considération les variations de taille qui pourraient être à l'origine de différences de vitesse brute, est très significativement ($p < 0,0001$) diminuée chez les chiens GRMD (moyenne : $1,38 \text{ s}^{-1}$, écart-type : $0,56 \text{ s}^{-1}$), par rapport aux chiens sains (moyenne : $4,07 \text{ s}^{-1}$, écart-type $0,56 \text{ s}^{-1}$). Le graphique de la figure 3 montre les valeurs obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD. Les deux populations apparaissent bien distinguées par cette variable, sans zone de superposition, même si un chien GRMD, T-Fal, se rapproche très distinctement de la population de chiens sains. De la même manière, chez les chiens sains, trois animaux, Caïd, Chips et Spirou, se distinguent légèrement du reste du groupe avec des valeurs assez faibles. Enfin, la dispersion de la population GRMD, évaluée par un coefficient de variation à 40,6 %, est supérieure à celle observée dans la population saine, mesurée par la même méthode à 13,7 %.

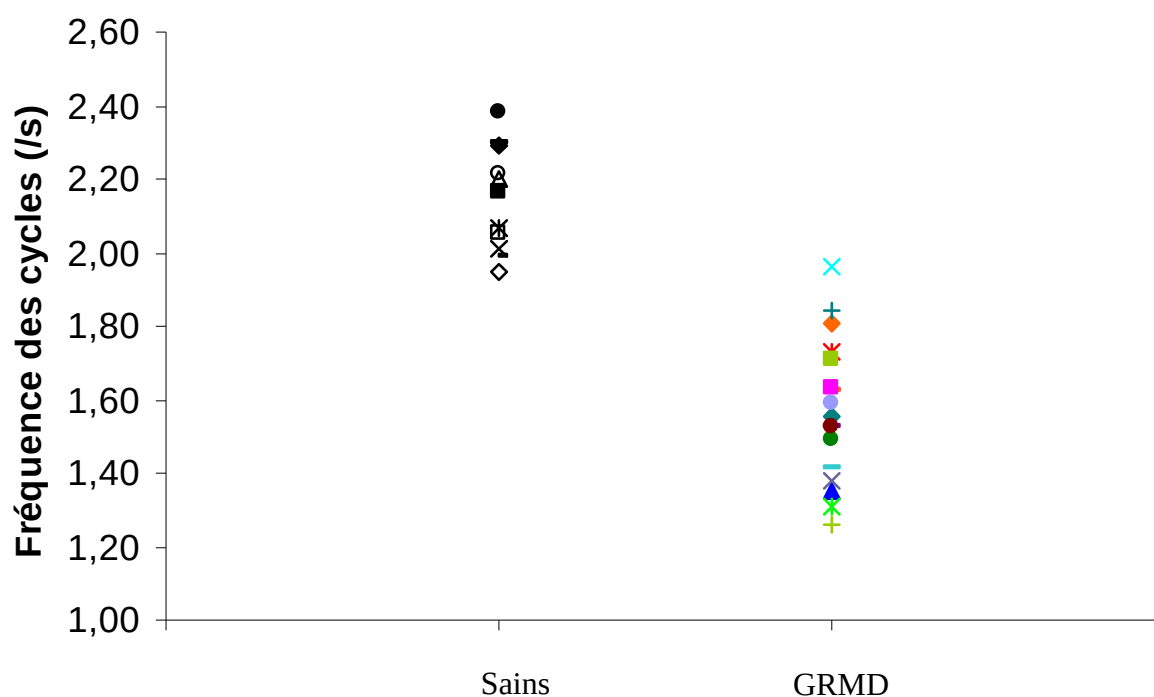
Figure 3 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de vitesse normalisée par la hauteur au garrot, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3.

La fréquence des cycles locomoteurs est également très significativement ($p < 0,0001$) diminuée chez les chiens GRMD (moyenne : $1,57 \text{ s}^{-1}$, écart-type : $0,19 \text{ s}^{-1}$), par rapport aux chiens sains (moyenne : $2,15 \text{ s}^{-1}$, écart-type : $0,14 \text{ s}^{-1}$). Le graphique de la figure 4 montre les valeurs obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD. Il apparaît qu'une zone de superposition existe pour cette variable, et que ceci est lié à la position du chien GRMD T-Fal, dont la fréquence de cycle est supérieure à celle du chien sain Chips. Le coefficient de variation dans la population GRMD, calculé à 12,1 %, témoigne d'une dispersion plus importante que dans la population saine (6,5 %).

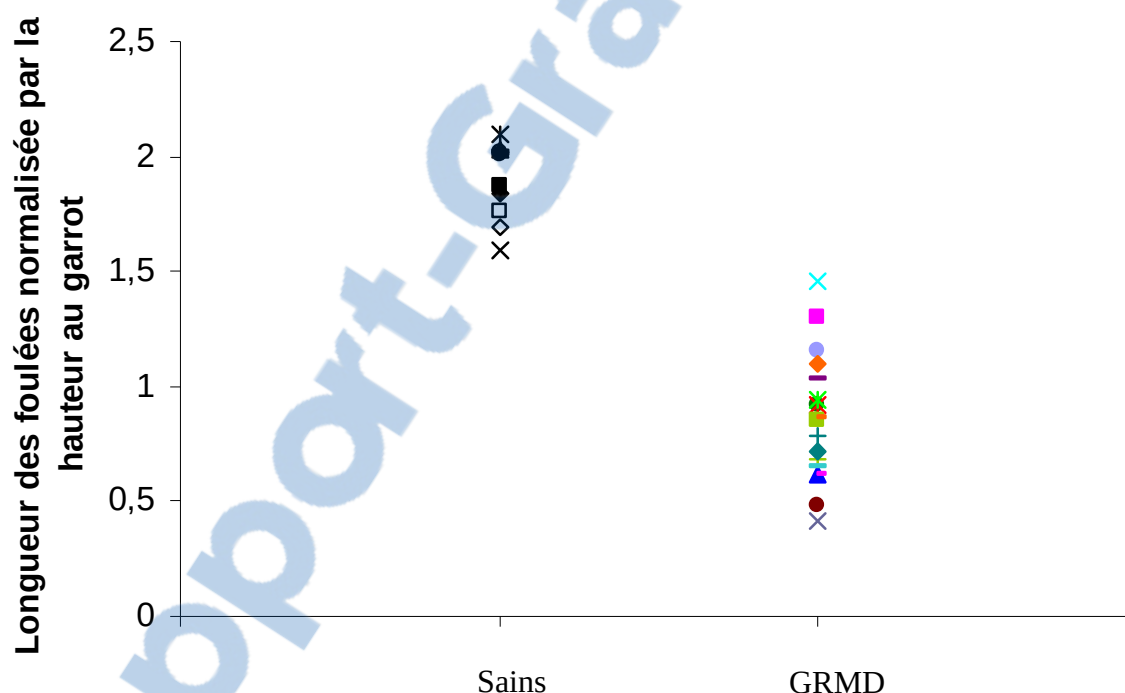
Figure 4 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de fréquence de cycle locomoteur, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3.

La longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot, est elle aussi très significativement diminuée ($p < 0,0001$) chez les chiens GRMD (moyenne : 0,86, écart-type : 0,27) en comparaison des chiens sains (moyenne : 1,90, écart-type : 0,16). Le graphique de la figure 5 montre les valeurs obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD. Aucune zone de superposition n'est constatée pour cette variable, même si le chien T-Fal apparaît une fois encore comme ayant la valeur la plus proche de celles des chiens sains. La dispersion, mesurée par le coefficient de variation, est assez faible pour la population normale (8,4 %), et nettement plus importante (31,4 %) pour la population GRMD.

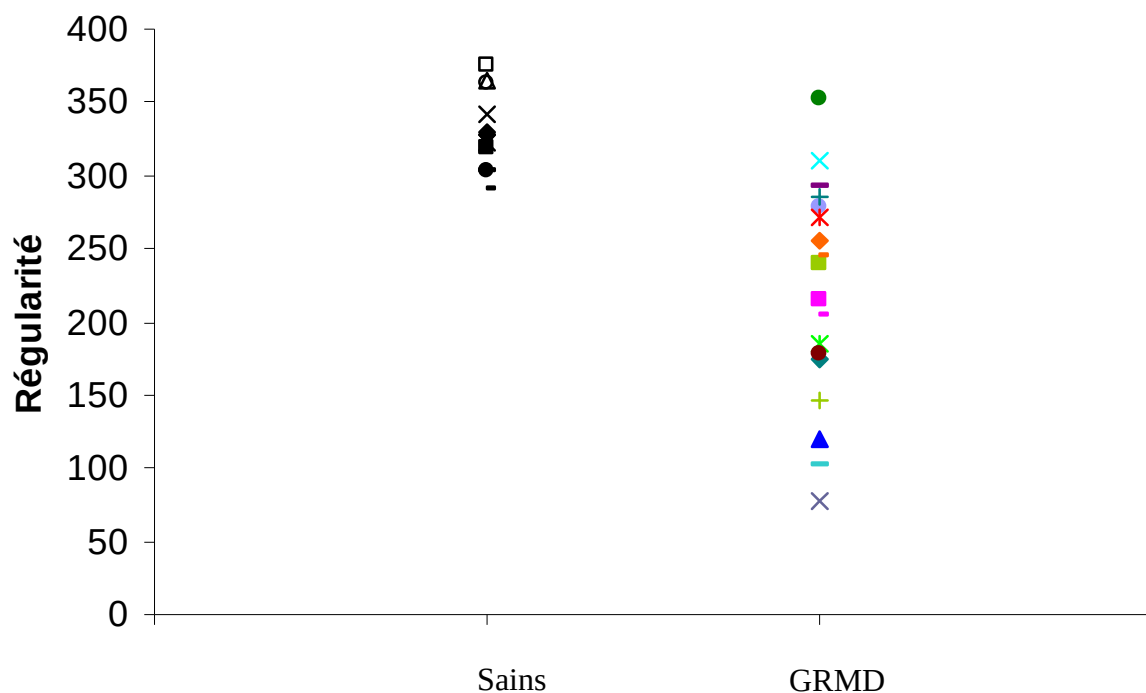
Figure 5 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de longueur de foulée, normalisée par la hauteur au garrot, obtenues pour les individus sains en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3.

La régularité, index quantifiant la répétabilité des cycles locomoteurs, est très significativement ($p < 0,0001$) diminuée chez les chiens GRMD (moyenne : 218,7, écart-type : 75,9), en comparaison des chiens sains (moyenne : 330,6, écart-type : 27,5). Le graphique de la figure 6 montre les valeurs obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD. Il apparaît qu'une zone de superposition entre les deux populations existe. En effet, les chiens GRMD Cki, T-Fal et Ebam ont obtenu des valeurs de régularité comprises dans l'intervalle de valeurs défini par les chiens sains. Les quinze chiens GRMD restants ont quant à eux des valeurs inférieures, voire très basses pour certains animaux. Le coefficient de variation de la population GRMD est, pour cette variable encore, plus important (34,7 %) que celui de la population normale (8,3 %).

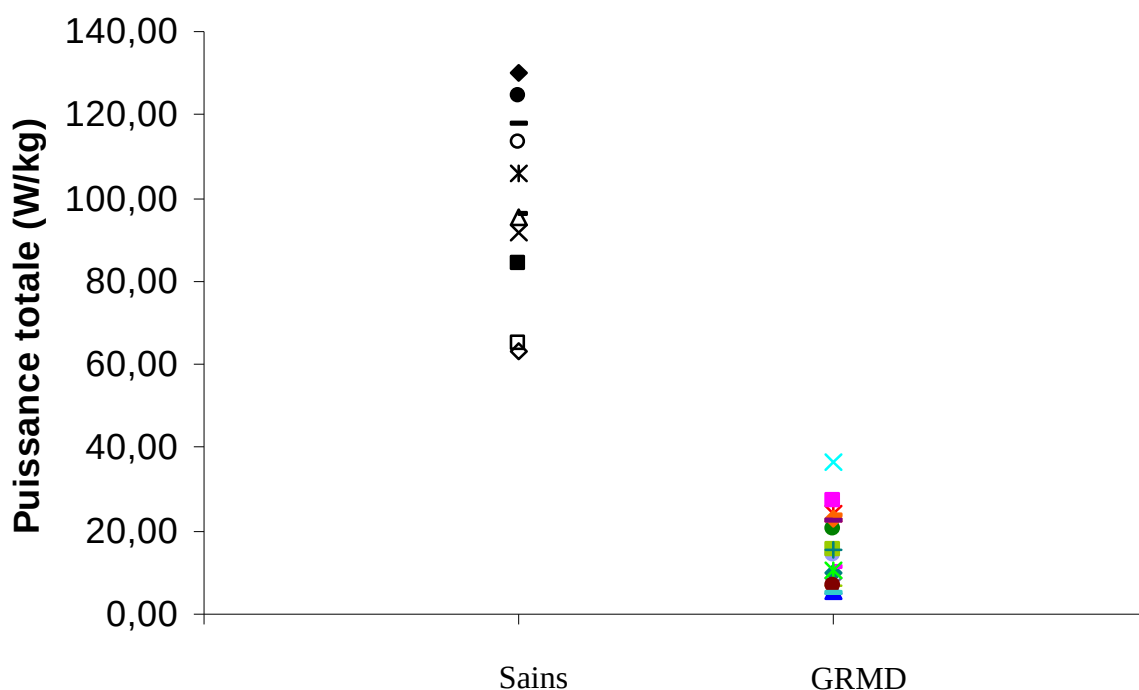
Figure 6 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de régularité obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3.

La puissance totale est très significativement diminuée ($p < 0,0001$) chez les chiens GRMD (moyenne : 15,9 W/kg, écart-type : 9,0 W/kg), en comparaison des chiens sains (moyenne : 98,7 W/kg, écart-type : 22,2 W/kg). Le graphique de la figure 7 montre les valeurs obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD. Il apparaît que la puissance totale est une variable qui distingue bien les deux populations, puisqu'aucune zone de superposition n'est présente. Les valeurs obtenues chez les chiens sains apparaissent très variables d'un individu à l'autre, de 63,3 W/kg pour Chips, à 129,9 W/kg pour Ckan, avec un écart-type de 22,2 W/kg, nettement supérieur à l'écart-type calculé dans la population GRMD (9,0 W/kg). Cependant, les valeurs de puissance totale obtenues chez les chiens GRMD étant très faibles en comparaison de celles obtenues chez les chiens sains, la valeur de l'écart-type comme le graphique donnent une impression relative d'homogénéité du groupe GRMD sur cette variable. Comme le démontre le coefficient de variation, il n'en est rien, puisque celui-ci atteint 56,6 % chez les chiens GRMD, alors qu'il ne s'élève qu'à 22,5 % chez les chiens sains.

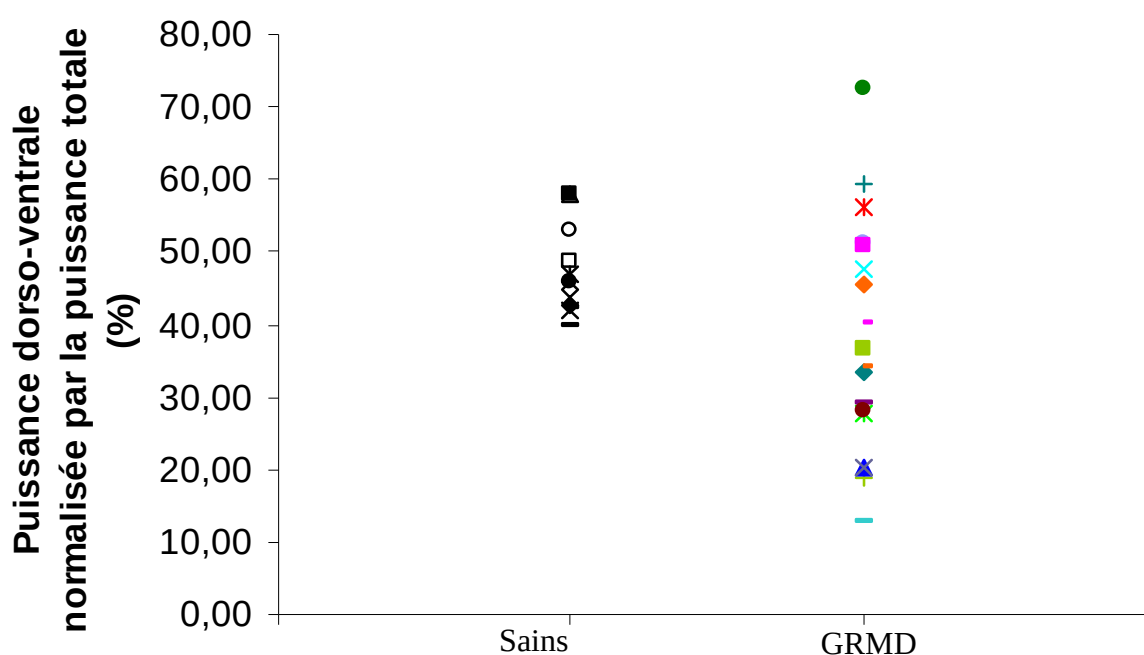
Figure 7 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance totale obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3

La puissance dorso-ventrale normalisée par la puissance totale n'est pas significativement ($p = 0,0773$) modifiée chez les chiens GRMD (moyenne : 38,0 %, écart-type : 16,1 %), en comparaison des chiens sains (moyenne : 47,5 %, écart-type : 6,3 %). Le graphique de la figure 8 montre les valeurs obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD. Il apparaît qu'un chien GRMD (Cki) a une valeur de puissance dorso-ventrale relative supérieure à celles obtenues chez les chiens sains. Sept autres chiens GRMD ont des valeurs comprises dans l'intervalle de celles obtenues chez les chiens sains, et les dix autres des valeurs inférieures. Cette hétérogénéité existant dans la population GRMD est également illustrée par le coefficient de variation qui s'élève à 42,4 %, alors qu'il n'atteint que 13,3 % chez les chiens sains.

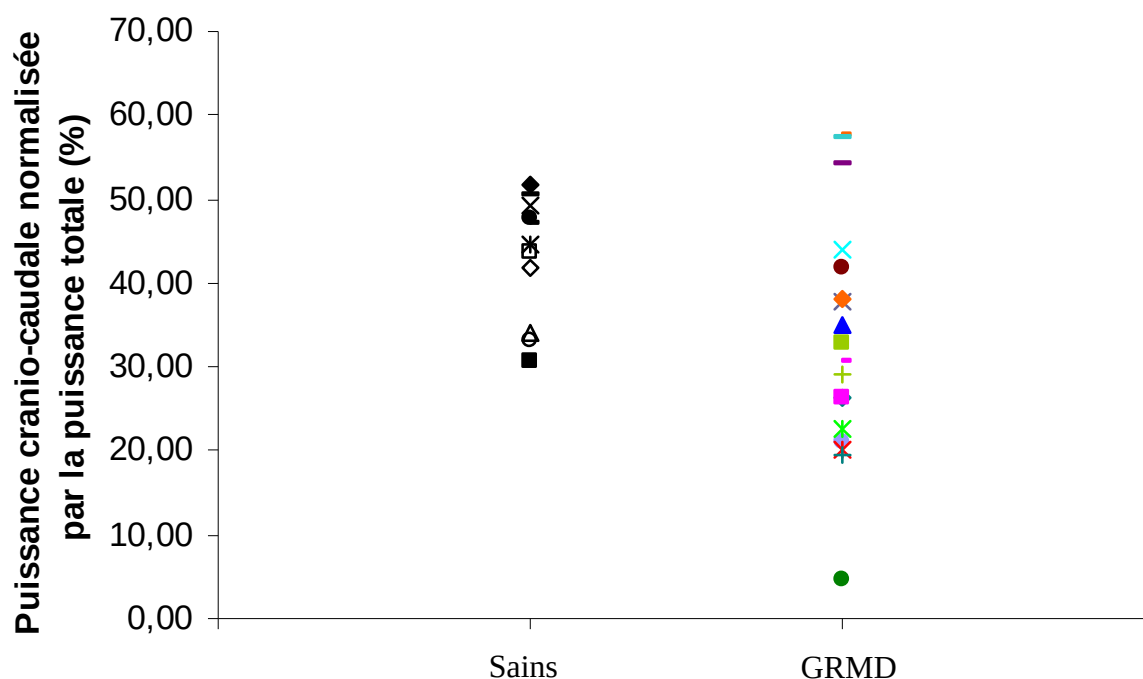
Figure 8 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance dorso-ventrale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3

La puissance cranio-caudale normalisée par la puissance totale n'est pas significativement modifiée ($p = 0,0437$) chez les chiens GRMD (moyenne : 33,2 %, écart-type : 14,1 %) en comparaison des chiens sains (moyenne : 43,1 %, écart-type : 7,4 %). Néanmoins, une tendance à la diminution de cette variable est constatée, comme l'illustre la figure 9. À sa lecture, il apparaît qu'une zone de superposition importante existe entre les deux populations, comme c'est également le cas pour la puissance dorso-ventrale relative (figure 8). Il est cependant intéressant de noter qu'à l'exception des chiens GRMD T-fal, qui se positionne dans les valeurs des chiens sains pour ces deux variables, et Cki, qui montre une puissance dorso-ventrale augmentée et une puissance cranio-caudale très diminuée, les animaux GRMD superposés au groupe de chiens sains pour la puissance dorso-ventrale relative, ont des valeurs de puissance cranio-caudale relative diminuées, et vice versa. Les valeurs obtenues pour les chiens sains sont assez similaires à celles obtenues dans l'axe dorso-ventral (environ 45 %), mais avec une dispersion légèrement supérieure, comme le démontre le coefficient de variation s'élevant à 17,2 %. La population GRMD est une nouvelle fois plus dispersée, son coefficient de variation atteignant 42,5 %.

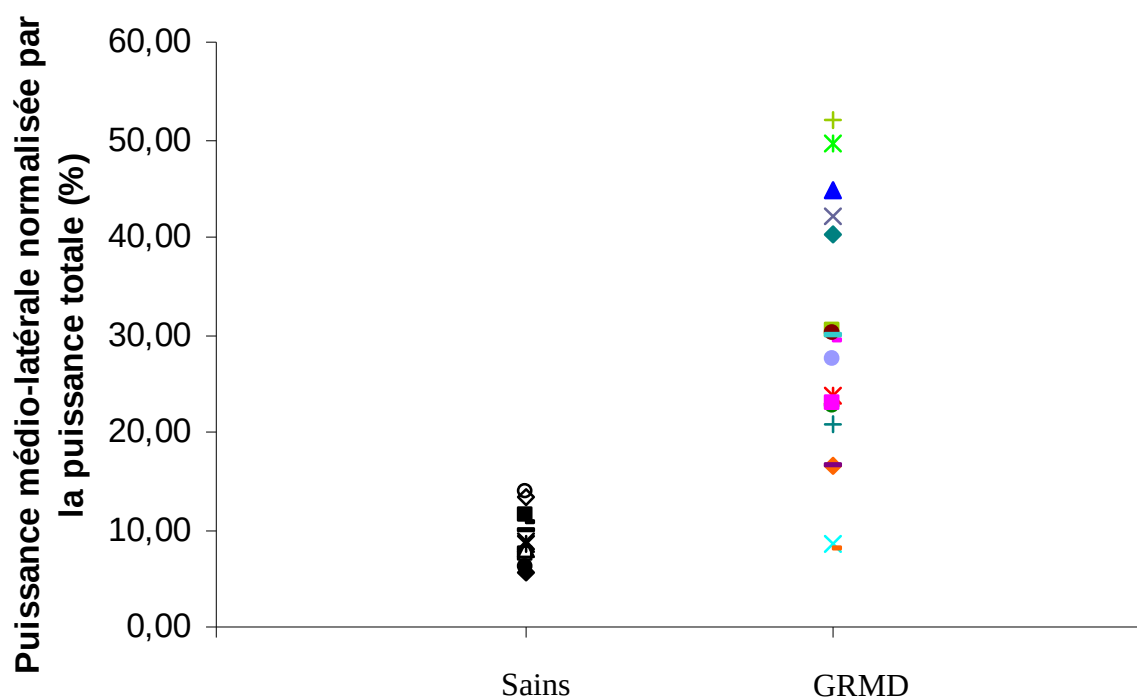
Figure 9 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance cranio-caudale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3

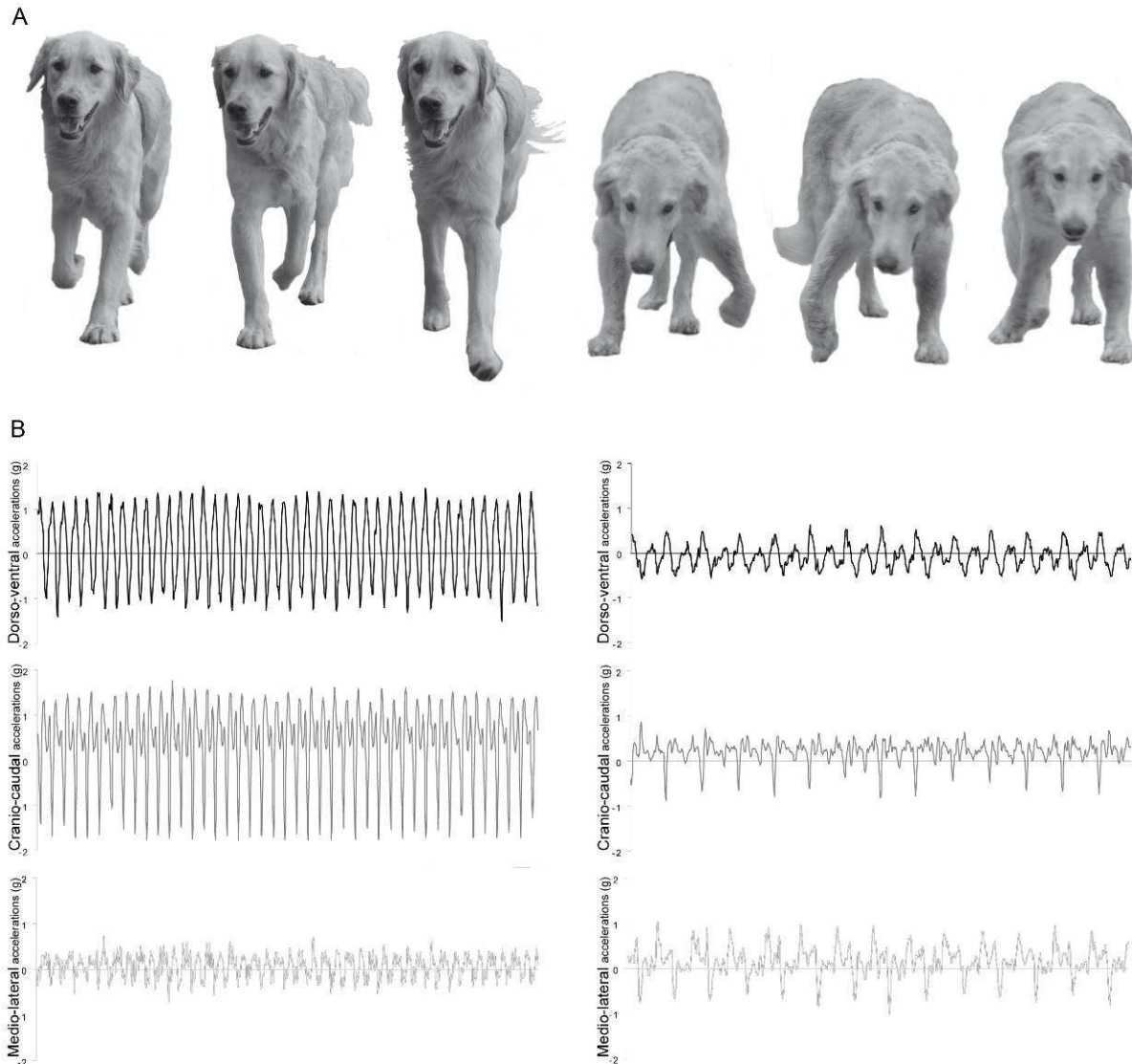
La puissance médio-latérale, normalisée par la puissance totale, est très significativement ($p < 0,0001$) augmentée chez les chiens GRMD (moyenne : 28,7 %, écart-type : 12,9 %), en comparaison des chiens sains (moyenne : 9,5 %, écart-type : 2,6 %). Les valeurs obtenues chez les chiens sains sont très faibles, en comparaison des valeurs obtenues pour les deux autres axes : la distribution normale de la puissance dans les trois axes pourrait être schématisée ainsi : 45 % en dorso-ventral, 45 % en cranio-caudal, et 10 % en médio-latéral. Le graphique de la figure 10 montre les valeurs obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD. Seuls deux chiens GRMD (T-Fal et Charly) montrent des valeurs superposées à celles des chiens sains. Les autres individus du groupe GRMD ont des valeurs légèrement à très augmentées, avec une dispersion importante de la population (coefficient de variation de 44,9 %, contre 27,4 % dans la population normale). Au vu des résultats obtenus pour les puissances relatives dans les trois axes, il apparaît qu'à l'exception de deux individus (T-Fal et Charly), le profil énergétique tri-dimensionnel des chiens GRMD est modifié par report de puissance de l'axe dorso-ventral ou cranio-caudal (suivant les individus), vers l'axe medio-latéral. La figure 11 illustre ce report de puissance.

Figure 10 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de puissance médio-latérale relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau

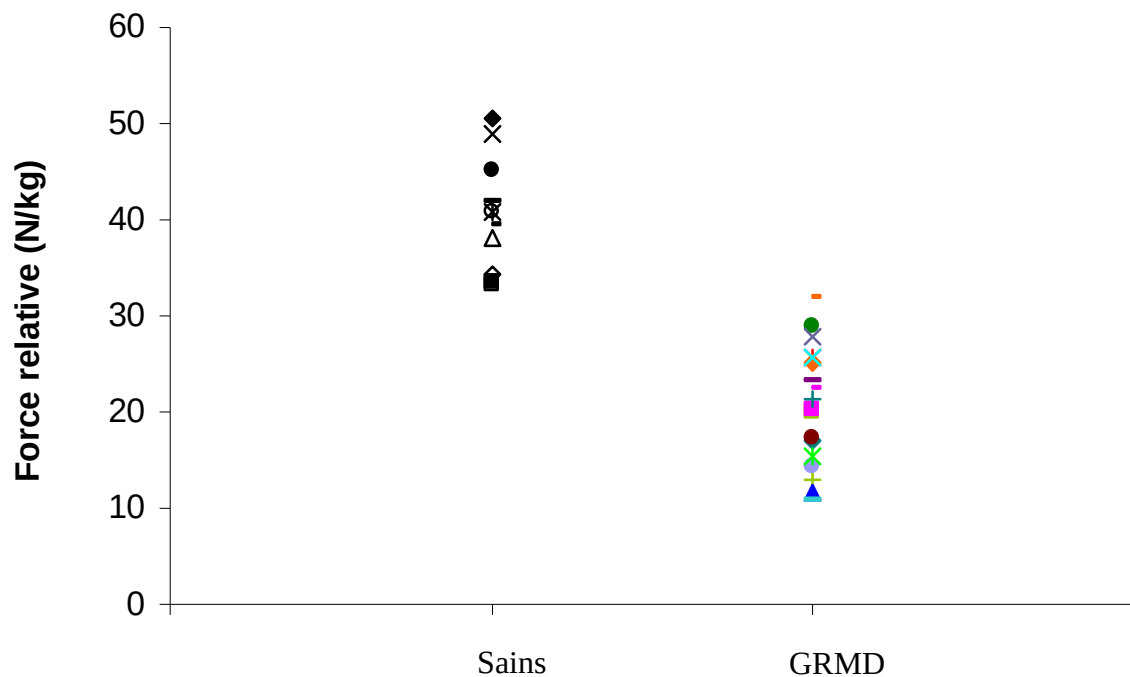
Figure 11 : Accélérométrie - pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : illustration de la perte globale de puissance, et de sa redistribution vers l'axe medio-latéral chez le chien GRMD.



A : Photos de face d'un chien sain (trois premières photos en partant de la gauche), en comparaison d'un chien GRMD (trois photos suivantes) en cours de locomotion, illustrant le balancement de droite à gauche présent chez le chien GRMD. B : tracés d'accélération dans les axes dorso-ventral (en haut, tracé noir), cranio-caudal (au milieu, tracé gris foncé) et médio-latéral (en bas, tracé gris clair). Les trois tracés de gauche ont été enregistrés sur un chien sain, et ceux de droite sur un chien GRMD. Noter l'amplitude globalement plus faible des accélérations chez le chien GRMD, et la forte amplitude du tracé médio-latéral en comparaison des tracés obtenus dans les deux autres axes, et de celui obtenu dans ce même axe chez le chien sain.

La force relative, calculée en normalisant la puissance totale par la vitesse, afin de s'affranchir des variations de vitesse et/ou d'allure, est très significativement ($p < 0,0001$) diminuée chez les chiens GRMD (moyenne : 20,6 N/kg, écart-type : 6,2 N/kg), en comparaison des chiens sains (moyenne : 40,6 N/kg, écart-type : 5,1 N/kg). Le graphique de la figure 12 montre les valeurs obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD. Aucune superposition n'est observée entre les deux populations. Ceci démontre que la diminution de puissance totale n'est pas uniquement due à la diminution de vitesse également observée. Pour cette variable encore, le coefficient de variation est plus élevé chez les chiens GRMD (30,1 %) que chez les chiens sains (12,6 %).

Figure 12 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : valeurs de force relative obtenues pour les individus sains, en comparaison des individus GRMD.



Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3

b) Etude de corrélation des variables étudiées avec le score clinique moteur

Seules trois variables présentent une corrélation négative significative avec le score clinique : la vitesse normalisée par la hauteur au garrot ($R = -0,68$, $p = 0,0020$), la longueur des foulées normalisée par la hauteur au garrot ($R = -0,77$, $p = 0,0002$), et la puissance totale ($R = -0,62$, $p = 0,0060$). Les autres variables ne sont pas significativement corrélées au score moteur. Le tableau 7 contient les résultats de calcul du coefficient de Pearson. Les graphiques de la figure 13 illustrent par des droites de régression la corrélation existant entre le score clinique et les trois variables précédemment énoncées.

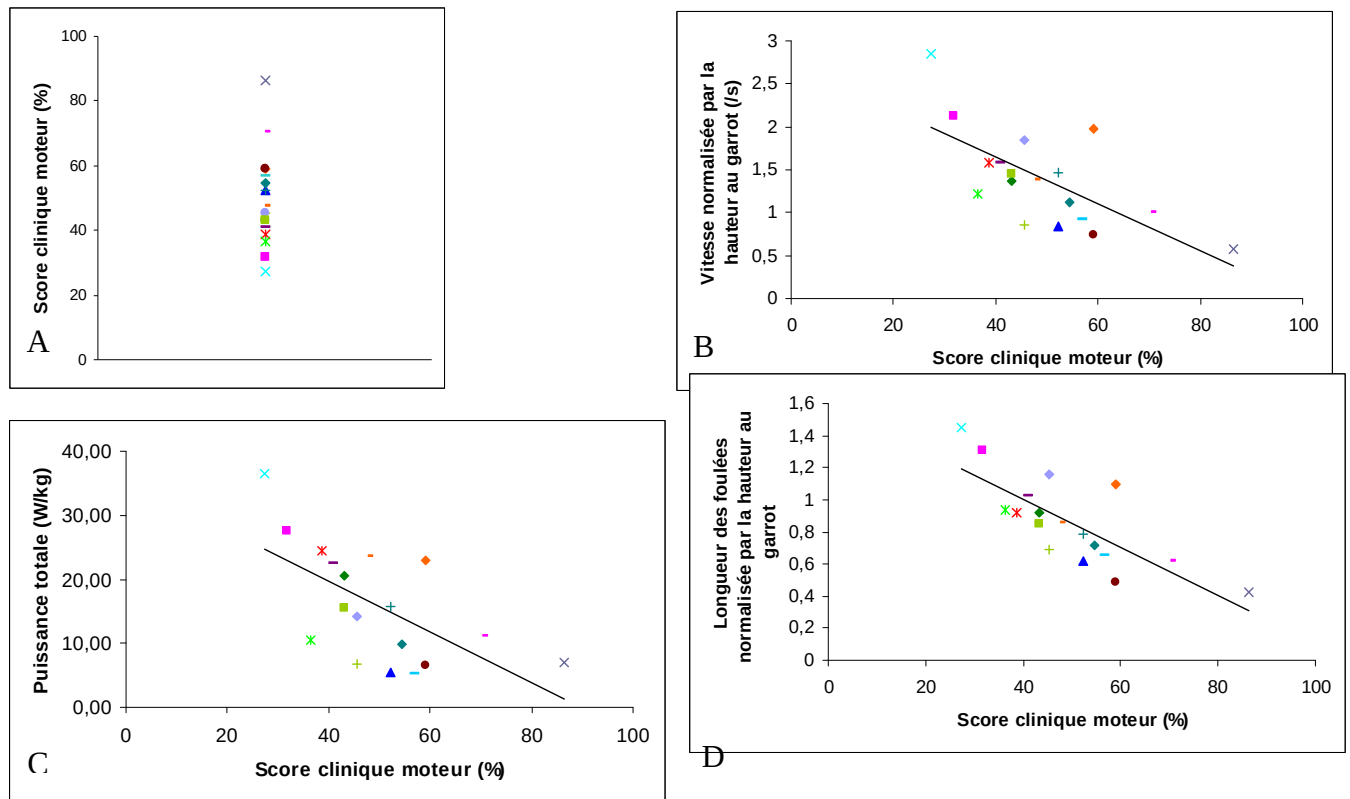
Tableau 7 : Accélérométrie – pertinence des différentes variables pour la caractérisation de la locomotion du chien GRMD : résultats de l'analyse de corrélation avec le score clinique moteur

	Vitesse/H G	FC	LF /HG	Reg	PT	PDV/P T	PCC/P T	PML/P T	Force
<i>R de Pearson</i>	-0,68	-0,27	-0,77	-0,57	-0,62	-0,37	0,16	0,29	0,05
<i>Valeur de p</i>	0,0020	0,275 7	0,000 2	0,012 7	0,006 0	0,128 1	0,528 8	0,241 1	0,836 9

La première ligne de résultats indique le coefficient R de corrélation de Pearson avec le score clinique moteur, la seconde ligne, son niveau de significativité. Les résultats significatifs figurent en gras.

Abréviations utilisées : Vitesse/HG : vitesse normalisée par la hauteur au garrot ; FC : fréquence des cycles ; LF/HG : longueur des foulées normalisée par la hauteur au garrot ; Reg : régularité ; PT : puissance totale ; PDV/PT : puissance dorso-ventrale, normalisée par la puissance totale ; PCC/PT : puissance cranio-caudale normalisée par la puissance totale ; PML/PT : puissance médio-latérale, normalisée par la puissance totale.

Figure 13 : Accélérométrie – scores cliniques moteurs des chiens GRMD adultes (A) – corrélation avec la vitesse (B), la puissance totale (C) et la longueur des foulées (D) : illustration par droites de régression.



Les chiens GRMD sont représentés chacun par un symbole, figurant dans le tableau 3.

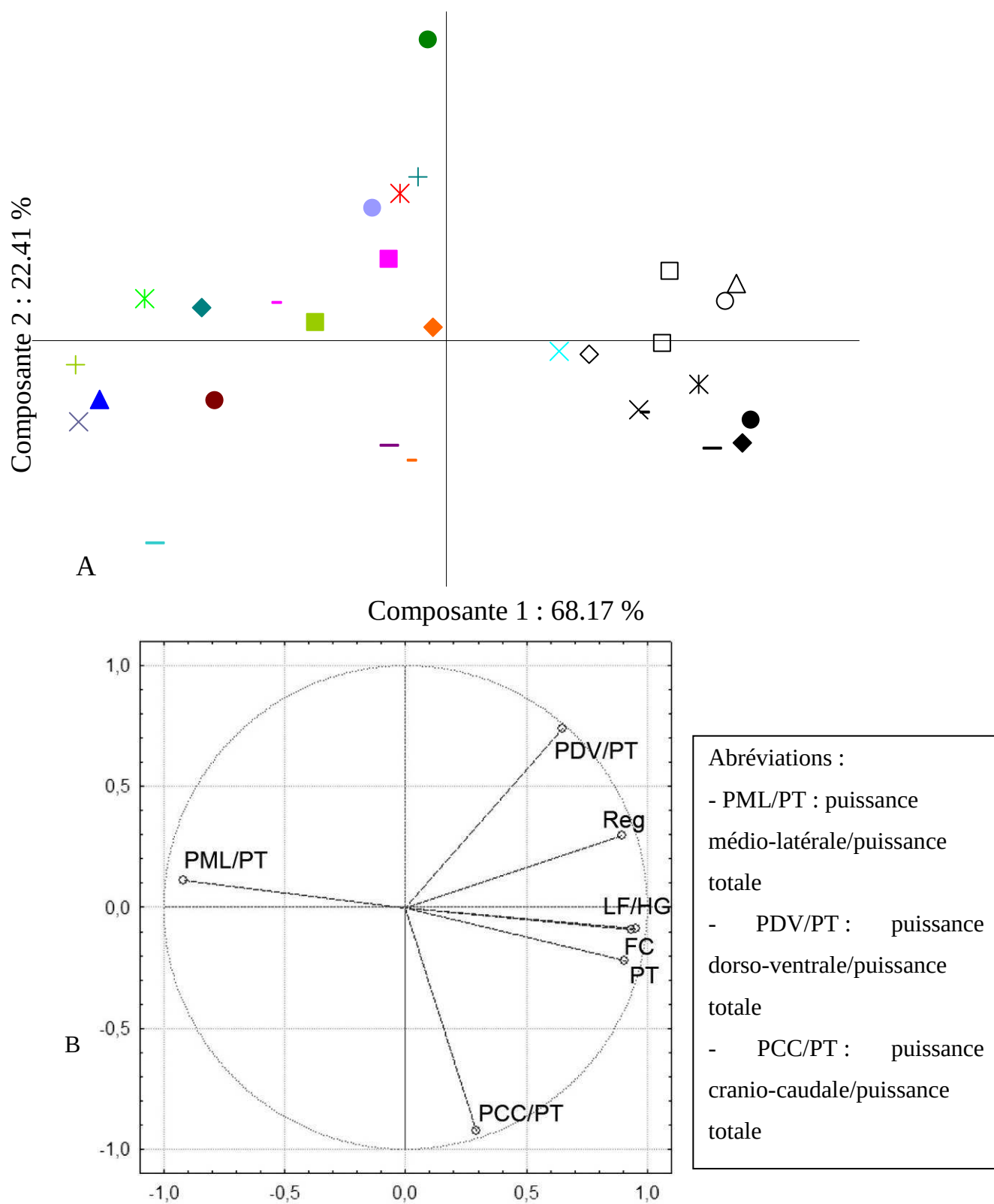
c) Analyse multivariée par analyse en composantes principales (ACP)

Afin de simplifier l'analyse et la lecture des données obtenues pour l'ensemble des variables, une analyse en composantes principales a été effectuée. Ce test statistique consiste à positionner des individus les uns par rapport aux autres, sans *a priori* de classement, c'est-à-dire dans le cas présent sans distinction chien sain-chien GRMD (contrairement à une analyse discriminante par exemple), en les éloignant le plus possible les uns des autres dans un espace à n dimensions (nommées composantes), n étant le nombre de variables définissant chaque individu (dans le cas présent, sept), en fonction de la valeur obtenue pour chaque variable et pour chaque individu. L'ACP doit son nom à sa représentation graphique qui projette individus et vecteurs de variables sur un plan à deux dimensions, suivant deux axes appelés composantes principales. Ces deux composantes visent à représenter au mieux le positionnement des individus dans les n dimensions, en deux dimensions. Plus ces deux composantes expliquent la variance des données, et plus la représentation graphique est juste, car moins d'information est alors perdue.

Le plan d'ACP produit grâce aux valeurs de sept variables (Fréquence des cycles, longueur des foulées/hauteur au garrot, régularité, puissance totale,

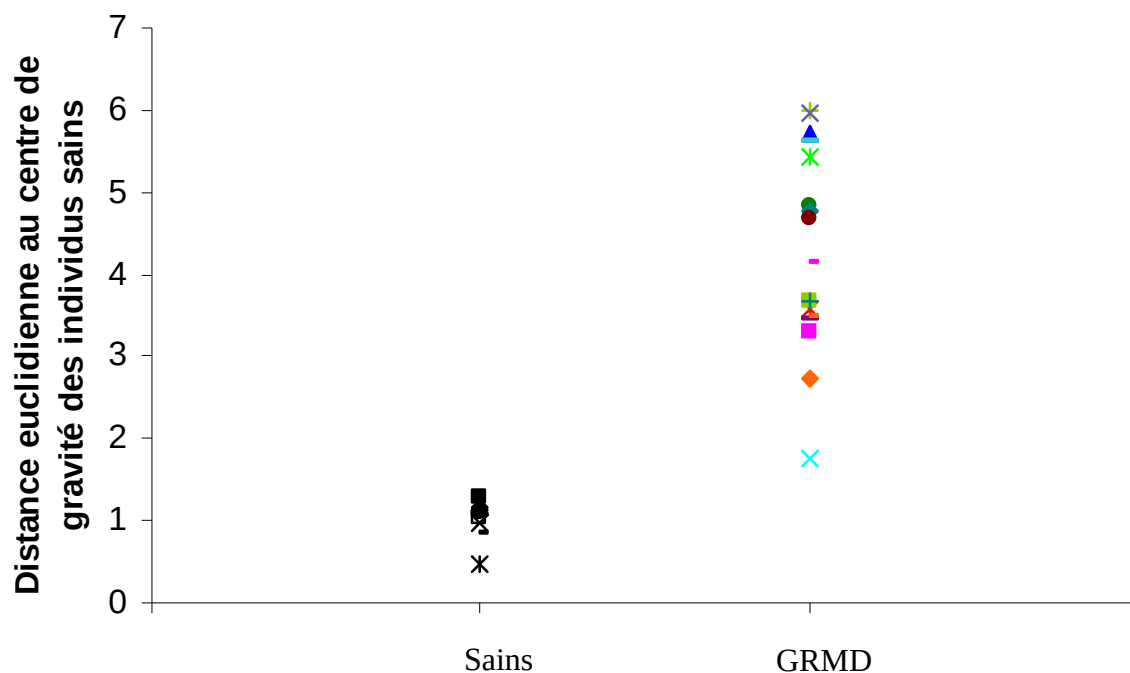
puissances relatives dans les trois axes) obtenues pour les 18 chiens GRMD et les 11 chiens sains permet d'expliquer 68,17 % de la variance par la composante 1 et 22,41 % par la composante 2, soit un total de 90,58 %. Très peu d'information est donc perdue par la projection des individus sur un plan à deux dimensions. Les plans de projection des individus et des variables sont présentés dans la figure 14. À la lecture de ceux-ci, il apparaît que la composante 1, qui explique plus des deux tiers de la variance, est essentiellement expliquée par la puissance médio-latérale relative, la puissance totale, la régularité dans une moindre mesure, la longueur des foulées normalisée par la hauteur au garrot et la fréquence des cycles, ces deux dernières variables apparaissant très probablement corrélées étant donné le positionnement très proche de leurs deux vecteurs. La deuxième composante est expliquée par les puissances dorso-ventrale et cranio-caudale relatives. Il apparaît, à la lecture du plan de projection des individus, que le positionnement des chiens GRMD est bien distinct de celui des chiens sains, et que la distinction des deux groupes est essentiellement expliquée par la composante 1. Le groupe de chiens sains apparaît comme un nuage de points relativement localisé sur la droite du plan (régularité, puissance totale, longueur de foulée et fréquence de cycle élevées, puissance médio-latérale relative réduite). La population de chiens GRMD apparaît par contre plus dispersée, mais bien distincte de la population de chiens sains car davantage localisée sur la gauche du plan, exception faite du chien T-Fal, dont la position est très proche du nuage des chiens sains. Cette analyse en composantes principales permet donc de situer les animaux les uns par rapport aux autres, en fonction des valeurs de sept variables de locomotion, et ce, en une seule représentation.

Figure 14 : Accélérométrie – analyse en composantes principales : projection des individus (A) et des variables (B) sur le plan d'ACP.



Toujours dans un souci de simplifier l'interprétation des résultats obtenus, il a été proposé de quantifier la position des individus sur ce plan d'ACP. La distance euclidienne de chaque chien par rapport au barycentre des animaux sains, considéré comme la position « normale » a donc été calculée, avec comme objectif de valider ce paramètre comme index global de locomotion. Le graphique de la figure 15 présente les valeurs obtenues pour cet index chez les chiens GRMD, en comparaison des chiens sains. Comme cela paraissait être le cas à la lecture du plan d'ACP, les individus GRMD décrits par cette nouvelle variable globale apparaissent bien séparés des individus sains. Une fois encore, le chien T-Fal est le plus proche de la population normale, mais n'entraîne pas de superposition entre les deux populations pour cet index. L'analyse de variance réalisée sur cette distance euclidienne confirme qu'elle distingue bien les deux populations, puisqu'elle démontre un effet groupe très significatif ($p < 0,0001$).

Figure 15 : Accélérométrie – analyse en composantes principales : valeurs de distance euclidienne au centre de gravité de la population normale, des individus GRMD, en comparaison des chiens sains.



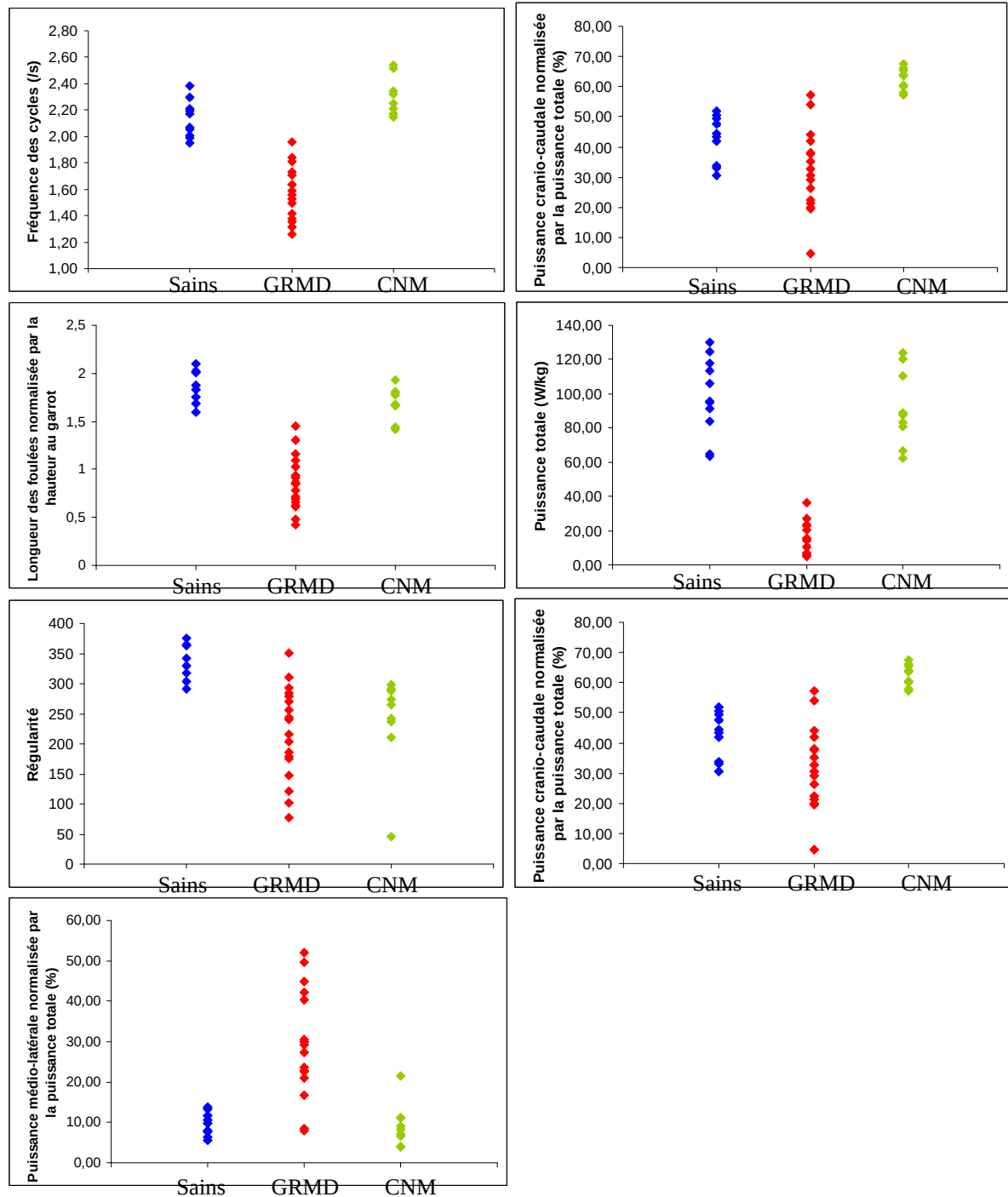
Les symboles de couleur représentent chacun un individu GRMD, et les symboles noirs chacun un individu sain. Ils sont consignés dans le tableau 3

d) Évaluation de la spécificité des anomalies locomotrices détectées chez les chiens GRMD

Afin de déterminer si les nombreuses anomalies locomotrices détectées par accélérométrie chez le chien GRMD sont spécifiques de cette myopathie canine, neuf chiens adultes atteints d'une autre myopathie, dite centronucléaire, ont été évalués. Contrairement à ce qui est observé chez les chiens GRMD, la vitesse rapportée à la hauteur au garrot, la fréquence des

cycles, la puissance totale, la puissance médio-latérale rapportée à la puissance totale et la force relative restent inchangées chez les chiens CNM. En revanche, une diminution significative de la régularité ($p = 0,0019$) et de la longueur des foulées rapportée à la hauteur au garrot ($p = 0,0097$) représente un point commun entre les deux myopathies, même si cette diminution n'est, pour la majorité des animaux pas aussi drastique que dans le cas des GRMD (figure 16). Le maintien de la vitesse, dans un contexte de diminution de la longueur de foulée, est probablement assuré par une discrète augmentation de la fréquence des cycles, sans que celle-ci n'atteigne le niveau fixé de significativité ($p = 0,0324$). L'originalité des anomalies de locomotion observées chez les chiens CNM réside dans une redistribution de la puissance dorso-ventrale, qui est très significativement diminuée ($p < 0,0001$), vers l'axe cranio-caudal, la puissance relative dans cet axe étant quant à elle très significativement augmentée ($p < 0,0001$). Ceci signe un défaut de propulsion verticale de ces chiens. Les graphiques de la figure 16 illustrent ces anomalies, en comparaison de celles observées chez les chiens GRMD, et de la situation normale.

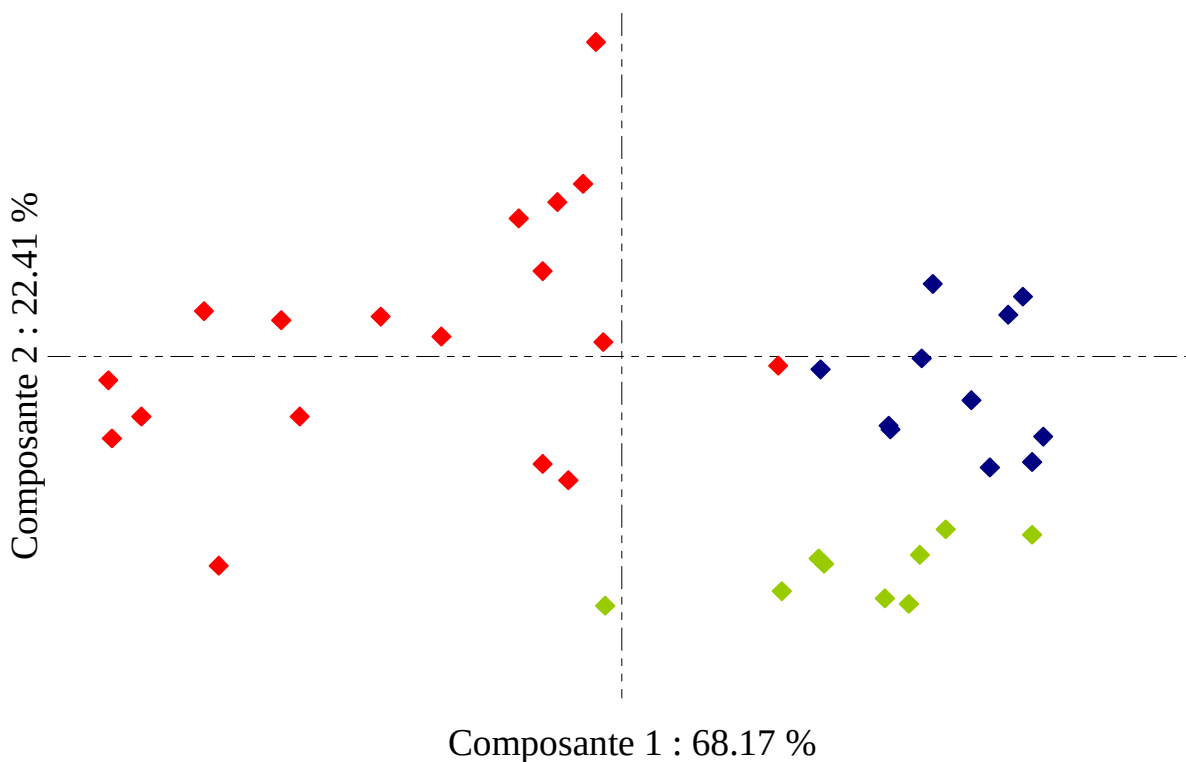
Figure 16 : Accélérométrie – spécificité des caractéristiques de marche mises en évidence chez le chien GRMD – comparaison avec un groupe de chiens CNM, des valeurs obtenues pour la fréquence des cycles, la longueur des foulées rapportée à la hauteur au garrot, la régularité, la puissance totale, et les puissances relatives dans les trois axes.



Points bleus : chiens sains ; points rouges : chiens GRMD ; points verts : chiens CNM.

La spécificité des anomalies de locomotion détectées par accélérométrie dans ces deux myopathies canines sont illustrées par la projection, comme individus supplémentaires, des chiens CNM sur le plan d'ACP précédemment décrit et illustré dans la figure 14. La figure 17 présente ce plan d'ACP. Il apparaît que les chiens CNM forment une population bien distincte des chiens sains, mais également des chiens GRMD, puisqu'ils sont situés en bas à droite du plan. Cette position basse est en liaison avec la diminution de puissance dorso-ventrale et l'augmentation de puissance cranio-caudale relatives. En parallèle, la puissance totale, et la puissance médio-latérale relatives ne sont pas modifiées, tandis que la fréquence des cycles et la longueur des foulées ne le sont pas suffisamment pour décaler la population CNM à gauche du plan d'ACP, comme l'est la population GRMD.

Figure 17 : Accélérométrie – spécificité des caractéristiques de marche mises en évidence chez le chien GRMD – projection des chiens CNM comme individus supplémentaires sur le plan d'ACP défini par les chiens GRMD et sains adultes.



Points bleus : chiens sains ; points rouges : chiens GRMD ; points verts : chiens CNM

II. Évaluation de la locomotion chez de jeunes animaux en cours d'évolution clinique

A) Matériel et méthodes

1) Matériel

Le matériel utilisé était identique à celui employé sur les chiens adultes.

2) Variables calculées

Les variables étudiées chez les chiens en croissance ont été celles déjà étudiées chez les adultes, à savoir :

- La vitesse / hauteur au garrot
- La fréquence des cycles
- La longueur des foulées / hauteur au garrot
- La régularité
- La puissance totale
- Les puissances relatives dans les trois axes
- La force relative

3) Déroulement du test

Le test s'est déroulé comme énoncé plus haut pour les chiens adultes. Lors du premier test, le chiot a tout d'abord été acclimaté quelques minutes au couloir, puis au port de la ceinture. Le test pouvait débuter lorsque le chiot était à l'aise. Les chiens ont été mesurés au garrot à la fin de chaque test.

4) Méthode

a) Animaux

Cette étude longitudinale a été conduite sur 30 chiens en croissance, dont six chiens golden retriever sains et vingt-quatre chiens GRMD. Les six chiens sains provenaient de la colonie GRMD et ont été hébergés dans les mêmes conditions que les chiens GRMD. Tous les chiots GRMD issus de la colonie sur une période de vingt mois ont été inclus dans cette étude. Les animaux entrant en protocole ont été exclus de l'étude. Chaque chien GRMD a fait l'objet d'un score clinique chaque mois.

Tableau 8 : Accélérométrie –suivi longitudinal – Animaux inclus dans l'étude, synthèse des tests réalisés et des allures utilisées.

Nom	Statut	Age (mois)														
		2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9
Ckan	Sain	T	T	T	T	T	T	na	T	T	T	na	T	T	T	T
Cbof	Sain	GC	T	T	T	T	T	na	T	T	T	na	T	T	T	T
Dclick	Sain	T	na	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Dclack	Sain	GC	na	T	T	T	T	T	T	na	T	T	T	T	T	T
Dzer	Sain	T	na	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Dzastre	Sain	GC	na	GC	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Dchou	GRMD	T	T	P	P	Perte locomotion 4 mois										
Dmo 	GRMD	B	B	B	B	na	B	Décès à 5 mois – complications diagnostiquées								
Dfois 	GRMD	T	T	T	T	M	M	M	Perte locomotion 5,5 mois							
Dsir 	GRMD	T	na	T	T	T	P	P	Perte locomotion 5,5 mois							
Dlire 	GRMD	B	B	B	T	T	B	T	T	T	T	T	T	P	T	Décès 9 mois – pneumonie
Dlice 	GRMD	T	B	B	B	B	na	T	T	T	T	T	P	T	T	
Dluge	GRMD	T	T	B	B	B	B	B	T	B	B	M	T	T	T	B
Dk 	GRMD	B	T	B	P	B	B	B	B	B	T	B	P	P	P	P
Dbrouille 	GRMD	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Dmon 	GRMD	B	T	B	B	T	T	T	P	T	T	T	T	P	na	P
Dalton	GRMD	B	na	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Didon 	GRMD	T	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	P	P	B	B
E,T, 	GRMD	T	T	T	T	T	T	B	na	T	Décès à 6 mois – anesthésie					
Ebam	GRMD	Na	B	T	T	T	T	B	P	na	T	P	T	T	T	T
Ebim 	GRMD	T	T	T	B	B	P	na	P	Perte locomotion 6 mois						
Eboum	GRMD	Na	na	T	T	P	T	T	T	na	T	T	P	T	T	T
Eiffel 	GRMD	T	T	T	T	P	na	T	T	Perte locomotion 6 mois						
Einstein 	GRMD	T	T	T	T	T	Perte locomotion 4,5 mois									
Eop 	GRMD	B	B	T	B	T	T	Perte locomotion 5 mois								
Ercule 	GRMD	T	na	T	T	T	T	T	T	na	T	T	T	T	Décès 8,5 mois – pneumonie	
Evian 	GRMD	B	B	P	P	Perte locomotion 4 mois										
Exon 	GRMD	T	T	B	T	na	P	P	Perte locomotion 5,5 mois							
Eject 	GRMD	T	nr	P	nr	P	Perte locomotion 4,5 mois									
Eaudvy 	GRMD	Na	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	P	T	T

A côté du nom de chaque chien figure le symbole qui sera utilisé dans les figures 18 à 29. Les cases grisées correspondent aux examens manquants. Dans les cases non grisées est indiquée l'allure conservée pour l'analyse. Abréviations : na : non analysable ; nr : non réalisé ; GC : galop circulaire ; T : trot ; B : bond ; P : pas.

b) Déroulement de l'étude

L'objectif de l'étude était de décrire l'évolution de la locomotion entre l'âge de deux mois et l'âge de neuf mois. Quinze tests étaient planifiés pour cette étude, soit un test toutes les deux semaines.

c) Analyse des données

Toutes les séquences de locomotion exploitables ont été analysées dans le logiciel Equimetrix ®. Lorsque plusieurs allures étaient utilisées au cours d'un test, celle permettant d'obtenir la meilleure valeur de régularité a été conservée pour l'analyse statistique. Ici, cet index a été utilisé comme indicateur de qualité de marche, et donc dans l'optique de déterminer l'allure à laquelle le chien était le plus à l'aise.

d) Analyse statistique

Une ANOVA à mesures répétées avec un facteur âge et un facteur groupe (sain versus GRMD) a été réalisée afin de déterminer l'effet de l'âge sur l'évolution des variables dans chacun des groupes, et les différences entre les deux groupes.

Un coefficient de corrélation de Pearson a été calculé, afin d'étudier les corrélations entre variables, et principalement entre variables d'accélérométrie et score clinique.

Des coefficients de variation, pour chaque variable et à chaque âge ont été calculés, en normalisant l'écart-type par la moyenne, de manière à étudier l'aptitude des différentes variables à décrire la dispersion de la population (c'est-à-dire son hétérogénéité).

Enfin, la distance euclidienne sur le plan d'ACP, déjà utilisée comme index global de marche chez les adultes, a été calculée chez les animaux en croissance, par projection des animaux de chaque catégorie d'âge, comme observations supplémentaires sur le plan d'ACP défini par les adultes. Les sept variables utilisées pour cette analyse étaient : la fréquence des cycles, la longueur des foulées / hauteur au garrot, la régularité, la puissance totale, et les puissances relatives dans les trois axes. La distance euclidienne au centre de gravité des chiens sains de la catégorie d'âge étudiée, dans l'espace à sept dimensions, a ensuite été calculée, puis soumise à une ANOVA à mesures répétées, de la même manière que les variables brutes. Un coefficient de corrélation de Pearson a également été calculé.

Le seuil de significativité a été fixé à $p = 0,01$.

B) Résultats

1) Déroulement des tests – évolution clinique des chiens

Tous les tests ont pu être effectués chez les chiens sains. Cependant, à l'âge de deux mois et demi, seuls les tests de deux animaux ont pu être analysés, les tracés des quatre autres étant trop instables et ne comportant pas de séquence de 10 secondes de locomotion stabilisée. Cet âge a donc été exclu des analyses statistiques.

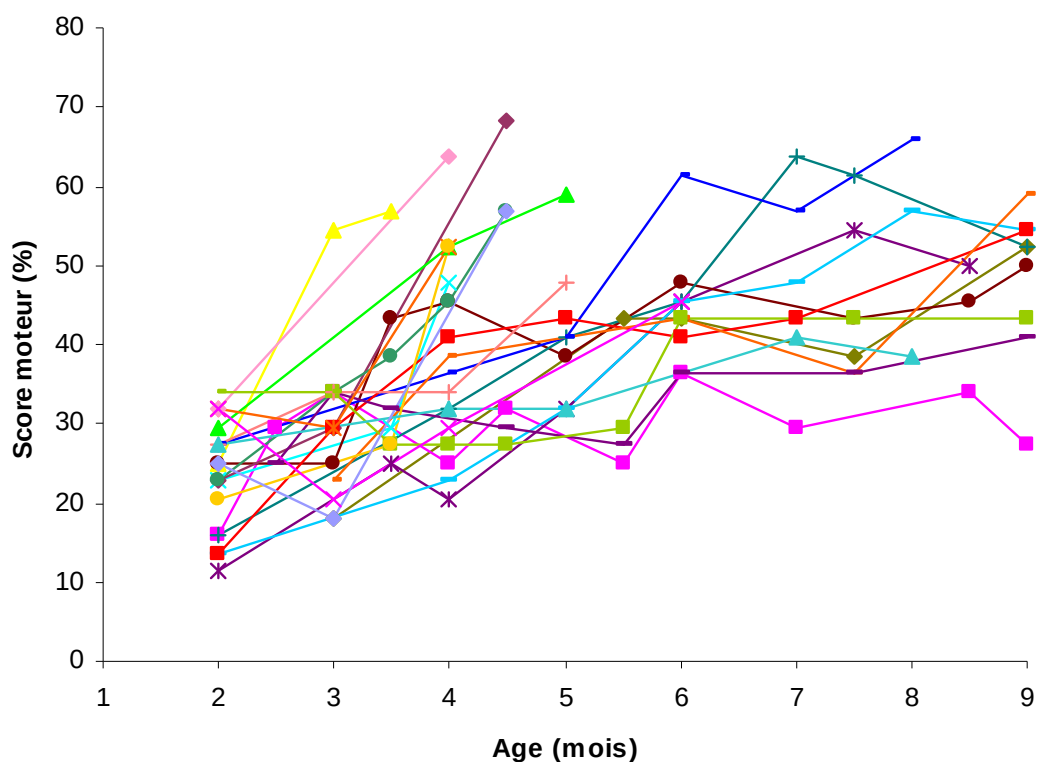
Seuls 10 chiens GRMD sur les 24 inclus ont pu être suivis jusqu'à l'âge de neuf mois. Parmi les 14 autres, 10 ont totalement perdu la locomotion avant l'âge de six mois, et ont dû être euthanasiés car ils se trouvaient en décubitus permanent. Deux des quatre autres animaux (Ercule et Dlire) sont décédés de bronchopneumonie peu de temps avant la fin de l'étude. Le chien Dmo est décédé, à l'âge de cinq mois, de complications digestives liées à l'engagement de son duodénum via le hiatus œsophagien, après réduction chirurgicale d'une hernie hiatale avec engagement de l'estomac. Le dernier chien, E.T., est mort suite à un arrêt cardio-respiratoire lors de l'induction de l'anesthésie au cours de laquelle un tube de gastrostomie devait lui être posé. Cette mesure, visant à assurer la bonne alimentation des animaux, a d'ailleurs été prise sur 14 des 24 chiens, dont neuf sur les 10 chiens ayant perdu la locomotion.

Enfin, 18 des 24 chiens GRMD ont présenté au moins un épisode de bronchopneumonie au cours de leur période de suivi par accélérométrie.

Sur le plan de la réalisation des tests, la majorité des chiots GRMD a pu réaliser les tests, et ce, dès l'âge de deux mois. Seul un chien GRMD, Eboum, s'est montré totalement réfractaire à la réalisation des deux premiers tests. Le premier test sur ce chien a donc été réalisé à l'âge de trois mois, après une période d'acclimatation au port de la ceinture durant quelques heures dans sa cage, qui s'est révélée être une solution efficace.

Les scores cliniques moteurs réalisés sur ces animaux témoignent de l'hétérogénéité existant entre les chiens GRMD de ce suivi longitudinal, reflet de celle de la population générale des chiens GRMD, déjà décrite et documentée par diverses équipes (3,168). Le graphique de la figure 18 montre l'évolution des scores moteurs des différents chiens avec l'âge sur la période étudiée.

Figure 18 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des scores cliniques moteurs chez les chiens GRMD



Chaque chien GRMD est représenté par un symbole différent. Ces symboles sont consignés dans le tableau 8.

2) Évolution des différentes variables de locomotion avec l'âge et l'évolution de la maladie.

Les résultats de l'analyse de variance à mesures répétées, ainsi que les moyennes et écart-types obtenus pour chaque âge et chaque variable dans les deux populations sont consignés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Accélérométrie – suivi longitudinal : résultats de l'analyse de variance (voir page suivante).

		V/HG	FC	LF/HG	Reg	PT	PDV/PT	PCC/P	PML/PT	Force
p (âge Sains)		0,0024 (↘)	<0,0001 (↘)	0,4769	0,0145 (↗)	0,1793	0,1075	0,3920	0,0089 (↘)	0,1412
p (âge GRMD)		0,0067 (↘)	0,0350 (↘)	0,0853 (↘)	0,4050	0,0902 (↘)	0,1856	0,6630	0,0969 (↗)	0,0034 (↘)
2 mois	p (Sains vs GRMD)	0,0003	0,0711	<0,0001	0,8669	<0,0001	0,7136	0,5409	0,5431	0,1314
	Moy (E-T) Sains	5,68 (0,71)	2,89 (0,14)	1,97 (0,21)	197,0 (40,8)	81,5 (13,5)	40,3 (6,1)	44,0 (6,2)	15,8 (3,9)	53,2 (4,8)
	Moy (E-T) GRMD	3,36 (1,01)	2,49 (0,51)	1,30 (0,22)	204,3 (55,3)	38,1 (18,3)	38,2 (11,4)	48,1 (14,6)	13,7 (7,3)	38,3 (14,9)
2,5 mois	p (Sains vs GRMD)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Moy (E-T) Sains	-	2,43 (0,01)	-	292,8 (53,3)	73,0 (14,0)	49,5 (3,9)	41,8 (3,3)	8,7 (0,6)	42,4 (5,2)
	Moy (E-T) GRMD	3,09 (0,85)	2,38 (0,49)	1,33 (0,25)	183,3 (44,4)	32,4 (12,8)	39,1 (13,3)	47,8 (12,2)	13,1 (6,1)	30,2 (7,7)
3 mois	p (Sains vs GRMD)	0,0036	0,4428	0,0002	0,1381	<0,0001	0,0187	0,0673	0,3800	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,76 (0,46)	2,42 (0,11)	1,94 (0,10)	187,3 (17,7)	93,4 (10,6)	44,6 (8,2)	42,5 (8,2)	12,9 (1,4)	43,5 (2,0)
	Moy (E-T) GRMD	2,81 (1,18)	2,24 (0,53)	1,23 (0,32)	182,6 (61,5)	29,8 (17,1)	33,8 (9,0)	50,8 (9,4)	15,4 (6,6)	28,5 (8,6)
3,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,4874	<0,0001	0,0256	<0,0001	0,0013	0,4231	0,0577	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,48 (0,34)	2,30 (0,16)	1,95 (0,07)	250,5 (30,6)	99,2 (14,4)	44,1 (3,1)	45,6 (2,8)	10,3 (1,5)	43,2 (4,8)
	Moy (E-T) GRMD	2,40 (0,87)	2,17 (0,46)	1,08 (0,26)	187,3 (62,0)	24,4 (11,2)	32,2 (7,8)	49,4 (11,3)	18,3 (9,8)	25,2 (6,5)
4 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,1394	<0,0001	0,0007	<0,0001	0,0018	0,1475	0,0786	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,63 (0,64)	2,31 (0,10)	1,93 (0,15)	255,9 (13,4)	96,4 (11,1)	49,4 (2,4)	39,0 (2,1)	11,6 (1,4)	36,7 (4,5)
	Moy (E-T) GRMD	2,35 (0,92)	2,01 (0,50)	1,14 (0,19)	189,7 (44,6)	21,6 (11,8)	31,8 (13,6)	47,1 (13,1)	21,1 (13,6)	21,3 (7,3)
4,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,4305	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3231	0,0395	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,39 (0,26)	2,19 (0,09)	2,01 (0,08)	256,5 (13,4)	97,3 (14,9)	50,0 (4,6)	40,6 (4,4)	9,4 (3,4)	42,2 (5,6)

	Moy (E-T) GRMD	2,18 (1,04)	1,98 (0,61)	1,06 (0,23)	169,2 (43,0)	22,3 (16,1)	28,0 (8,6)	47,1 (15,0)	24,9 (16,9)	21,2 (7,9)
5 mois	p (Sains vs GRMD)	0,0003	0,4208	<0,0001	0,0173	<0,0001	0,0293	0,5807	0,0767	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,33 (0,23)	2,23 (0,02)	1,94 (0,11)	266,3 (48,6)	105,5 (17,5)	47,9 (2,9)	41,1 (1,2)	11,0 (2,5)	36,7 (3,2)
	Moy (E-T) GRMD	2,30 (0,90)	2,01 (0,53)	1,12 (0,24)	180,4 (59,7)	24,7 (16,6)	33,0 (12,3)	44,7 (12,6)	22,3 (11,8)	21,4 (7,7)

		V/HG	FC	LF/HG	Reg	PT	PDV/PT	PCC/P	PML/PT	Force
5,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,2542	<0,0001	0,0057	<0,0001	0,0937	0,9766	0,0171	0,0006
	Moy (E-T) Sains	4,18 (0,25)	2,13 (0,07)	1,96 (0,11)	280,1 (37,0)	96,6 (13,0)	48,5 (2,8)	40,4 (2,5)	11,1 (2,1)	40,1 (5,7)
	Moy (E-T) GRMD	1,85 (0,72)	1,91 (0,46)	0,95 (0,19)	195,1 (57,8)	23,2 (16,2)	37,4 (15,1)	40,6 (14,4)	22,1 (9,9)	25,4 (9,7)
6 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,4779	<0,0001	0,0014	<0,0001	0,0006	0,1100	0,0230	0,0013
	Moy (E-T) Sains	4,36 (0,26)	2,12 (0,11)	2,05 (0,08)	277,6 (24,8)	90,8 (12,5)	54,9 (2,3)	36,2 (4,3)	8,9 (3,4)	49,4 (4,3)
	Moy (E-T) GRMD	2,05 (0,71)	1,96 (0,49)	1,03 (0,14)	218,7 (26,3)	24,8 (15,6)	34,5 (10,1)	46,5 (12,8)	18,8 (8,1)	21,9 (8,4)
6,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,1319	<0,0001	0,0201	<0,0001	0,0724	0,7160	0,0121	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,41 (0,32)	2,18 (0,07)	2,03 (0,10)	260,3 (23,8)	108,3 (7,9)	46,7 (3,0)	42,9 (3,2)	10,4 (3,4)	40,4 (4,6)
	Moy (E-T) GRMD	2,02 (0,70)	1,91 (0,41)	1,05 (0,23)	214,5 (38,0)	23,6 (12,8)	35,8 (13,5)	45,2 (14,5)	19,0 (6,9)	22,6 (5,5)
7 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,1032	<0,0001	0,0173	<0,0001	0,0462	0,7457	0,0018	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,72 (0,36)	2,25 (0,06)	2,10 (0,13)	273,1 (23,2)	109,4 (8,4)	45,6 (3,8)	45,8 (5,2)	8,6 (1,8)	46,7 (2,9)
	Moy (E-T) GRMD	1,88 (0,56)	1,85 (0,44)	1,00 (0,16)	214,2 (40,2)	20,3 (11,0)	33,8 (10,3)	43,4 (13,7)	22,8 (7,1)	21,5 (6,5)
7,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0208	<0,0001	0,1339	0,9122	0,0134	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,56 (0,41)	2,19 (0,12)	2,07 (0,11)	271,3 (36,8)	100,8 (13,2)	47,8 (6,0)	42,6 (7,7)	9,7 (3,0)	46,8 (5,0)
	Moy (E-T) GRMD	1,65 (0,42)	1,70 (0,13)	0,97 (0,21)	219,9 (37,3)	17,7 (10,7)	37,6 (14,3)	41,6 (18,7)	20,7 (9,3)	21,8 (9,0)
8 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,0004	<0,0001	0,0121	<0,0001	0,0068	0,4722	0,0035	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,68 (0,29)	2,17 (0,09)	2,15 (0,05)	277,7 (49,1)	108,2 (10,5)	45,6 (6,7)	43,5 (5,9)	10,9 (2,3)	49,3 (4,5)
	Moy (E-T) GRMD	1,58 (0,72)	1,73 (0,46)	0,90 (0,19)	213,4 (57,8)	20,1 (16,2)	30,3 (15,1)	48,2 (14,4)	21,5 (9,9)	24,3 (9,7)
8,5 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,0213	<0,0001	0,0046	<0,0001	0,0430	0,9715	0,0092	<0,0001
	Moy (E-T) Sains	4,45 (0,38)	2,19 (0,11)	2,03 (0,14)	289,9 (41,5)	104,2 (16,1)	47,1 (2,9)	40,6 (4,5)	12,3 (2,3)	47,9 (5,6)
	Moy (E-T) GRMD	1,67 (0,48)	1,80 (0,35)	0,93 (0,23)	227,8 (26,3)	18,5 (9,4)	36,0 (11,0)	40,9 (8,3)	23,1 (8,3)	21,4 (8,8)
9 mois	p (Sains vs GRMD)	<0,0001	0,0117	<0,0001	0,0520	<0,0001	0,0007	0,7725	0,0046	<0,0001

S	GRMD)									
	Moy (E-T) Sains	4,39 (0,19)	2,21 (0,10)	1,99 (0,05)	269 (34,7)	111,4 (12,1)	43,3 (3,0)	47,8 (3,4)	8,9 (2,6)	41,7 (2,0)
	Moy (E-T) GRMD	1,01 (0,65)	1,74 (0,37)	0,94 (0,26)	228,4 (32,6)	21,2 (14,6)	30,6 (6,4)	46,2 (13,0)	21,7 (8,8)	22,9 (8,7)

Les deux premières lignes du tableau contiennent les valeurs de significativité de l'effet âge, dans la population saine (première ligne) et la population GRMD (deuxième ligne), Les lignes suivantes contiennent les niveaux de significativité de l'effet groupe (sain versus GRMD) à chaque âge étudié, ainsi que la moyenne et l'écart-type de chaque variable et pour chacune des deux populations. Les résultats significatifs figurent en gras. Abréviations utilisées : Moy : moyenne ; ET : écart-type ; V/HG : vitesse, normalisée par la hauteur au garrot ; LF/HG : longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot ; Reg : régularité ; PT : puissance totale ; PDV/PT : puissance dorso-ventrale, normalisée par la puissance totale ; PCC/PT : puissance cranio-caudale, normalisée par la puissance totale ; PML/PT : puissance médio-latérale, normalisée par la puissance totale.

a) Évolution des différentes variables avec l'âge chez les chiens sains

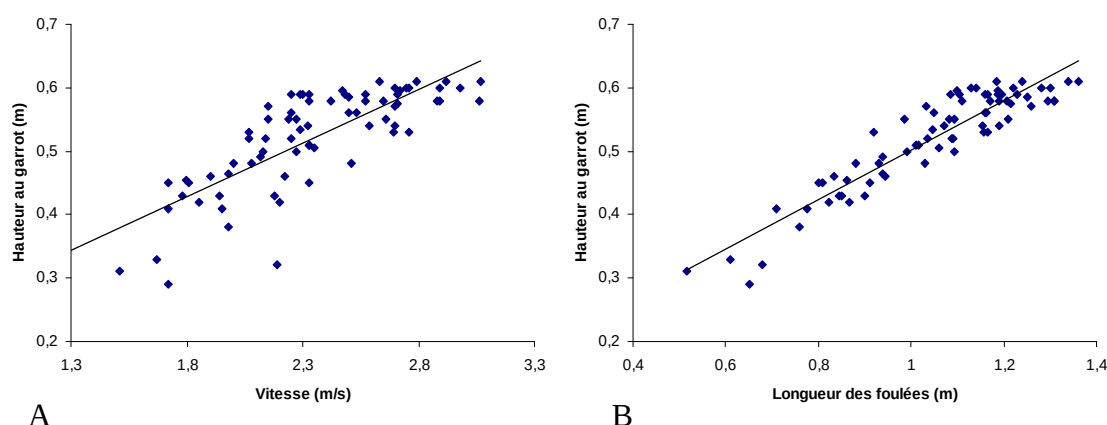
La description de l'évolution avec l'âge des différentes variables étudiées chez les chiens sains est nécessaire afin de pouvoir comparer celle des chiens GRMD à une situation de locomotion normale. Les graphiques des figures 20 à 27 montrent l'évolution de la moyenne des chiens sains pour chaque variable au cours du temps, plus ou moins un écart-type. Le choix de la représentation d'un écart-type et non de deux a été effectué en raison de la distribution non normale des données, donnant davantage de sens à la représentation d'un écart-type que de deux. Brièvement, les variables étudiées évoluent ainsi dans le détail :

La vitesse, normalisée par la hauteur au garrot, diminue significativement ($p = 0,0024$) avec l'âge. Ceci est probablement dû au fait que certains chiens utilisent le galop aux premiers tests, puis passent au trot en vieillissant (tableau 8). Cependant, la vitesse non normalisée montre une augmentation très significative avec l'âge ($p < 0,0001$). L'effet de la normalisation par la hauteur au garrot est donc non négligeable, mais l'importance de réaliser celle-ci est renforcée par le coefficient de corrélation entre vitesse et hauteur au garrot, qui s'élève à 0,78 ($p < 0,0001$). Le graphique A de la figure 19 illustre cette corrélation. Un tel effet de la taille sur la vitesse est donc à prendre en considération, d'autant plus qu'ici, les chiens GRMD ont une taille significativement ($p < 0,01$ dès trois mois) inférieure à celle des chiens sains.

La fréquence des cycles locomoteurs présente une diminution très significative ($p < 0,0001$) avec l'âge. Ceci explique probablement la diminution de la vitesse rapportée à la hauteur au garrot avec l'âge.

La longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot, ne subit pas d'effet âge ($p = 0,4769$). En revanche, ce paramètre non normalisé augmente avec l'âge et la croissance, comme le montre la forte corrélation entre la hauteur au garrot et la longueur des foulées ($R = 0,93$, $p < 0,0001$), illustrée par le graphique B de la figure 19. Une fois encore, ceci renforce la pertinence de la normalisation par la hauteur au garrot, dans le cadre d'une comparaison entre chiens de taille différente.

Figure 19 : Accélérométrie – suivi longitudinal – corrélations entre la hauteur au garrot et la vitesse (A), et la hauteur au garrot et la longueur des foulées (B) chez les chiens sains. Illustration par droites de régression.



Chacun des points bleus représente une mesure sur un animal à un âge donné.

La régularité augmente avec l'âge, mais de manière non significative ($p = 0,0145$).

La puissance totale, ainsi que les puissances dorso-ventrale et cranio-caudale relatives ne subissent pas d'effet lié à l'âge et à la croissance.

La puissance médio-latérale relative diminue de manière significative ($p = 0,0089$) avec l'âge

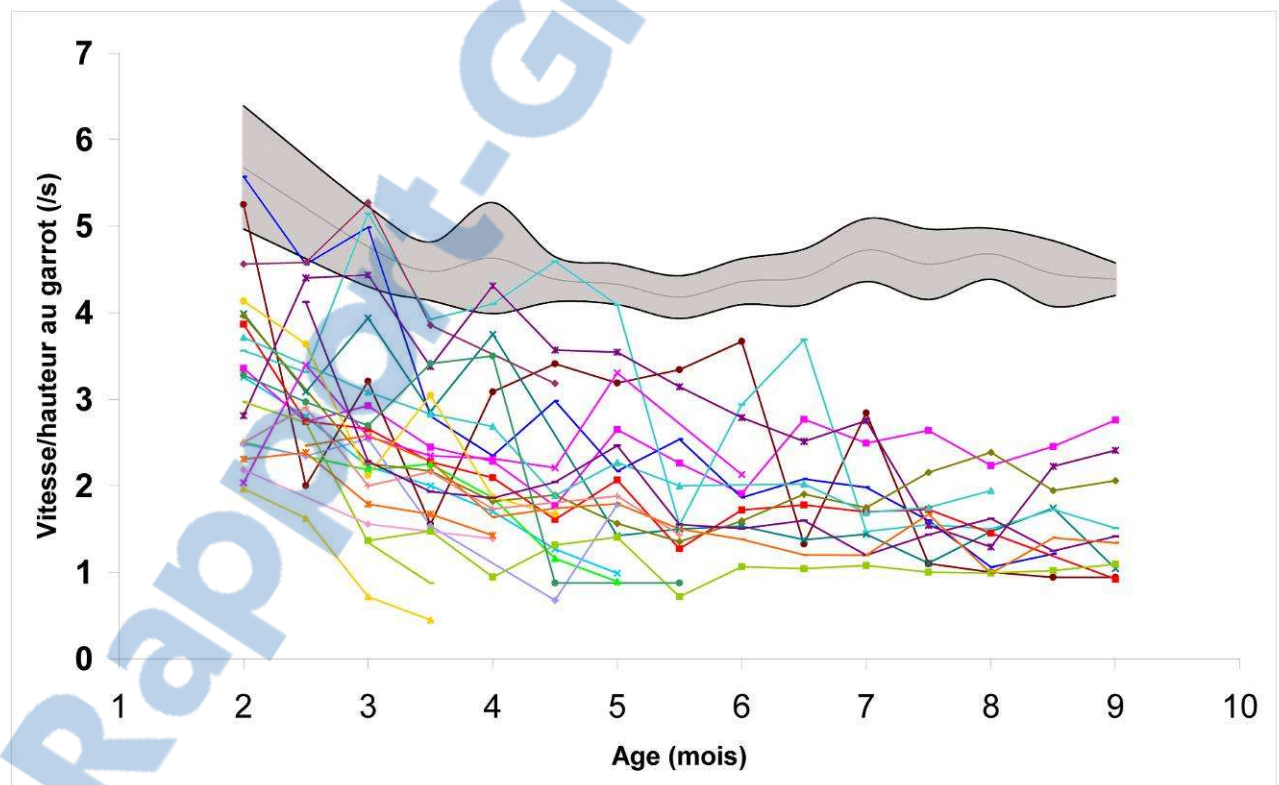
La force relative ne varie pas en fonction de l'âge.

b) Évolution des différentes variables avec l'âge et l'évolution de la maladie chez les chiens GRMD

Pour chacune des variables étudiées, les résultats de l'analyse de variance ainsi que les moyennes et écart-types à chaque âge figurent dans le tableau 9. Pour chacune des variables, l'évolution des chiens GRMD en comparaison des chiens sains est représentée dans les figures 17 à 24. Chaque chien y est représenté par un symbole et/ou une couleur différents, qui figurent dans le tableau 8. Il est important de noter que l'effet âge a été calculé sur cinq chiens GRMD seulement, car le logiciel Statistica élimine les animaux présentant des « trous », et donc notamment ceux qui sont décédés avant l'âge de neuf mois. Cet effet a donc été calculé sur une partie incontestablement moins touchée de la population GRMD de départ (Dalton, Didon, Dbrouille, Dk, Dluge).

La vitesse, normalisée par la hauteur au garrot, diminue de façon significative avec l'âge chez les chiens GRMD ($p = 0,0067$), comme c'est le cas également chez les chiens sains. Si cette variable distingue déjà bien les deux populations à l'âge de deux mois ($p = 0,0003$), il apparaît, à la lecture du graphique de la figure 20, que cette séparation des deux groupes s'accroît par la suite jusqu'à devenir complète à l'âge de cinq mois et demi, comme en témoignent également les résultats très significatifs de l'effet groupe rapportés dans le tableau 9, pour toutes les classes d'âge. Le graphique de la figure 20 témoigne également d'une nette hétérogénéité dans la population GRMD. Ainsi, la vitesse chute fortement et rapidement chez certains individus qui évoluent vers une perte de la locomotion, comme Evian, Dchou, Ebim ou encore Dsir. Cette chute est moins nette chez des animaux comme Dbrouille ou Dalton, chez qui une relative stabilité, voire même une augmentation se dessine. Entre ces deux situations, de multiples intermédiaires se dessinent.

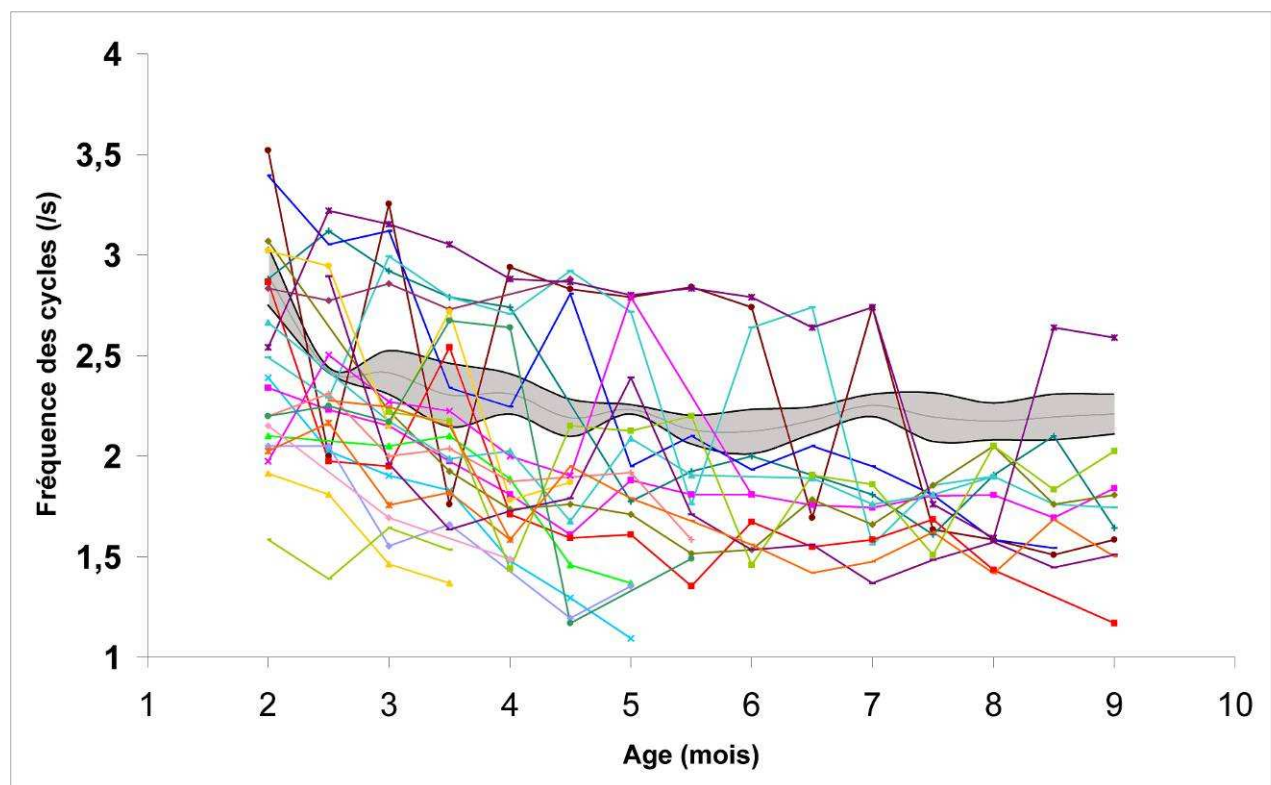
Figure 20 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la vitesse, normalisée par la hauteur au garrot chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains.

La fréquence des cycles, malgré une tendance vers la diminution, ne subit pas d'effet significatif ($p = 0,0350$) de l'âge chez les chiens GRMD. Cette variable, contrairement à la vitesse, ne distingue significativement les deux groupes qu'à quelques points tardifs (après sept mois et demi). Le graphique de la figure 21 permet d'expliquer ces résultats. Il montre en effet que certains chiens présentent une forte diminution de la fréquence des cycles locomoteurs, qui s'accroît avec l'âge, mais que d'autres ont une fréquence augmentée. Cette augmentation de fréquence, qui conduit d'ailleurs à des valeurs très élevées, atteignant plus de 3,5 cycles par seconde, correspond à l'utilisation, par les chiens GRMD, d'une allure qui leur est propre et qui est appelée galop en bonds (tableau 8, annexe 1). Il s'agit d'une allure fréquemment employée par les jeunes chiots GRMD, et certains animaux la maintiennent sur plusieurs mois (Dk, Dluge ou Didon, qui l'emploie encore à neuf mois). Cependant, la majorité des chiens GRMD, et en particulier ceux qui perdent la locomotion, présentent des valeurs de fréquence qui se situent progressivement en deçà de celles observées chez les chiens sains.

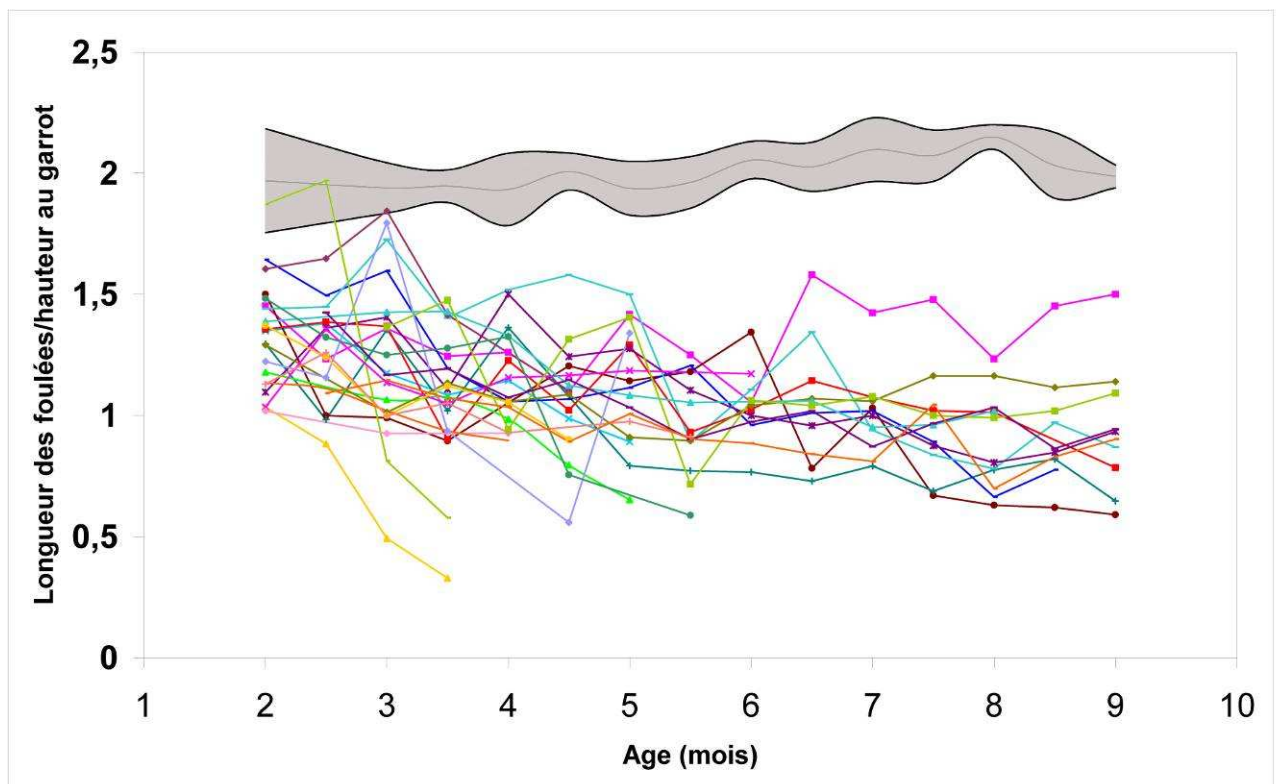
Figure 21 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la fréquence des cycles locomoteurs chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

La longueur des foulées, rapportée à la hauteur au garrot, malgré une tendance vers la diminution, ne subit pas d'effet significatif ($p = 0,0853$) de l'âge chez les chiens GRMD. Néanmoins, il s'agit d'une variable très significativement ($p < 0,001$) diminuée dès l'âge de deux mois, et qui le demeure jusqu'au dernier test, à neuf mois. Cette forte distinction apparaît nettement sur le graphique de la figure 22. Il apparaît également de nouveau une hétérogénéité d'évolution, entre des chiens qui, avant de perdre la locomotion, présentent une chute très importante et à des niveaux très bas de la longueur de leurs foulées, d'autres animaux qui raccourcissent très progressivement leurs foulées, et le chien Dbrouille qui rallonge les siennes à partir de six mois.

Figure 22 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains.

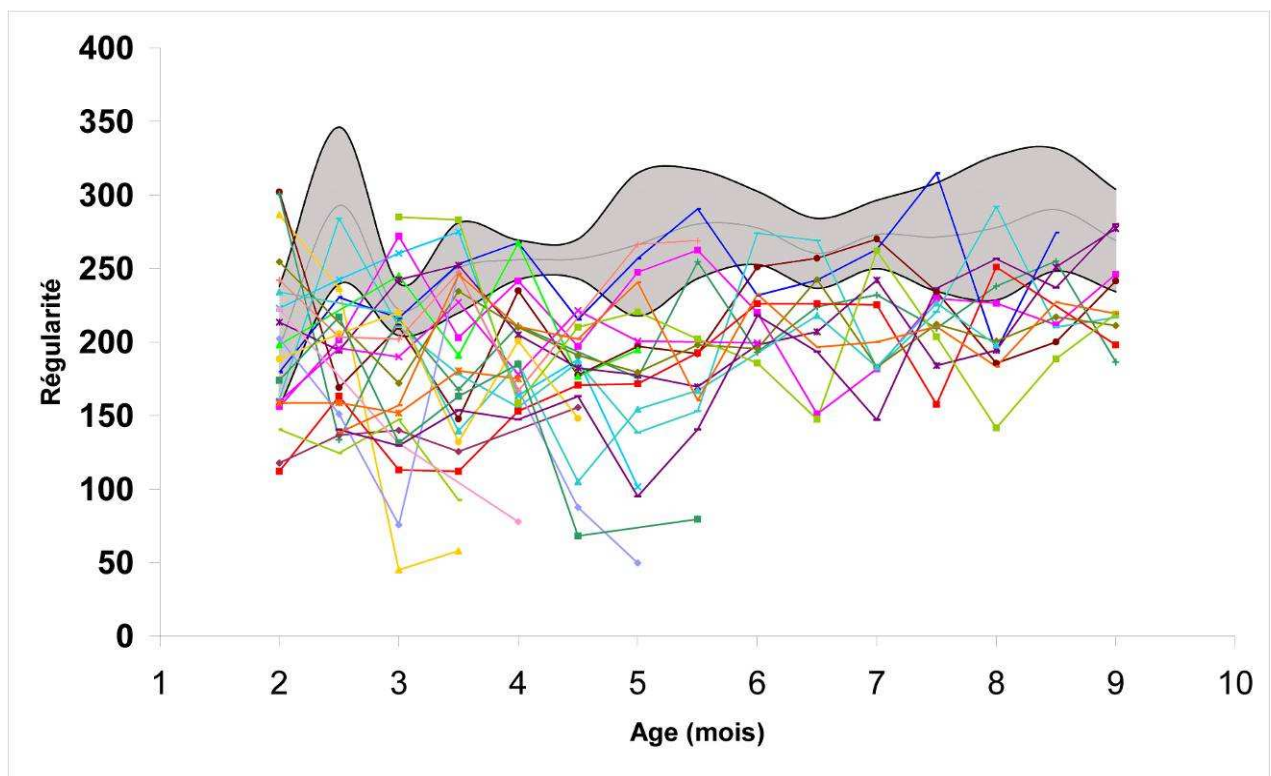


Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains



La régularité ne montre aucune modification significative avec l'âge ($p = 0,4050$) chez le chien GRMD, tandis qu'elle augmente avec l'âge chez les chiens sains. Cependant, à quelques temps d'examens (quatre mois, quatre mois et demi, cinq mois et demi, six mois et demi, et huit mois et demi), les chiens GRMD se montrent significativement moins réguliers que les chiens sains. À la lecture du graphique de la figure 23, il apparaît en effet que les deux populations ne sont jamais très nettement séparées. Par ailleurs, si la plupart des chiens GRMD montre un global maintien de leur régularité, certains animaux chutent pour cet index de manière spectaculaire, le plus souvent juste avant une perte de locomotion, contribuant alors très probablement à rendre ponctuellement significative la différence entre chiens sains et chiens GRMD.

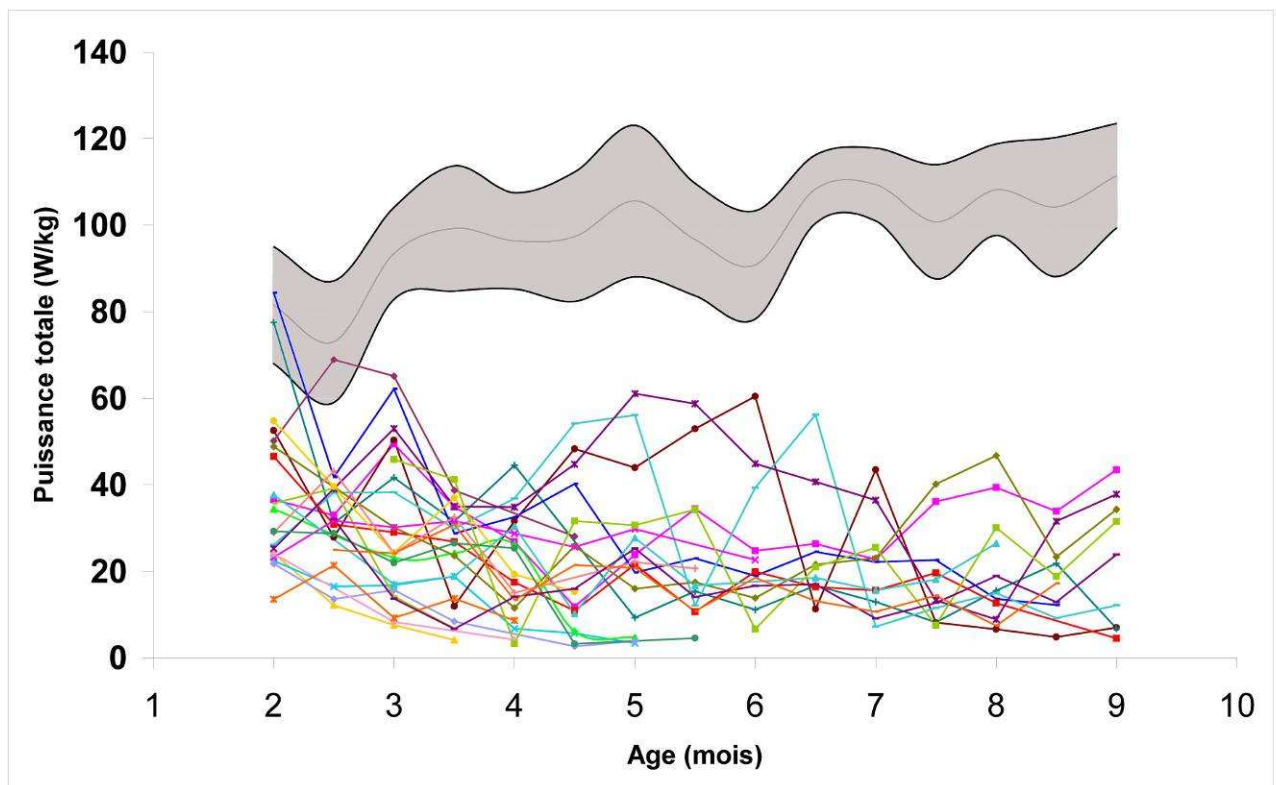
Figure 23 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la régularité chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

La puissance totale, malgré une tendance vers la diminution, ne subit pas d'effet significatif de l'âge ($p = 0,0902$). Cependant l'effet groupe est, lui, très significatif dès l'âge de deux mois, et le reste jusqu'à neuf mois. Cette forte distinction entre chiens GRMD et chiens sains par cette variable est illustrée par le graphique de la figure 24, qui montre que, déjà à deux mois, les chiens GRMD ont pour certains des valeurs très faibles de puissance totale (< 30 W/kg). Certains animaux (en particulier Didon, Dluge et Dk) montrent une évolution « en dents de scie » pour cette variable, comme pour la vitesse. Ceci est à relier à l'utilisation intermittente de galop en bonds, allure plus puissante que le trot ou la marche chez le chien GRMD, mais dont la puissance n'égale toutefois pas celle d'un chien sain au trot.

Figure 24 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance totale chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains

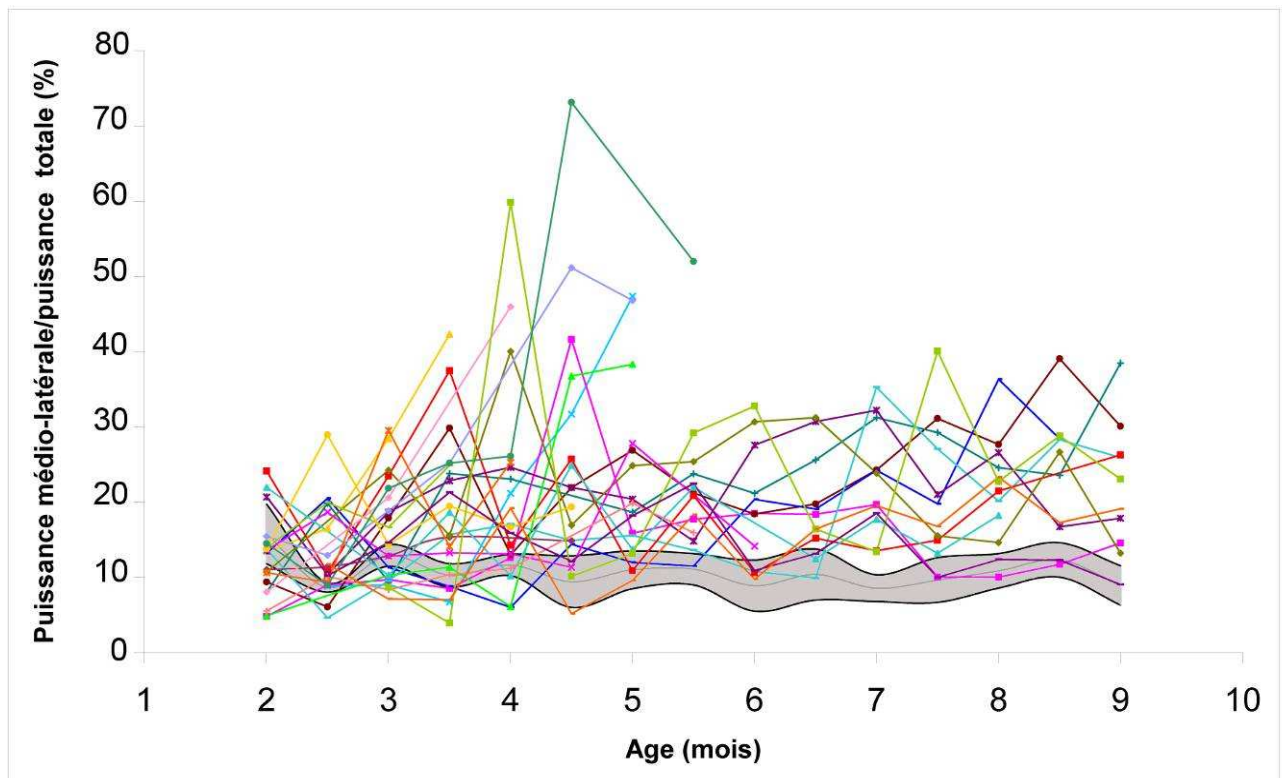


Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains



Les puissances relatives dans les trois axes ne montrent pas de modification significative liée à l'âge, malgré une discrète tendance à l'augmentation de la puissance médio-latérale relative ($p = 0,0969$). Au vu des résultats présentés dans le tableau 9 et le graphique de la figure 25, l'augmentation de la puissance médio-latérale est un évènement tardif, puisque la différence avec les chiens sains ne devient significative qu'à partir de sept mois. Cependant, cette variable reste normale chez certains chiens, même à ces stades tardifs (Dbrouille, Ebam). De la même façon que pour d'autres variables, les chiens perdant la locomotion augmentent leur puissance médio-latérale relative jusqu'à des niveaux très importants, avant leur perte de locomotion.

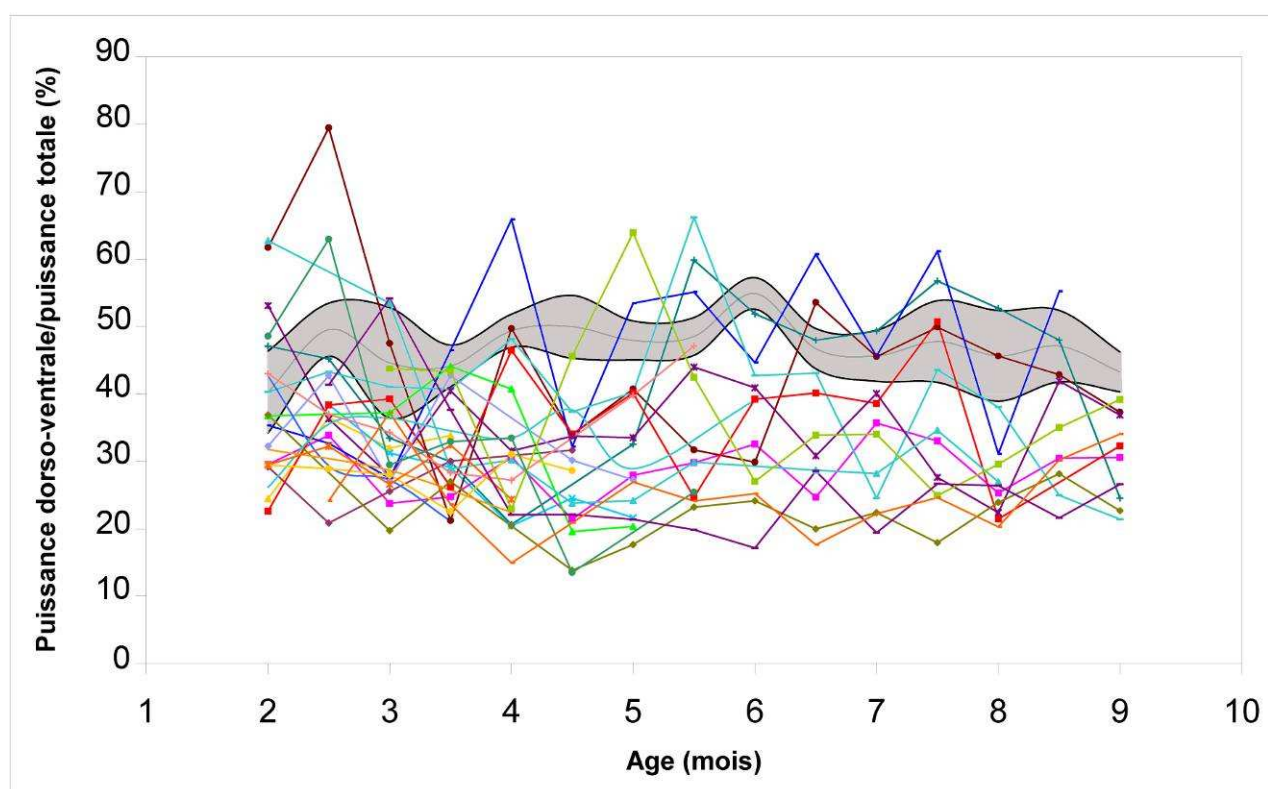
Figure 25 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance médio-latérale relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

Si **la puissance dorso-ventrale relative** n'était pas modifiée chez les adultes, force est de constater qu'une diminution significative de celle-ci est observée à plusieurs reprises dans ce suivi longitudinal, et avant les modifications de puissance médio-latérale. Le graphique de la figure 26 illustre cette diminution de puissance dans l'axe vertical.

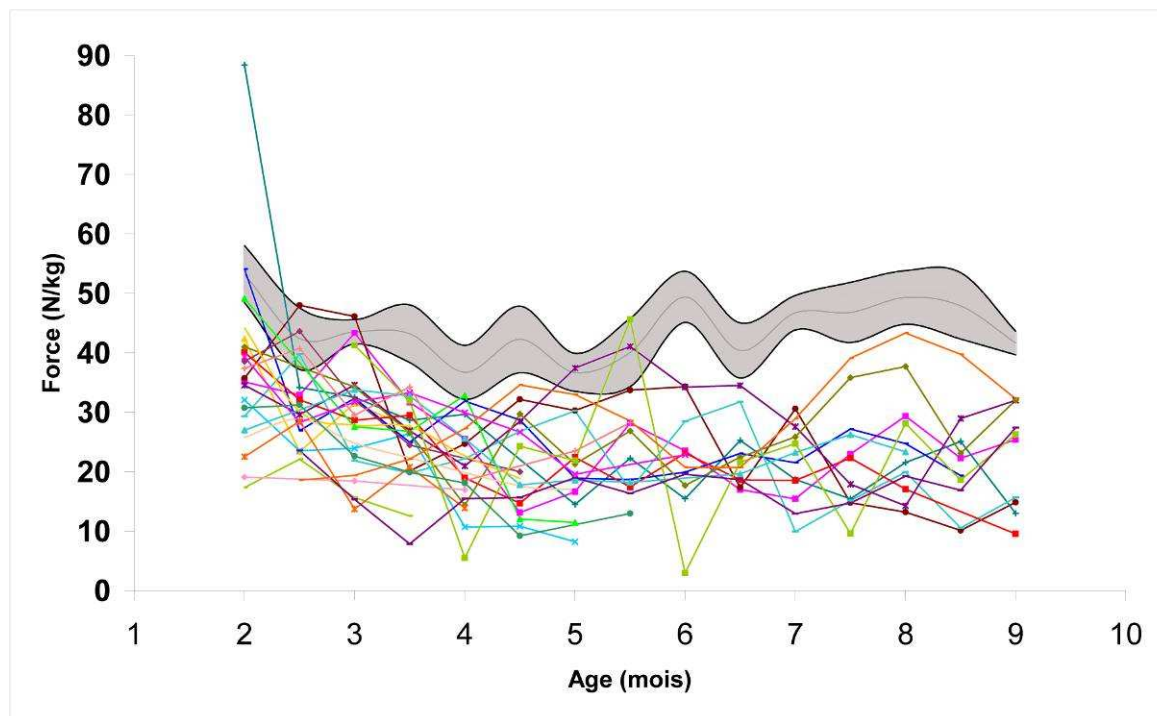
Figure 26 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la puissance dorso-ventrale relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) $\pm$ 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

La force relative diminue de manière significative avec l'âge ($p = 0,0034$) chez le chien GRMD, ce qui n'est pas le cas chez le chien sain. Le graphique de la figure 27 montre que cette variable distingue de manière assez efficace les deux populations, comme en témoignent les niveaux de significativité obtenus pour l'effet groupe à tous les âges, à partir de trois mois (tableau 9). À l'âge de deux mois, un individu, Dlice, présente une valeur de force relative extrêmement élevée. Ce chiot a en effet, au premier test, produit une locomotion puissante (77,5 W/kg), avec néanmoins une vitesse réduite (0,88 m/s), en liaison avec sa petite taille (0,220 m). Il s'agissait d'ailleurs du plus petit chien à cet âge, après le chien Dfois (0,215 m).

Figure 27 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution de la force relative chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains

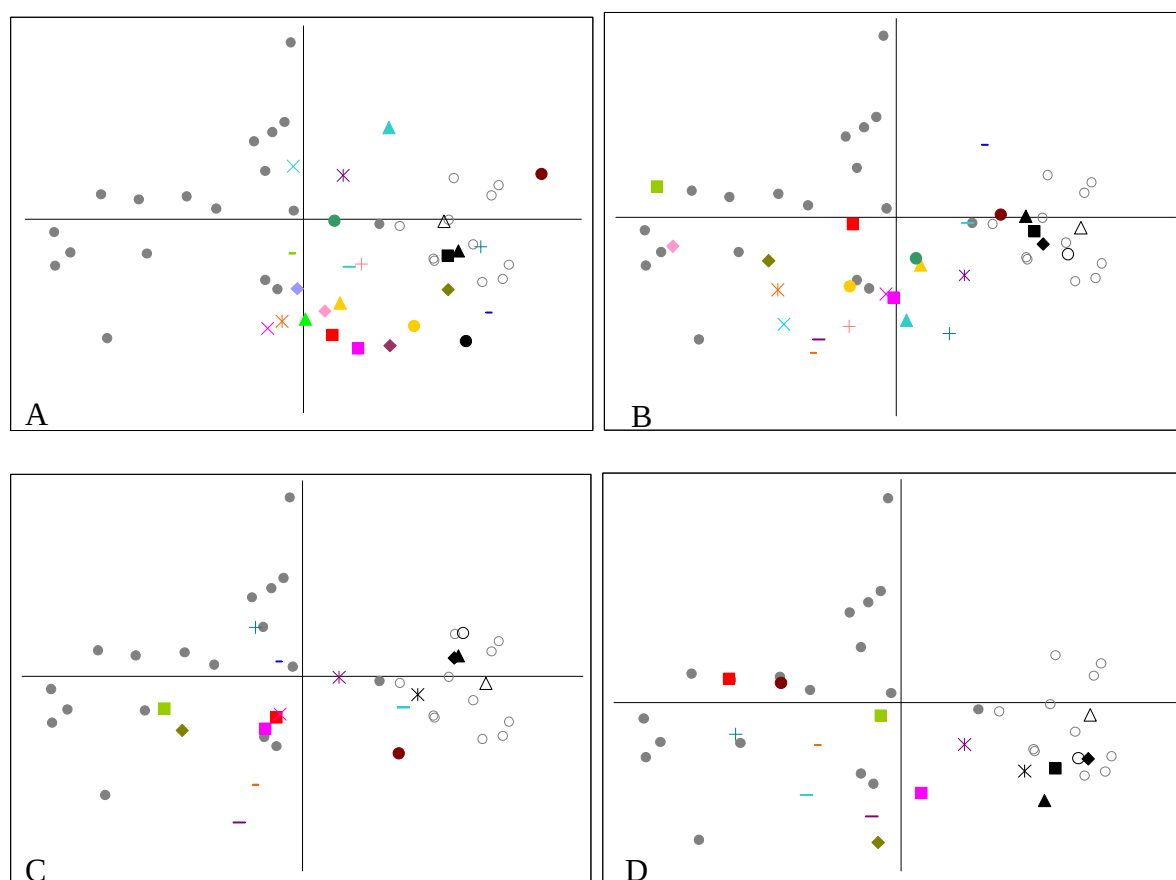


Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

c) Utilisation de l'ACP et de la distance euclidienne au centre de gravité des chiens sains comme index global de locomotion

Les chiens sains et GRMD décrits par les sept variables choisies pour l'analyse en composantes principales ont été projetés, comme individus supplémentaires, sur le plan d'ACP précédemment décrit et obtenu chez les chiens adultes. L'objectif est ici de suivre l'évolution de la locomotion des chiens suivant toutes ces variables au cours du temps, en étudiant leur déplacement sur le plan d'ACP. Les graphiques de la figure 28 montrent la position des chiens étudiés dans le cadre du suivi longitudinal sur le plan d'ACP à l'âge de deux, quatre, six et neuf mois. Les chiens adultes, individus actifs, sont représentés par des symboles grisés, pleins pour les GRMD et vides pour les chiens sains. Il apparaît que les chiens sains en croissance (symboles noirs) se superposent à tout âge au nuage de points des chiens sains adultes, et se déplacent peu sur le plan d'ACP. Ceci n'est pas le cas des chiens GRMD. À l'âge de deux mois (graphique A), ils ne se superposent pas à la population GRMD adultes. Par contre, ils ne se confondent pas non plus avec les individus sains : la position de la majorité des individus évoque celle des individus CNM adultes (figure 17), à la différence près qu'ils sont déjà décalés vers la gauche du plan, traduisant la chute précoce de la puissance totale, et de la longueur des foulées notamment. À l'âge de quatre mois (graphique B), la population de chiens GRMD est déjà plus étalée, et se superpose au nuage de points des chiens adultes, en se localisant néanmoins essentiellement dans la zone basse du plan, très probablement en liaison avec la chute de puissance dorso-ventrale relative. À l'âge de six (graphique C) et neuf (graphique D) mois, cette superposition est encore observée, malgré le plus faible nombre d'animaux. Il est intéressant de noter que les chiens suivent des parcours différents : certains s'éloignent progressivement du nuage de chiens sains, signant une aggravation de leur locomotion (Dmon, Dlice, Dluge ou Dk par exemple), tandis que d'autres, après s'en être éloignés, s'en rapprochent aux temps les plus tardifs (Dbrouille, Eboum, Didon ou Dalton, par exemple).

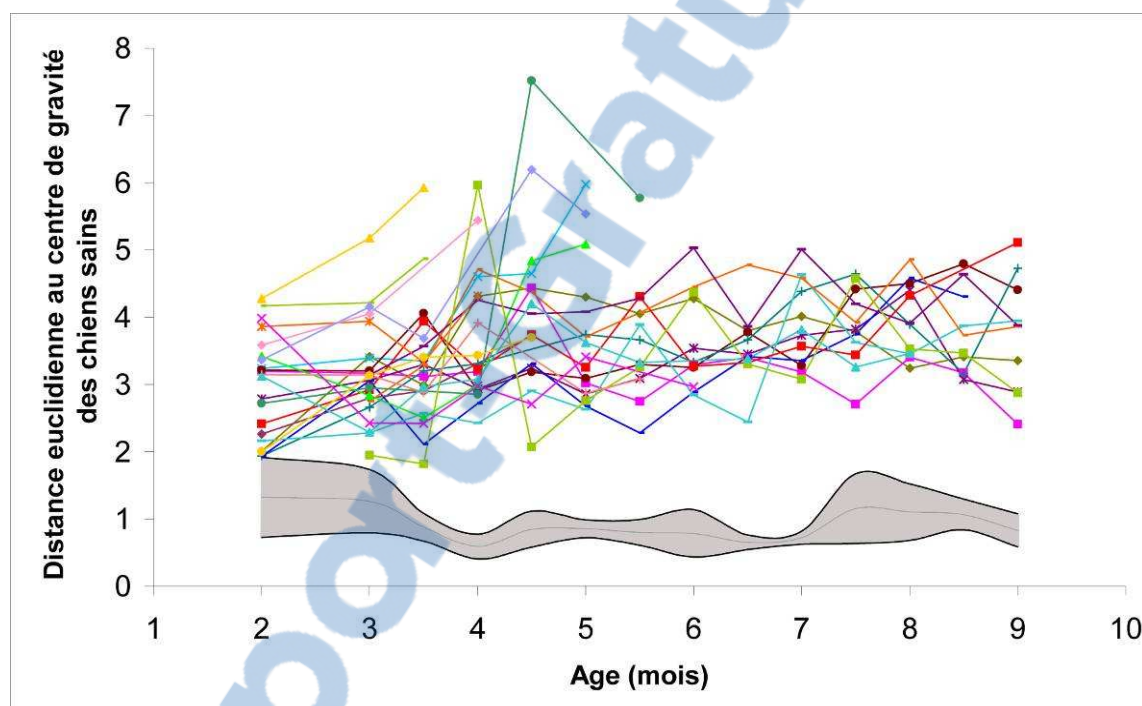
Figure 28 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des chiens GRMD sur le plan d'ACP calculé pour les adultes



Les animaux actifs pour l'élaboration de ce plan d'ACP sont les animaux utilisés dans l'étude sur chiens adultes. Ils sont représentés ici par des cercles gris pleins pour les GRMD, et vides pour les chiens sains. Les chiens en croissance ont été projetés comme individus supplémentaires, et sont représentés par les symboles qui leur sont associés (tableau 8). A : projection des chiens de deux mois ; B : projection des chiens de quatre mois ; C : projection des chiens de six mois ; D : projection des chiens de neuf mois.

Afin de quantifier le déplacement des chiens sur le plan d'ACP et de disposer d'un index global de locomotion, la distance euclidienne de chacun des chiens par rapport au centre de gravité des chiens sains du même âge a été calculée. Celle-ci est augmentée chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains, dès l'âge de deux mois ($p = 0,0002$), et cette différence se maintient aux temps suivants ($p < 0,0001$ à tous les temps). La distance euclidienne chez les chiens GRMD augmente avec l'âge, mais de manière non significative (effet âge : $p = 0,0728$). Le graphique de la figure 29 montre l'évolution de ce paramètre avec l'âge chez les chiens GRMD, en comparaison des chiens sains.

Figure 29 : Accélérométrie – suivi longitudinal - évolution de la distance euclidienne au centre de gravité de la population normale, chez les chiens GRMD en comparaison des chiens sains



Les chiens GRMD sont représentés par leurs symboles propres (tableau 8), par comparaison avec la moyenne (ligne grise) ± 1 écart-type (lignes noires, espace grisé) des chiens sains

d) *Corrélation des différentes variables au score clinique moteur*

Les résultats obtenus pour les coefficients de corrélation de Pearson au score clinique moteur des différentes variables montrent que toutes les variables sont significativement corrélées au score clinique moteur, sauf la puissance dorso-ventrale relative et la régularité. Ces corrélations sont inverses, sauf pour la puissance médio-latérale et la distance euclidienne, qui sont les seules variables positivement corrélées, puisque leur valeur augmente avec l'évolution de la maladie, tout comme le score moteur.

Les valeurs de coefficients de corrélation, qui figurent dans le tableau 10, ne sont cependant pas très élevées, signant des corrélations peu marquées dans l'ensemble. La vitesse, ainsi que la longueur des foulées, normalisées par la hauteur au garrot, montrent néanmoins des corrélations intéressantes (respectivement $R = -0,61$; $-0,65$; $p < 0,0001$).

Tableau 10 : Accélérométrie – suivi longitudinal – coefficients de corrélation au score clinique moteur obtenus pour les différentes variables

	V/HG	FC	LF/HG	Reg	PT	PDV/PT	PCC/PT	PML/PT	Force	D_{eucl}
<i>R</i>	-0,61	-0,48	-0,65	-0,07	-0,51	-0,10	-0,33	0,46	-0,45	0,46
<i>p</i>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,4292	< 0,0001	0,2816	0,0002	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

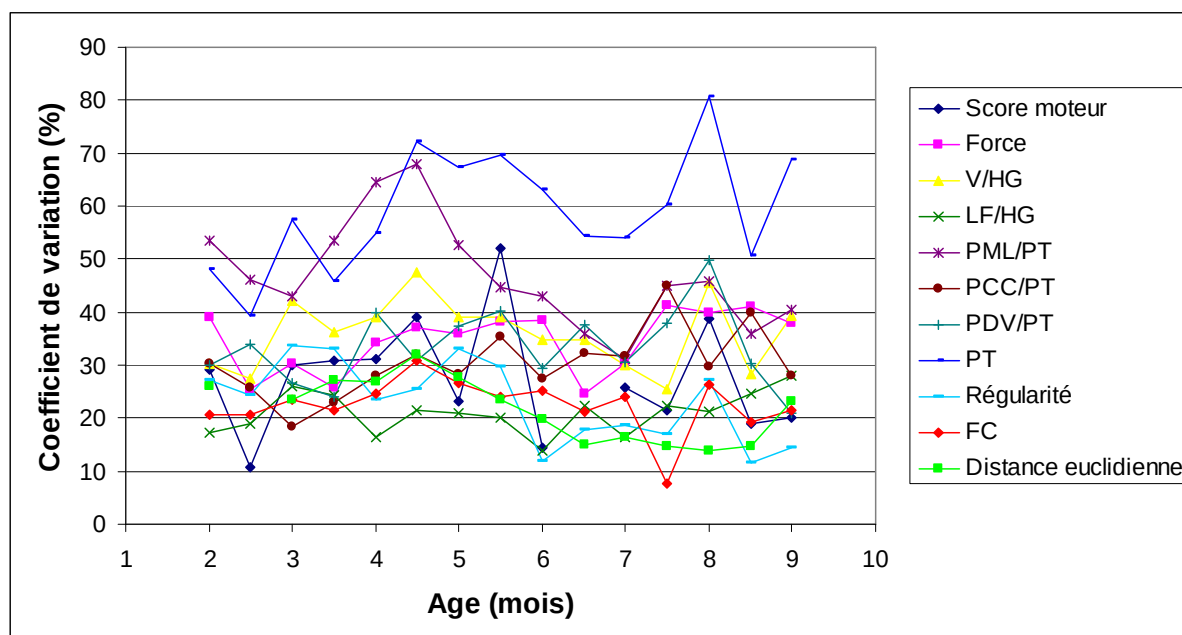
La première ligne de résultats contient les valeurs obtenues pour le coefficient *R* de corrélation de Pearson au score clinique moteur, pour chacune des variables, et la deuxième ligne le niveau de significativité associé. Les résultats significatifs figurent en gras.

Abréviations utilisées : V/HG : vitesse, normalisée par la hauteur au garrot ; FC : fréquence des cycles ; LF/HG : longueur des foulées, normalisée par la hauteur au garrot ; Reg : régularité ; PT : puissance totale ; PDV/PT : puissance dorso-ventrale, normalisée par la puissance totale ; PCC/PT : puissance cranio-caudale, normalisée par la puissance totale ; PML/PT : puissance médio-latérale, normalisée par la puissance totale ; D_{eucl} : distance euclidienne au centre de gravité des chiens sains.

e) Capacité comparée des différentes variables à expliquer la dispersion de la population

Évaluer la capacité des différentes variables à retranscrire quantitativement l'hétérogénéité de la population GRMD permet également d'appréhender la sensibilité de chacune des variables à des différences entre animaux. La comparaison des coefficients de variation obtenus pour les différentes variables et à chaque âge permet de positionner les variables les unes par rapport aux autres suivant leur capacité à disperser la population. Le graphique de la figure 30 illustre cette comparaison. À sa lecture, il apparaît que la puissance totale est, de manière très nette, la variable pour laquelle les coefficients de variation sont les plus importants. Des variables telles que la régularité, la fréquence des cycles ou la longueur des foulées témoignent en revanche de manière moins importante de la dispersion des individus. De plus, il est important de souligner que de nombreuses variables d'accélérométrie expliquent, mieux que le score clinique moteur, la dispersion de la population.

Figure 30 : Accélérométrie – suivi longitudinal – évolution des coefficients de variation des différentes variables avec l'âge chez les chiens GRMD



DISCUSSION

L'accélérométrie, utilisée et évaluée ici comme outil d'analyse de marche chez le chien GRMD, a montré dans cette étude qu'elle pouvait répondre à la majorité des critères du cahier des charges, énoncés en introduction. En effet, son apparente simplicité de mise en application s'est avérée réelle : la phase d'apprentissage, à une exception près s'est révélée très rapide, et peu d'animaux se sont montrés gênés par le dispositif de mesure. De plus, des tracés exploitables ont été obtenus à la très grande majorité des tests. La durée du test, d'environ quinze minutes du moment où le chien est sorti de sa cage, jusqu'au moment où il y est replacé, est également une preuve évidente de la simplicité d'utilisation de cette méthode, surtout si l'on compare ce temps d'examen aux temps rapportés pour la cinématique par exemple. Ainsi, alors qu'il est possible d'évaluer quatre chiens environ en une heure par accélérométrie, une journée entière de travail ne permet d'évaluer que trois patients en cinématique (152). Étant donnée la fatigabilité des chiens GRMD, cet élément constitue un atout essentiel de la méthode décrite ici. Enfin, la phase d'analyse des tracés peut être qualifiée de rapide, puisqu'une fois la zone de locomotion stabilisée sélectionnée sur le tracé d'accélération dorso-ventrales, un clic suffit à calculer l'ensemble des variables.

Un autre critère énoncé dans le cahier des charges était l'aptitude de la méthode de mesure à détecter des anomalies de locomotion chez le chien GRMD, et à les quantifier. Sur ce point encore, la méthode choisie s'est avérée efficace : de nombreuses variables se sont montrées capables de distinguer, de manière souvent très tranchée, les chiens GRMD des chiens sains, et ce, à l'âge adulte comme au cours de la croissance. De surcroît, ce fossé existant entre les deux groupes d'animaux n'empêche pas les variables étudiées de détecter de manière quantitative des différences entre chiens à l'intérieur même de la population GRMD, et de refléter ainsi l'hétérogénéité de cette maladie, déjà bien décrite, mais jamais réellement quantifiée (3,168).

Cette étude constitue le premier travail publié, employant l'accélérométrie comme outil d'analyse de marche chez le chien (15,16). Aussi, il est intéressant de confronter les données obtenues à celles présentes dans la littérature. Chez le chien, les données disponibles et comparables sont essentiellement la vitesse, la fréquence des cycles et la longueur des foulées, calculées à partir d'enregistrements de cinématique. Les données obtenues pour ces variables chez les chiens adultes de la présente étude ont été comparées à celles publiées dans deux articles différents (2,66), choisis pour leurs valeurs de vitesse imposée proche de celle spontanément employée par les chiens sains décrits ici. La comparaison de ces résultats est présentée dans le tableau 11. Il est intéressant de noter que la vitesse des chiens sains, intermédiaire entre celle des deux études considérées, est expliquée par une fréquence de cycle et une longueur de foulées également intermédiaire. Il

existe donc une cohérence entre les données obtenues ici chez les chiens sains par accélérométrie, et celles publiées chez des chiens de même type racial, par cinématique. La valeur moyenne de régularité obtenue chez les chiens sains adultes a été comparée à celle obtenue chez des patients d'âge compris entre 20 et 29 ans (10). En effet, aucune donnée concernant cette variable n'existe dans la littérature chez le chien. De plus, connaissant la méthode de calcul de cet index, la nature bipède ou quadrupède de la locomotion ne doit pas modifier la valeur obtenue, et une comparaison pertinente peut donc être effectuée entre les deux espèces, du moins pour les allures à deux temps (trot chez le chien vs marche chez l'homme). La régularité moyenne s'avère quasiment identique entre les deux espèces, puisqu'un écart de deux points seulement est observé.

En résumé, les données obtenues chez les animaux sains sont en adéquation avec les données existant dans la littérature, ce qui représente un argument en faveur de leur validité, dans un contexte où la méthode de mesure n'a pas été validée dans l'espèce canine, par comparaison directe avec l'une des deux méthodes de référence que sont cinétique ou cinématique. Ce point constitue d'ailleurs une limite de cette étude, qui sera abordée plus loin. Sur les chiens GRMD, rares sont les publications permettant la même comparaison, puisque la première étude d'analyse de marche publiée dans ce modèle a été le travail de comparaison chiens sain-chiens GRMD adultes présenté ici (16). Néanmoins, une étude de cinématique sur des chiens GRMD, adultes également, a été publiée quelques semaines plus tard, et permet de comparer les vitesses de ces animaux, qui sont dans les deux cas choisies par l'individu étudié (102). Cette comparaison permet de mettre en évidence que les chiens GRMD adultes de l'étude de cinématique marchent en moyenne plus vite que les chiens GRMD considérés ici, alors que ces mêmes chiens sont en moyenne plus petits. Cette nette différence peut s'expliquer par une atteinte clinique plus prononcée dans le groupe de chiens français que dans le groupe américain, traduisant peut-être une divergence d'évolutions entre les deux colonies, ayant pourtant une origine commune, mais des évolutions parallèles depuis de nombreuses années. Cette différence de vitesse peut également s'expliquer par le fait que, dans l'étude de cinématique, les chiens étaient tenus en laisse, donnant moins de sens au terme de vitesse choisie par l'animal. Une vitesse d' 1 m/s constituant un pas très lent pour un opérateur humain (10), il est possible que le guidage par la laisse ait contribué à pousser les chiens à accélérer.

Tableau 11: Comparaison des données obtenues dans cette étude chez les chiens adultes aux données existant dans la bibliographie

	Vitesse chiens sains (m/s)	Fréquence cycles chiens sains (/s)	Longueur des foulées chiens sains (m)	Régularité chiens sains	Vitesse chiens GRMD (m/s)	Hauteur au garrot chiens GRMD (m)

Moy (ET) présente étude	2,42 (0,36)	2,15 (0,14)	1,13 (0,12)	330,7 (27,5)	0,75 (0,32)	0,54 (0,05)
Moy (ET) données littérature	1,95 (0,08) (Allen et al. 1994)	1,88 (0,14) (Allen et al. 1994)	1,01 (0,06) (Allen et al. 1994)	328,7 (38,0) (human subjects)	1,18 (0,34) (Marsh et al. 2009)	0,49 (0,04) (Marsh et al. 2009)
	2,87 (0,44) (Gillette and Zebas 1999)	2,36 (0,21) (Gillette and Zebas 1999)	1,21 (0,15) (Gillette and Zebas 1999)	(Auvinet et al. 2002)		

Abréviations : Moy : moyenne ; ET : écart-type

Les différentes variables étudiées ont permis d'établir une histoire naturelle quantifiée de l'évolution de la locomotion chez le chien GRMD, de l'âge de deux mois, considéré comme l'âge d'apparition des premiers signes cliniques locomoteurs, à l'âge adulte.

Dès l'âge de deux mois, et jusqu'à l'âge adulte, la vitesse spontanément adoptée par le chien, c'est-à-dire sa vitesse de confort, est effondrée. Cette perte de vélocité s'explique dans un premier temps par une réduction majeure de la longueur des foulées, dès l'âge de deux mois, et qui continue de diminuer jusqu'à l'âge adulte. En début d'évolution, seule cette diminution de longueur de foulée explique la perte de vitesse. En effet, à ce stade, la fréquence des cycles n'est pas diminuée chez tous les animaux. Certains d'entre eux parviennent même à l'augmenter de manière importante, maintenant ainsi à ce stade une vélocité subnormale. Cette augmentation de fréquence est à relier à l'utilisation du galop dit « en bonds ». Cette allure particulière, basée sur une propulsion synchrone des deux antérieurs puis des deux postérieurs (annexe 1), est une allure primitive, normalement employée, chez les grands mammifères tels que le chien, exclusivement dans les phases d'accélération et de décélération précédant et suivant un galop circulaire (177). Le maintien de cette allure comme allure stabilisée de prédilection chez les chiens GRMD pourrait être interprété comme une stratégie leur permettant de produire davantage de puissance en utilisant deux membres synchronisés, et d'éviter les phases d'appui sur un seul membre, que leur imposerait un galop circulaire classique (137,177) (annexe 1). Ce n'est donc que dans un deuxième temps que l'ensemble des chiens diminuent leur fréquence de cycles locomoteurs, participant ainsi un peu plus à la perte de vitesse.

En liaison avec cette diminution de vitesse, la puissance totale est également effondrée de manière précoce. Il s'agit ici d'une des variables les plus discriminantes, et ce, à tout âge. Cette perte de puissance constitue donc, tout comme la vitesse et la longueur des foulées, une modification primaire

de la locomotion du chien GRMD. La puissance étant un produit de la vitesse et de la force, cette diminution pourrait s'expliquer simplement par la chute de vitesse. Afin de vérifier cela, l'index nommé force relative (car exprimé en N/kg), calculé en normalisant la puissance totale par la vitesse, a été créé. Cet index s'est avéré être également diminué, dès les stades précoces de l'évolution de la maladie. Ceci permet donc d'expliquer la très forte diminution de la puissance totale par la réduction de la vitesse, mais également par l'effondrement de la force générée au cours de la locomotion.

Cette puissance totale effondrée à tout âge, l'est, en début d'évolution, de manière homogène dans les trois axes. Rapidement, une chute de la puissance dorso-ventrale, donc de l'impulsion verticale, est observée. Puis, une redistribution de cette puissance dorso-ventrale vers l'axe médio-latéral est mise en évidence. Chez certains animaux, cette situation se maintient, et chez d'autres, la puissance dorso-ventrale relative finit par se normaliser à des stades tardifs (après neuf mois), tandis que la puissance cranio-caudale chute à son tour, toujours avec une redistribution médio-latérale. Le premier événement, qui est la chute de puissance dorso-ventrale, traduit une faiblesse de propulsion, et représente un point commun avec les caractéristiques locomotrices observées dans le modèle CNM. Les chiens CNM présentent, comme les chiens GRMD, une faiblesse musculaire, qui entraîne probablement un défaut de propulsion verticale, démontré par la diminution importante de puissance dorso-ventrale relative, sans chute de la puissance totale. Néanmoins, si la démarche des chiens CNM est effectivement peu sautillante à l'œil, et donne une impression globale d'hypotonie, elle n'est jamais raide, comme elle peut l'être chez le chien GRMD. La puissance médio-latérale relative, qui augmente progressivement dans ce modèle, traduit et quantifie le balancement qui se produit au cours de la locomotion des chiens GRMD, et qui contribue à l'impression de raideur perçue par l'observateur. Cette augmentation de puissance médio-latérale relative peut probablement être mise en relation avec les contractures et ankyloses articulaires entravant la souplesse de mouvements durant la locomotion. Notamment, il est fréquent d'observer une ankylose des antérieurs en abduction, ainsi que des difficultés à fléchir les articulations proximales, ce qui entraîne des mouvements de circumduction des membres durant la marche. Par ailleurs, le balancement observé durant la locomotion des chiens GRMD, et quantifié par la puissance médio-latérale relative, pourrait être mis en relation avec une nécessité pour l'animal de se stabiliser au cours de la phase de déséquilibre du cycle locomoteur, en supportant son poids de manière importante d'un côté pour permettre au membre controlatéral d'effectuer son mouvement de protraction.

Il s'agit là de l'une des nombreuses similitudes qui peuvent être relevées, entre les stratégies de locomotion employées par les patients atteints de DMD et les chiens GRMD. En effet, les patients atteints de myopathie de Duchenne augmentent leur polygone de sustentation, positionnent leurs bras en abduction et montrent un balancement des épaules au cours de la marche

(48,159). Ces éléments sont supposés être des adaptations pour maintenir l'équilibre. Cette modification n'est cependant pas la première chez les patients, qui commencent par diminuer leur longueur de foulée (48,159), puis leur fréquence de cycles locomoteurs. Cette évolution n'est pas sans rappeler celle décrite ici chez les chiens GRMD. Ainsi, au-delà des différences majeures de locomotion qui peuvent exister entre bipèdes et quadrupèdes, il est surprenant de constater qu'une même maladie entraîne des conséquences sur la locomotion, ainsi que des stratégies d'adaptation identiques dans deux espèces différentes, l'une bipède et l'autre quadrupède. Cependant, la perte de locomotion, systématique chez le patient, reste beaucoup plus rare chez le chien, bien que concernant une partie importante de la population de chiens GRMD de cette étude. Ceci s'explique très probablement par le fait que les patients finissent par atteindre un stade, auquel ils ne sont plus capables de développer des stratégies de compensation de la phase de déséquilibre de la marche, et sont donc contraints à l'usage du fauteuil roulant. La quadrupédie confère probablement au chien GRMD une protection vis-à-vis de cette perte de la gestion de l'équilibre au cours de la marche.

C'est probablement la raison pour laquelle la régularité ne représente pas la variable la plus discriminante chez le chien GRMD. Cet index est décrit comme diminué chez des patients sujets aux chutes, donc aux pertes d'équilibre (52,73). La perte de régularité est attribuée chez ces patients à une moindre coordination motrice, qui conduit à des difficultés à produire des adaptations rapides en cas d'obstacle. Certains chiens GRMD chutent également lors du franchissement d'un obstacle, ou même au cours de la locomotion. Ceci explique probablement la perte de régularité chez certains individus plus touchés, et notamment la diminution brutale de cet index avant une perte de locomotion, qui traduit dans ce cas la difficulté de l'animal à maintenir un équilibre et une stabilité au cours de la marche, difficulté qui représente très probablement la cause de la perte de locomotion. Chez les patients atteints de DMD, cet index n'a jamais été évalué, faute d'études employant l'accélérométrie, mais il est probable que la régularité soit diminuée chez ces individus, qui sont sujets à des chutes fréquentes dès le début de leur maladie, et perdent progressivement leur capacité à maintenir un équilibre correct durant la locomotion (189).

Parmi les nombreuses variables étudiées, certaines présentent davantage d'intérêts que d'autres, suivant les situations rencontrées, et les objectifs énoncés. Ainsi, l'utilisation de variables altérées précocement telles que la vitesse, la puissance totale ou la longueur des foulées, peut être envisagée dans le cadre de l'évaluation d'animaux inclus très tôt dans des essais thérapeutiques, qui pourraient permettre de prévenir les modifications primaires de la locomotion de ces animaux. Un bénéfice apporté par un traitement administré en phase néonatale pourrait donc être démontré dès l'âge de deux mois par une amélioration de ces variables par rapport à un groupe de chiens non traités, traduisant alors probablement une moindre faiblesse locomotrice. L'utilisation de ces mêmes variables pourrait

également être envisagée pour évaluer une « réversion » de la maladie après un traitement plus tardif. L'amélioration de ces anomalies primaires de locomotion pourrait être considérée comme un argument en faveur d'un bénéfice clinique, voire d'une guérison, suivant le degré d'amélioration constaté.

Parallèlement, les variables traduisant des anomalies secondaires de la locomotion, c'est-à-dire celles altérées plus tardivement, telles que la fréquence des cycles ou encore la puissance médio-latérale relative, présentent également un intérêt. En effet, leur suivi au cours d'un essai thérapeutique peut permettre de mettre en évidence un effet préventif du traitement sur les altérations tardives de la locomotion, et donc probablement sur les ankyloses et contractures, qui sont responsables de ces altérations.

Dans ce contexte de multiplicité d'altérations de la locomotion et de variables étudiées, l'utilisation d'une variable unique permettant de refléter le niveau de l'ensemble des variables, et de simplifier l'interprétation et la lisibilité des données a été proposée. L'analyse en composantes principales, méthode d'analyse multivariée, a été utilisée à cette fin. Le choix de projeter les individus en cours d'évolution comme individus supplémentaires sur le plan d'ACP défini par les chiens sains et GRMD adultes, a été fait afin de pouvoir situer les individus au cours du temps dans un même espace. À partir de la position des individus dans l'espace à sept dimensions, la distance euclidienne séparant chacun des chiens du barycentre des animaux sains du même âge a été calculée. Ce nouvel index, déjà utilisé comme variable globale dans des études d'analyse de marche, et nommé « index de normalité » (138,148), a démontré ici sa capacité à distinguer les chiens GRMD des chiens sains et à suivre un chien GRMD au cours du temps.

Le choix d'une variable plutôt que d'une autre peut également être discuté en fonction de la capacité de cette variable, soit à discriminer de manière très nette les chiens GRMD des chiens sains, afin de pouvoir mettre en évidence des chiens traités qui « s'échapperaient » du groupe de chiens GRMD pour rejoindre le groupe de chiens sains, soit à détecter de manière sensible une évolution fine de la locomotion. Ce dernier point a été apprécié indirectement par l'évaluation de l'aptitude de chaque variable à distinguer les animaux malades les uns des autres, dans le contexte d'une hétérogénéité clinique inter-individuelle marquée connue dans ce modèle. Sur l'aspect discriminant des variables, peuvent être citées la vitesse, la longueur des foulées, la puissance totale, la force ou la distance euclidienne, quel que soit l'âge considéré. Sur le second point, si les coefficients de variation obtenus pour l'ensemble des variables permettent de traduire l'hétérogénéité clinique, dans la mesure où ils sont nettement supérieurs à ceux obtenus dans la population témoin, certains index dispersent davantage la population, suggérant une meilleure sensibilité. C'est par exemple le cas, chez les chiens en croissance, de la puissance médio-latérale relative, ou, plus particulièrement, de la puissance totale.

Il est donc intéressant de souligner que la puissance totale est une variable qui présente le double intérêt d'être extrêmement discriminante entre chiens sains et chiens GRMD, et d'être malgré cela très sujette à variations entre chiens GRMD, donc probablement une des plus sensibles. Il est probable que ces qualités soient liées au fait que la puissance totale est une variable modulée par de nombreux paramètres modifiés chez le chien GRMD. En effet, la puissance étant un produit de la vitesse par la force, sa valeur sera modifiée par les constituants de la vitesse que sont la longueur et la fréquence des cycles, et également par la force générée par l'animal. Pour l'ensemble de ces raisons, la puissance totale constitue une variable de valeur pour l'évaluation de la locomotion du chien GRMD.

La très grande majorité des variables présentent par ailleurs des coefficients de variations supérieurs à ceux calculés pour les scores cliniques moteurs. Les variables d'accélérométrie expliquent donc mieux, pour la plupart d'entre elles, la dispersion de la population GRMD que ne le fait le score clinique.

Afin de déterminer si les variables étudiées sont capables de refléter un état clinique moteur global de l'animal, des coefficients de corrélation entre les valeurs obtenues pour ces différentes variables et le score clinique moteur ont été calculés. Il apparaît, chez les adultes comme chez les chiens en cours d'évolution, que seules trois variables sont réellement corrélées au score clinique : la vitesse, la longueur des foulées et la puissance totale. Ceci peut s'expliquer par le fait que la vitesse de marche et la longueur des foulées sont des éléments que perçoit inconsciemment l'opérateur qui effectue un score clinique, et qu'ils constituent très probablement des critères de jugement de la qualité de la démarche. Cependant, la locomotion en soi ne constitue qu'un seul item sur les onze que compte le score moteur. Il est donc plus probable que vitesse, longueur des foulées et puissance totale soient davantage influencées que les autres variables par les anomalies de posture (palmigradie, plantigradie, écartement des doigts, report de poids sur l'avant) par exemple, qui représentent la moitié des items du score moteur. Pour conclure sur ce point, certaines variables d'accélérométrie évoluent dans le même sens que le score clinique moteur, ce qui suggère que l'accélérométrie détecte des évolutions similaires à celles observées et semi-quantifiées par l'opérateur, mais les corrélations restent peu prononcées, probablement en liaison avec le fait qu'accélérométrie et score clinique moteur n'apprécient pas les mêmes éléments de la fonction motrice.

Cependant, les variables d'accélérométrie permettent, comme le score clinique, de dégager différents profils d'évolution. En effet, si des caractéristiques communes d'évolution de chaque variable chez les individus malades peuvent être dégagées, ces évolutions varient d'un individu à l'autre. L'hétérogénéité clinique existant dans la population GRMD a déjà fait l'objet de description et de classifications en différentes formes cliniques (3,168). L'opportunité de réaliser cette classification, cette fois de manière quantitative est donc apportée par la présente étude.

Un premier profil peut être dégagé : celui des chiens qui perdent la locomotion (10 sur 24 ici). Cet événement est survenu, dans tous les cas étudiés, avant l'âge de six mois. Il est intéressant de noter que, de l'âge de deux à l'âge de six mois, ces animaux présentent des évolutions similaires en termes de variables de locomotion. Pour la très grande majorité de ces variables, ces chiens très touchés sur le plan moteur montrent une évolution accélérée et une atteinte plus prononcée au terme de leur évolution que les autres chiens étudiés. Ainsi, leur vitesse, leur fréquence et longueur de foulée, leur puissance totale ou encore leur régularité chutent très rapidement, et à des niveaux inférieurs à ceux atteints par les chiens de 9 mois ou adultes. Il semble également que certaines variables (vitesse ou fréquence des cycles) soient déjà à des niveaux inférieurs chez ces chiens à l'âge de deux mois.

Un second profil, représenté par des chiens tels que Dmon, Eaudvy, Ebam, Eboum ou Hercule est dessiné par une chute progressive et régulière de la puissance totale, de la vitesse, de la longueur et la fréquence des cycles.

Un troisième groupe d'animaux, comprenant Dluge, Dk, Dice et Didon, correspond à des animaux qui, malgré une chute progressive de la longueur des foulées, restent capables de maintenir un certain temps (variable d'un individu à un autre) une fréquence de cycle très élevée, avant que celle-ci ne chute brutalement. Ces caractéristiques sont liées au maintien de l'aptitude à effectuer un galop en bonds régulier, jusqu'à un stade parfois tardif. La perte de la capacité à accomplir cette allure entraîne une cassure dans l'évolution de certaines variables, et en particulier de la fréquence des cycles.

Le dernier groupe de chiens, représenté par deux individus, Dbrouille et Dalton, montre un profil un peu plus particulier. En effet, après un début d'évolution semblable à celui du second groupe, c'est-à-dire une chute progressive des différentes variables, ces deux chiens montrent une amélioration également progressive de leur locomotion. Ces deux cas soulignent la nécessité de considérer avec précaution une amélioration discrète de la locomotion chez des chiens GRMD en cours d'essai thérapeutique.

De la même façon, il est important d'avoir en mémoire, lors de l'analyse de données de chiens en cours d'évaluation dans un essai pré-clinique, que quelques rares chiens GRMD présentent très peu d'anomalies phénotypiques. Le chien T-Fal, étudié parmi la population de chiens adultes, en est un représentant. Comme dans de tels cas déjà décrits (4), ce chien, à l'âge de cinq ans, était capable de sauter et de se maintenir sur ses deux postérieurs. Un observateur non averti aurait pu ignorer sa maladie. Les valeurs obtenues pour ses variables d'accélérométrie ainsi que sa position bien particulière sur le plan d'ACP témoignent de son atteinte modérée. Néanmoins, il convient de souligner que sa position, inhabituelle pour un chien GRMD, ne se confond toutefois pas avec celle d'un chien sain.

Outre ces quatre profils-types, il faut noter également les variations importantes qui peuvent exister chez certains animaux en croissance, d'un test à l'autre, donnant un aspect « en dents de scie » aux graphiques représentant l'évolution des différentes variables. Si la répétabilité de la

méthode chez des animaux adultes cliniquement stabilisés a été démontrée, ceci n'est, de manière évidente, pas le cas chez les animaux en croissance. Cet élément est probablement à mettre en relation avec les fluctuations de l'état général de ces jeunes animaux d'un jour à l'autre. Cela souligne également la nécessité d'exams répétés et rapprochés dans le temps sur un animal jeune en suivi, ce qui est rendu possible par la simplicité de mise en œuvre, et le caractère non invasif de la méthode de mesure choisie ici.

Si cette étude a démontré l'intérêt de l'accélérométrie comme outil d'analyse de la locomotion du chien GRMD, et a permis de décrire de manière quantifiée les anomalies locomotrices présentes dans ce modèle, elle présente cependant des limites qu'il est nécessaire de mentionner.

En premier lieu, la méthode n'a pas été réellement validée, au sens le plus strict du terme, dans l'espèce canine. Comme mentionné en introduction, cette étude est la première employant l'accélérométrie comme outil d'analyse de marche chez le chien. La fiabilité et la précision des mesures auraient donc dû être évaluées préalablement sur chiens sains, par comparaison avec un outil de référence tel que la cinétique ou la cinématique. Étant donné que ces données existent chez un quadrupède, le cheval, et démontrent la validité de l'accélérométrie et des calculs de variable (95), cette étape de validation, longue, fastidieuse, et nécessitant le cadre d'un laboratoire d'analyse de marche, n'a pas été réalisée. Il n'en reste pas moins que cela constitue une limite de cette étude.

Une seconde limite de l'étude réside dans le manque d'homogénéité du groupe de chiens sains adultes. En effet, quatre des onze chiens sains inclus étaient des animaux non hébergés en chenil, et dont les propriétaires s'étaient portés volontaires pour les faire participer à ces tests. Or les chiens GRMD étaient *a contrario* tous hébergés en chenil. Ce biais existant dans la population témoin a, de surcroît, des conséquences évidentes sur les résultats obtenus. En effet, ces quatre chiens présentent de manière récurrente les valeurs les plus faibles de la population témoin, et donc les plus proches de celles des chiens GRMD. Ainsi, leur vitesse ainsi que leur fréquence de cycle et longueur de foulée sont inférieures à celles des chiens sains hébergés dans les mêmes conditions que les chiens GRMD. Ceci peut être mis en relation avec un probable manque de spontanéité dans le choix de la vitesse par ces animaux : leur éducation et leur interaction avec l'homme, différente de celle des chiens de chenil, les poussent probablement à se calquer sur le rythme de l'opérateur, davantage que ne le font des chiens moins imprégnés. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'au sein même de ce groupe de quatre chiens, il est possible de distinguer deux comportements locomoteurs différents, suivant le degré d'éducation des animaux considérés. Spirou et Cayak, deux chiens modérément éduqués (respectivement chien de compagnie et chien-guide en cours d'éducation) se détachent discrètement de la population des chiens de chenil, tandis que Caïd et Chips, deux chiens-guides en fin de cursus éducatif, sont responsables des valeurs les plus extrêmes observées dans le groupe témoin. Si ce biais expérimental représente une limite conséquente de l'étude sur chiens adultes, les

conséquences observées ne sont pas sans intérêt : elles témoignent d'une sensibilité notable de cette méthode d'analyse de marche.

Une dernière limite de l'étude est le faible nombre de chiens sains ayant participé au suivi longitudinal. Initialement, comme pour les chiens adultes, quelques apprentis chiens-guides devaient venir compléter ce groupe. Étant données les constatations faites suite à l'utilisation des données récoltées sur ces animaux à l'âge adultes, le choix a été fait de réduire la population saine du suivi longitudinal aux seuls chiens « vrais » témoins, afin de respecter l'homogénéité de ce groupe.

L'accélérométrie, comme outil d'analyse de locomotion, présente également, au vu de cette étude, quelques limites. La première est son manque de reproductibilité inter-opérateur. Cette partie de l'étude menée ici a en effet démontré que les animaux modifiaient leurs caractéristiques de marche en fonction de l'opérateur. Dans la mesure où chacun des opérateurs présentait un niveau différent d'expérience de la méthode d'évaluation, il est difficile de déterminer si le manque de reproductibilité est lié à cette différence de niveau, comme le suggèrent les résultats, ou uniquement au changement d'opérateur. Il peut également être envisagé que les chiens interagissent différemment avec des personnes qu'ils connaissent plus ou moins, ou avec lesquelles ils ont l'habitude ou non d'effectuer les tests. Il en est de même pour l'opérateur : il sera sans doute plus à l'aise avec une méthodologie qu'il connaît bien d'une part, et un chien avec lequel il a l'habitude de travailler d'autre part. Toutes ces hypothèses participant probablement chacune un peu au manque de reproductibilité démontré, l'importance de la connaissance de l'outil par l'opérateur, et du binôme chien-opérateur est à souligner. Il est donc préférable qu'un même animal soit suivi par le même opérateur au cours d'un essai thérapeutique, afin de ne pas biaiser les résultats relatifs à l'évolution du chien par un effet opérateur démontré comme significatif.

Une autre critique qui pourrait être faite à l'encontre de la méthode utilisée concerne la conception même du test : le choix de la vitesse par l'animal, qui aboutit nécessairement à la comparaison d'animaux évoluant à des vitesses et des allures différentes. Il est incontestable que, la vitesse influant sur l'ensemble des variables étudiées (sauf sur l'index de force relative), ses fluctuations vont être responsables de beaucoup des variations observées sur les autres variables. Éviter ces variations uniquement liées aux différences de vitesse de marche passerait nécessairement par la standardisation de celle-ci, et donc par l'utilisation d'un tapis roulant. Comme cela a été argumenté en introduction, l'usage du tapis roulant et la standardisation de la vitesse dans le contexte du chien GRMD présentent deux problématiques majeures : d'une part, la phase d'apprentissage, qu'il est souhaitable d'éviter ici, et d'autre part, la complexité que représenterait le choix d'une vitesse standardisée. En effet, considérant d'une part l'hétérogénéité de la population GRMD, et d'autre part l'éloignement des vitesses de confort des chiens GRMD de celles des chiens sains, l'utilisation d'une vitesse standardisée non seulement entre GRMD, mais aussi entre chiens GRMD et sains n'aurait

aucun sens. Pour mémoire, le chien GRMD adulte évoluant le plus lentement avait une vitesse de 0,26 m/s, tandis que celle du chien sain évoluant le plus rapidement s'élevait à 2,81 m/s. De surcroît, la vitesse de confort, choisie par l'individu, est un critère reconnu comme présentant une signification clinique et un intérêt dans le suivi des patients (70).

Dans ce contexte alors, pourquoi ne pas simplement chronométrer les chiens et utiliser cette variable seule ? Simplement parce qu'elle ne permet pas d'expliquer toutes les anomalies de locomotion rencontrées chez le chien GRMD. Ainsi par exemple, détecter qu'un chien GRMD augmente sa vitesse en augmentant sa longueur de foulée plutôt que sa fréquence a une signification clinique de taille : l'augmentation de longueur de foulée n'est en effet pas une stratégie employée par le chien GRMD pour augmenter sa vitesse ; si cela se produisait sur un chien en cours de traitement par exemple, il serait capital de disposer de cette information, alors que ces éléments resteraient inconnus avec une simple mesure de la vitesse. Par ailleurs, et dans le même sens, la puissance totale, certes modulée par la vitesse, n'est pas effondrée chez le chien GRMD uniquement parce que ces chiens marchent moins vite. Les valeurs de force relative le prouvent. Le choix de ne pas standardiser la vitesse, partagé d'ailleurs par l'équipe qui a publié ses résultats de cinématique sur le chien GRMD (102), a été fait par volonté d'obtenir des résultats les plus proches possibles d'une réalité clinique. Contraindre un chien sain à évoluer à 0,5 m/s par exemple, ou pousser un chien GRMD très touché à marcher à cette vitesse, et risquer ainsi de le faire chuter, est apparu absurde. Les résultats obtenus démontrent que les variations de vitesse ne sont ni à considérer de manière unique, ni responsables de toutes les autres modifications observées. La recherche d'une signification clinique des résultats est également celle qui a motivé le choix de conserver à chaque test l'allure la plus régulière, considérée alors comme l'allure la plus naturelle pour l'animal, à laquelle il évolue avec le plus d'aisance.

Un dernier point critique concernant l'outil est qu'il ne peut plus être utilisé dès lors que l'animal a perdu la locomotion. Ceci semble être une évidence, puisque sans locomotion, il est effectivement difficile d'envisager de l'évaluer, et ce, quel que soit l'outil considéré. Néanmoins, cela constitue une problématique réelle pour un suivi dans le cadre d'un essai pré-clinique. Les chiens perdant la marche « sortent » en effet des statistiques à partir du moment où ils ne peuvent plus être évalués, ce qui constitue un biais de taille sur les résultats qui seront produits. Ce problème est, une nouvelle fois, un point commun avec ce qui pourrait se produire chez des patients en essai clinique.

Le chien GRMD peut aussi se révéler un modèle utile pour répondre à ce type de problématique. L'hétérogénéité phénotypique, un point commun avec les patients atteints de DMD, en est une autre, de taille. Grâce à cette étude, elle a pu néanmoins être documentée de manière quantitative, ce qui constitue un premier pas vers la maîtrise de cette variabilité clinique.

**CHAPITRE 2 : ÉVALUATION DU MUSCLE
DYSTROPHIQUE PAR IMAGERIE PAR
RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE : ÉTUDE
LONGITUDINALE DES MUSCLES DE L'AVANT-
BRAS ET DE LA JAMBE**

PREMIÈRE PARTIE

L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est utilisée dans la caractérisation des lésions musculaires, essentiellement pour le diagnostic (157,180). Des échelles lésionnelles semi-quantitatives existent également pour suivre l'évolution de la maladie (97). Un autre intérêt de l'imagerie par RMN est de fournir une méthode quantitative pour évaluer la réponse d'un muscle, lésé en particulier, à une intervention extérieure, une stratégie thérapeutique par exemple, dans le cadre d'une affection connue.

L'imagerie par RMN est basée sur le signal émis par les protons contenus dans le tissu d'intérêt. Placés dans un champ magnétique constant, les protons se comportent comme des boussoles et s'alignent sur ce champ : c'est l'état d'équilibre. Après une excitation par une onde radiofréquence, ces protons emmagasinent de l'énergie qui leur permet de quitter l'état d'équilibre. A l'arrêt de l'excitation, ils libèrent l'énergie pour retourner vers l'état d'équilibre initial (cette phase correspond à la relaxation). C'est l'énergie libérée qui est enregistrée : c'est la base du signal RMN. Un codage spatial des protons et une transformation de Fourier permettent de reconstituer l'image en niveaux de gris en fonction de l'intensité du signal reçu : le noir correspond à une absence de signal et le blanc au signal maximal.

La cinétique de libération d'énergie des protons, définie par les temps de relaxation T_1 et T_2 , va dépendre de l'environnement biochimique des atomes d'hydrogènes. C'est un des facteurs clé du contraste de l'image obtenue. Les autres éléments clés qui assurent le contraste sont le moment d'enregistrement du signal par rapport à l'excitation (le temps d'écho), le temps entre deux excitations (le temps de répétition) et la quantité d'énergie envoyée pour l'excitation (l'angle de bascule). Ces différents paramètres définissent le type de séquence (écho de spin avec un angle de 90° et écho de gradient avec un angle variable) et sa pondération. On distingue trois pondérations principales : la densité de protons, la pondération T_1 et la pondération T_2 (Tableau 12).

Tableau 12 : Caractéristiques techniques des séquences pondérées T_1 , densité de protons et T_2 et aspects des principaux composants biologiques normaux.

	Caractéristiques de la séquence		Intensité de signal des tissus sains			
	Temps d'écho	Temps de répétition	Eau	Graisse	Muscle	Air/os cortical
Echo de spin T_1	Court	Court				
Echo de spin densité de protons	Court	Long				

Multi écho de spin T ₂	Long	Long			
-----------------------------------	------	------	--	--	--

Des techniques particulières permettent d'éliminer le signal d'un tissu dans chaque pondération, celui de l'eau ou de la graisse en particulier. En imagerie par RMN musculaire, on utilise souvent des séquences avec suppression de graisse. Au sein de chaque pondération, les tissus ont une intensité de signal différente qui permet de les reconnaître (Tableau 12). L'injection d'un agent de contraste est possible en imagerie par RMN : c'est généralement un chélate du gadolinium. Il modifie la cinétique de libération de l'énergie des protons ce qui se traduit, aux doses habituelles, par une augmentation de l'intensité du signal sur les images pondérées T₁. Toute modification de la composition biochimique du milieu dans lequel sont les protons provoque une altération du signal : c'est la base de la détection des lésions (Tableau 13).

Ces lésions, conséquence du déficit en dystrophine, une protéine sous-membranaire qui lie l'actine à la matrice extracellulaire, se caractérisent par des cycles de nécrose musculaire associée à un infiltrat inflammatoire et de régénération. Cette succession de nécrose/régénération aboutit progressivement une fibrose endomysiale et à une métaplasie adipeuse dans certains muscles. L'ensemble de ces lésions a une distribution aléatoire inter- et intramusculaire et l'importance relative de chacune des lésions unitaires varie et évolue avec le temps.

Tableau 13 : Conséquences des lésions élémentaires rencontrées lors de myopathie dystrophique sur le signal musculaire en imagerie par RMN

Lésion histologique	Signal T ₁	Signal T ₂	Rehaussement après injection	Organisation du tissu
Fibre nécrotique	↘	↗	↗	
Infiltrat inflammatoire	↘	↗	↗	↘
Fibre en régénération		↗		↘
Fibrose	↘	↘	↗	↘
Métaplasie adipeuse	↗	↗		↘

Chez les patients humains, plusieurs caractéristiques du muscle dystrophique ont été mises en évidence via l'imagerie par RMN. En utilisant des images pondérées T_1 , des études anciennes ont démontré une infiltration du muscle par de la graisse associée à une hypertrophie, ou plus souvent une atrophie musculaire (96,119,147). Ces études ont également montré une distribution hétérogène des hyperintensités en fonction des muscles, le quadriceps et le gracile étant relativement épargnés. De plus, pour un muscle donné, une asymétrie gauche-droite et une distribution segmentaire particulière des hyperintensités T_1 a été observée (97). Le temps de relaxation T_1 a été déterminé pour plusieurs muscles dystrophiques à bas champ (104). Pour la plupart des muscles, la valeur de T_1 est anormalement augmentée chez les patients asymptomatiques ou en début d'évolution de maladie. Il en est de même chez les femmes porteuses (106). Plus tard, avec l'avancée de la maladie, il décroît jusqu'à une valeur anormalement basse. Il y a une telle variabilité entre muscles qu'une évolution opposée a été constatée pour plusieurs d'entre eux. Chez la souris mdx, le muscle dystrophique a été caractérisé par une valeur de T_2 plus basse que chez la souris saine et par une augmentation de la densité de protons (53). Par ailleurs, les anomalies de la perméabilité du sarcolemme et la nécrose musculaire ont aussi été démontrées par imagerie par RMN après injection intraveineuse d'albumine marquée avec du gadolinium. Le rehaussement du signal a été observé dans plusieurs groupes musculaires, où des fibres nécrotiques ont été identifiées histologiquement (5).

Très peu de choses sont connues au sujet de l'imagerie et de la spectroscopie par résonance magnétique du muscle canin sain ou dystrophique. Dans une étude préliminaire comparant des chiens sains et GRMD de deux mois, nous avons rapporté que plusieurs indices étaient anormaux dans les muscles dystrophiques des membres antérieurs, en particulier le rapport des intensités de signal des images pondérées T_2 sur celles des images pondérées T_1 , l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 et le rehaussement maximal relatif du signal après injection de chélate de gadolinium (Gd). Etant donné l'état des preuves (5,53,75,85,105,108,161) et les extrapolations raisonnables, on peut s'attendre à ce que l'imagerie par RMN devienne un outil clé pour l'évaluation précoce et non-sanglante. Ainsi, l'imagerie par RMN permettrait de prédire l'amélioration de la fonction musculaire.

L'objectif de cette étude est de confirmer les données déjà connues sur le membre antérieur à deux mois, d'évaluer les membres postérieurs, de suivre ces indices jusqu'à neuf mois et de proposer de nouveaux indices permettant une description exhaustive des caractéristiques RMN du muscle canin dystrophique, afin d'utiliser cette technique au sein de protocoles thérapeutiques pré-cliniques.

DEUXIÈME PARTIE

I. Matériels et méthodes

A) Animaux et anesthésie

Cinq chiens sains et cinq chiens GRMD, issus de l'unité propre de recherche de Neurobiologie de l'école vétérinaire d'Alfort, ont été évalués dans le laboratoire de RMN de l'institut de Myologie situé dans l'hôpital universitaire de la Pitié-Salpêtrière.

Le diagnostic du déficit en dystrophine est réalisé sur la base d'une augmentation de l'activité enzymatique des créatines kinases sériques et sur la mise en évidence de la mutation dans le gène de la dystrophine comme précédemment décrit (19).

La veille de l'examen d'imagerie, un examen clinique, un examen biochimique sérique et des radiographies thoraciques sont réalisées.

Nous avons induit l'anesthésie avec une injection intraveineuse de propofol (Rapinovet, Schering-Plough) à la dose de 0,65ml/kg. Les chiens sont ensuite intubés avec une sonde endotrachéale et l'anesthésie est maintenue avec un mélange de 2% d'isoflurane (Forène, Abbot) dans de l'oxygène. La température corporelle, les fréquences cardiaque et respiratoire et la saturation en oxygène sont continuellement surveillées (Luxtron One, Luxtron ; 8600FO Pulse oxymeter, Nonin medical Inc). Durant l'anesthésie, les chiens sont perfusés avec un soluté de chlorure de sodium isotonique (B. Braun). Après l'injection intraveineuse de l'agent de contraste (Magnevist, Bayer Schering Pharma), la perfusion est arrêtée pour limiter les interactions avec la clairance musculaire du gadolinium.

B) Imagerie par résonance magnétique nucléaire

Nous avons examiné les chiens avec une antenne circulaire polarisée de type extrémité dans un imageur/spectromètre Magnetom Trio TIM (Siemens) de trois Teslas. Les membres thoraciques (avant-bras) et pelviens (jambes) ont été examinés à une semaine d'intervalle à deux, quatre, six, et neuf mois. Seul un chien GRMD est décédé d'insuffisance respiratoire à neuf mois avant l'examen des membres postérieurs.

Les chiens sont positionnés en décubitus latéral, les avant-bras ou les jambes insérés dans l'antenne. Afin de réduire les effets de susceptibilité, nous avons positionné des poches de gel autour des membres postérieurs (Figure 31).

Afin de repérer les muscles d'intérêt, nous avons réalisé une séquence 2D FLASH dans les trois plans perpendiculaires (axial, sagittal et coronal) explorant le segment anatomique du carpe au coude ou du tarse au genou. Pour la suite des acquisitions, des bandes de saturation artérielle et veineuse de cinq centimètres ont été positionnées à un centimètre de part et d'autre de la pile de coupes.

Figure 31 : Exemple de positionnement d'un chien pour un examen



Douze à quatorze coupes perpendiculaires aux fûts osseux (radius-ulna et tibia-fibula pour les membres thoraciques et pelviens respectivement) ont été positionnées du carpe au coude ou du tarse au genou. L'épaisseur des coupes était de trois millimètres. La résolution dans le plan de coupe était de $0,6 \times 0,6 \text{ mm}^2$. Des acquisitions standard et après saturation spectrale de la graisse ont été acquises avec une pondération T_1 , T_2 et densité de proton. Les paramètres d'acquisition sont détaillés dans le tableau 14.

De plus, cinq coupes d'orientation similaire aux précédentes sont positionnées à mi-hauteur du segment anatomique pour réaliser une mesure de T_1 des muscles d'intérêt et des acquisitions avant et après injection de chélate de gadolinium. L'épaisseur de coupe est de 7 mm et la résolution dans le plan de coupe est de $0,7 \times 0,7 \text{ mm}^2$. La même pile d'images, appelée séquence anatomique, a été acquise avec un rapport signal sur bruit autorisant le dessin de région d'intérêt qui sont ensuite reportées sur les séquences informatives. Les paramètres d'acquisitions de l'ensemble de ces séquences sont précisés dans le tableau 14.

Tableau 14: Paramètres d'acquisition.

	Type de séquence	TE (ms)	TR (ms)	FA (ms)	TI (ms)	Modalité de saturation	NA	NR	FT	BW (Hz)
Séquences T₁w	Turbo spin echo	6,3	300	90	-	Saturation sélective spectrale de la graisse	10	1	7	446
Séquences PD/T₂ w	Turbo spin echo	6,3/50	3000	90	-	Saturation sélective spectrale de la graisse	5	1	7	446
Séquence Anatomique	Turbo flash	3,26	2000	8	-	Excitation sélective spectrale de l'eau	11	1	-	130
Séquences de mesure de T₁	Turbo flash, IR non sélective	1,64	10 ⁴	8	258 to 9 000	Excitation sélective spectrale de l'eau	1	1	-	490
Séquences de cinétique Gd	Turbo flash, IR sélective	1,64	2000	8	1 200	Excitation sélective spectrale de l'eau	1	410	-	490

TE: Temps d'écho, TR: Temps de répétition, FA: Angle de bascule, NA: Nombre d'acquisition, NR: nombre de répétition, FT: Facteur turbo, BW: bande passante, IR: inversion récupération, Gd: gadolinium

La mesure de T₁ a consisté en une série d'images acquises selon une méthode TURBO FLASH après une excitation sélective de l'eau, avec 17 temps d'inversion compris entre 258 ms et 9 000 ms.

Le rehaussement du signal musculaire a été suivi avec une séquence TURBO FLASH pendant une période de deux heures après l'injection intraveineuse en bolus de 0,1 mmol/kg de gadolinium chélaté avec de l'acide diéthylène triamine penta acétique, Gd-DTPA, (Magnevist, Bayer Shering Pharma). La moyenne du signal des dix-neuf premières séquences acquises avant l'injection est prise comme signal de référence. Immédiatement après injection, quarante répétitions des cinq mêmes images ont été acquises avec un temps de répétition de dix secondes. Ensuite, un délai supplémentaire de dix secondes a été interposé entre chacune des trois cent cinquante répétitions suivantes.

C) Analyse d'images

Nous avons examiné tous les examens attentivement. Nous avons réalisé l'ensemble des analyses sur Radionet (Scito), un logiciel de visualisation et de traitement d'image installé sur notre système d'archivage et de transmission d'images (PACS).

Nous avons dessiné manuellement les régions d'intérêt (ROIs) sur les images pondérées T₁ avec saturation de la graisse dans le chef court du muscle extenseur radial du carpe (ECR), le chef long du muscle extenseur radial du carpe (ECRI) et le muscle fléchisseur ulnaire du carpe (FCU) pour les membres thoraciques et dans les muscles tibial crânial (TC), extenseur long des doigts

(EDL), le fléchisseur superficiel des doigt (FDS), le chef latéral du gastrocnémien (GL) et le chef médial du gastrocnémien (GM) pour les membres pelviens. Nous avons évité d'inclure les artéfacts de flux, les gros vaisseaux et les zones de volumes partiels. Nous avons contourné les muscles sur toutes les images où ils étaient visibles. Les ROIs ont été automatiquement reportées sur la région anatomique correspondantes des piles d'images pondérées en T_1 , en densité de protons avec et sans saturation de la graisse et en T_2 avec et sans saturation de la graisse. L'intensité moyenne et l'écart-type du signal au sein de chaque ROI et la surface de la ROI ont été calculés par Radionet.

Concernant la mesure du T_1 et le suivi du rehaussement du signal après injection du Gd-DTPA, les ROIs ont été dessinées sur toutes les images de la séquence anatomique où le muscle d'intérêt était présent puis reportées automatiquement sur les images correspondantes des séquences *ad hoc*. Nous avons réalisé le traitement des données à l'aide d'un logiciel développé en interne (161). Le signal moyen et l'aire de chaque ROI sont calculés.

Lors de l'étude du rehaussement du signal après injection du Gd-DTPA, l'intensité du signal des ROIs a été normalisée par le signal moyen des ROIs des 19 images acquises avant l'injection. Les courbes d'intensité relative du signal en fonction du temps ainsi obtenues ont été lissées en utilisant un filtre de Savitzky-Golay (17 points, deuxième ordre et zéro comme facteur de lissage) pour préserver les caractéristiques de distribution comme les maxima relatifs et la largeur (144). Le rehaussement maximal relatif, le temps nécessaire pour l'atteindre (T_{max}) et le T_{100-75} (voir *infra*) ont été directement obtenus à partir des fichiers de données Excel. De plus, une courbe exponentielle de décroissance a ensuite été ajustée à la courbe expérimentale de décroissance du signal ; la constante de temps de décroissance et le rehaussement résiduel du signal après deux heures ont été calculés (voir *infra*).

D) Définition des indices

1) Indices de caractérisation musculaire

A partir des valeurs moyennes du signal des ROIs et de leurs écarts-types, nous avons calculé des indices (I_{ROI}) pour chaque ROI. Ensuite, pour chaque muscle de chaque chien et à chaque temps d'évaluation, nous avons calculé un indice moyen (I_m) pondéré par l'aire des ROIs (A_{ROI}) de toutes les images d'un examen contenant ce muscle :

$$\text{Calculated } I_m = \Sigma(I_{ROI} \times A_{ROI}) / \Sigma A_{ROI}.$$

Ainsi, pour tous les indices calculés, nous avons une valeur pour chaque muscle de chaque chien à chaque temps prenant en compte les valeurs de toutes les images d'un examen où le muscle apparaît.

Les indices évalués, dont certains ont déjà été publiés, sont les suivants (161).

- **L'hétérogénéité du signal musculaire** : Cet indice a été calculé pour les images pondérées en T_1 et en T_2 avec ou sans saturation de la graisse et appelé respectivement H1, FS H1, H2 et FS H2. Chaque indice a été calculé de la façon suivante :

$$H = \sqrt{(ET_{ROI}^2 - (ET_{noise}/0,665)^2)}$$

- **La contribution de la graisse au signal des images pondérées T_1** a été calculée de la façon suivante :

$$rFS1 = (T_1w \text{ signal} - FS T_1w \text{ signal}) / T_1w \text{ signal}$$

- **Le rapport entre le signal musculaire sur les images pondérées en T_1 et le signal musculaire sur les images pondérées en T_2** a été calculé pour les images avec et sans saturation de la graisse de la façon suivante :

$$T_1w/T_2w \text{ SR} = (T_2w \text{ signal} \times CAR T_1w) / (T_1w \text{ signal} \times CAR T_2w),$$

$$FS T_1w/T_2w \text{ SR} = (FS T_2w \text{ signal} \times CAR FS T_1w) / (FS T_1w \text{ signal} \times CAR T_2w),$$

où CAR correspond au coefficient d'amplification du signal reçu.

Afin d'identifier la contribution respective des temps T_1 et T_2 aux modifications observées dans les ratios précédemment décrits, nous avons estimé le T_2 et calculé le T_1 directement.

- **Le rapport entre le signal musculaire sur les images pondérées en densité de protons et le signal musculaire sur les images pondérées en T_2** a été calculé pour les images avec et sans saturation de la graisse et a été utilisé pour obtenir **une estimation du T_2** avec la formule suivante :

$$T_2 (s) = (TE_{PD} - TE_{T2}) / (\ln S_{T2} - \ln S_{PD}),$$

où le TE_{DP} et le TE_{T2} symbolisent les temps d'écho des séquences pondérées densité de protons et T_2 respectivement et S_{T2} et S_{PD} symbolisent les valeurs du signal moyen des ROIS tracées respectivement sur les images pondérées en T_2 et en densité de protons.

- **Le temps de relaxation longitudinale (T_1).** Pour déterminer la valeur du T_1 , la fonction exponentielle suivante a été ajustée aux données expérimentales avec le solveur Excel:

$$S(TI) = S_0(1 - K \exp(-TI/T_1)),$$

où TI est le temps d'inversion de la séquence, S_0 le signal du muscle sans inversion, K la constante d'efficacité de l'inversion et T_1 le temps de relaxation longitudinal du tissu.

- **Le rehaussement maximal relatif (Max rE)** après injection de Gd-DTPA a été calculé de la façon suivante:

$$\text{Max rE} = (\text{Max } S_{T1w} - M_{\text{Spré}T1w}),$$

où $\text{Max } S_{T1w}$ correspond à la valeur relative du signal la plus haute au cours de la cinétique et $M_{\text{Spré}T1w}$ à la moyenne du signal des 19 images acquises avant l'injection.

- **Le temps nécessaire pour atteindre le rehaussement maximal (T_{max})** est la différence entre le moment du rehaussement maximal et le moment de l'injection.

- **La constante temporelle de décroissance du signal après injection de Gd-DTPA.** La décroissance du signal après injection a été modélisée par la courbe de décroissance exponentielle suivante :

$$cS = A + B e^{-\alpha t}$$

où cS représente le signal calculé et α , la constante temporelle de décroissance, A et B deux constantes.

- **La durée nécessaire à une décroissance de l'intensité du signal de 25% après l'injection de Gd-DTPA (T_{100-75}).** Pour évaluer les caractéristiques de la vidange initiale du Gd-DTPA, la durée entre le moment du rehaussement maximal du signal après injection de Gd-DTPA et le moment où la valeur du signal était égale à 75% de sa valeur a été calculée de la façon suivante:

$$T_{100-75} = T_{S_{\text{max}}} - T_{S=0,75S_{\text{max}}}$$

où S_{max} représente le signal maximal après l'injection de Gd-DTPA.

- La rehaussement résiduel deux heures après injection (offset). L'offset du signal de la courbe de décroissance (la constante A dans la formule du cS exprimée ci-dessus) a été étudié pour évaluer la quantité de Gd-DTPA bloqué dans le muscle dystrophique.

2) Indices d'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH)

L'inspection visuelle démontre que les lésions ne sont pas distribuées de façon homogène au sein des muscles d'un même membre à un temps donné. Un de nos objectifs était de quantifier cette hétérogénéité de distribution des lésions entre les différents muscles. Dans cette optique, nous avons calculé le coefficient de variation de chaque indice en prenant en considération tous les muscles des deux membres d'une même ceinture à un temps donné. Par exemple, l'indice IIH pour le rapport T_{2w}/T_{1w} pour un chien à deux mois est l'écart-type des valeurs de ce rapport pour les muscles ECR, ECRI et FCU droits et gauches de ce chien à deux mois normalisée par la moyenne des valeurs de ce ratio pour ces mêmes muscles. Ce calcul a été répété pour chaque indice de caractérisation musculaire à chaque temps d'examen.

E) Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous la forme de moyennes $\pm$ ET. Le seuil de significativité a été fixé à $p = 0,05$.

1) Détermination des indices permettant de distinguer un chien sain d'un chien GRMD et influence du muscle, de l'âge et du côté du décubitus.

Une analyse de variance à mesures répétées à cinq facteurs a été réalisée avec un facteur inter (chien GRMD versus chien sain) et quatre facteurs intra (le nom du chien, le muscle, l'âge, et le côté du décubitus).

Chaque fois que cela a été nécessaire, un test de comparaison multiple de Bonferroni a été réalisé.

2) Influence de la latéralité sur les indices pertinents

Afin de détecter une distribution asymétrique des lésions et expliquer l'influence du côté du décubitus sur certains indices, une analyse de variance à mesures répétées à trois facteurs a été réalisée avec un facteur inter (chien GRMD versus chien sain) et deux facteurs intra (le nom du chien et le côté du muscle).

3) Évaluation de l'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle

Afin de savoir si l'IIH était significativement différente entre les chiens sains et les chiens GRMD, une analyse de variance à mesures répétées à quatre facteurs a été réalisée avec un facteur inter (chien GRMD versus chien sain) et trois facteurs intra (le nom du chien, la ceinture et l'âge).

4) Détermination des muscles les plus affectés et des indices les plus discriminants

Les valeurs de probabilité des indices obtenus à partir des images avec saturation de la graisse ne démontrent pas une plus grande significativité statistique que les indices obtenus à partir des images sans saturation de la graisse. Les indices évalués ont donc été : l'hétérogénéité du signal sur les

images pondérées en T_2 , les rapports T_{2w}/T_{1w} et PDw/T_{2w} , T_1 et le rehaussement maximal relatif.

Nous avons déterminé des valeurs seuil pour chaque indice en utilisant une courbe ROC (receiver-operating characteristic). Ces courbes ROC ont été construites pour chaque muscle en prenant en considération toutes les valeurs de cet indice quel que soit l'âge du chien. La sensibilité et la spécificité des indices ont ensuite été déterminées. La comparaison des aires sous la courbe de chaque indice nous a permis d'identifier les indices les plus discriminants. De la même façon, le muscle présentant le plus de différence entre un chien sain et un chien GRMD en utilisant ces cinq indices a été déterminé.

5) Évaluation des corrélations entre les indices à deux mois et à neuf mois et valeur prédictive des indices des animaux âgés de deux mois sur ceux des animaux de neuf mois

Afin d'apprécier les possibles liens entre indices, nous avons calculé des coefficients de corrélation de Spearman entre tous les indices de deux mois d'une part et de neuf mois d'autre part. Nous avons également étudié les corrélations entre les indices obtenus chez les chiens de deux mois et les chiens de neuf mois afin d'obtenir des informations sur la pathogénie de la maladie ; l'objectif était aussi d'obtenir des critères de sélection prédictifs de l'évolution de la maladie pour inclure des chiens des essais précliniques à venir.

II. Résultats

A) Évaluation qualitative

La figure 32 montre un exemple d'images pondérées T_2 avec saturation de graisse des membres thoraciques et pelviens chez le même chien à deux, quatre, six, et neuf mois.

L'analyse qualitative des images pondérées T_1 , densité de protons et T_2 avec ou sans saturation de la graisse montre que les muscles dystrophiques ont une forme différente des chiens sains : ils ont une forme plus anguleuse. Ce caractère est d'autant plus proéminent que le chien est âgé. Si l'on s'intéresse à l'intensité du signal, le muscle dystrophique apparaît hyperintense par rapport au muscle sain. Le signal apparaît également plus hétérogène non seulement au sein d'un même muscle mais aussi entre les différents muscles d'un même membre. Cette hétérogénéité est visible sur toutes les séquences mais en particulier sur les séquences pondérées T_2 avec et sans saturation de graisse.

Un élément particulièrement remarquable est la faible intensité du signal des muscles ECRI et TC comparée à celle des autres muscles dystrophiques sur les

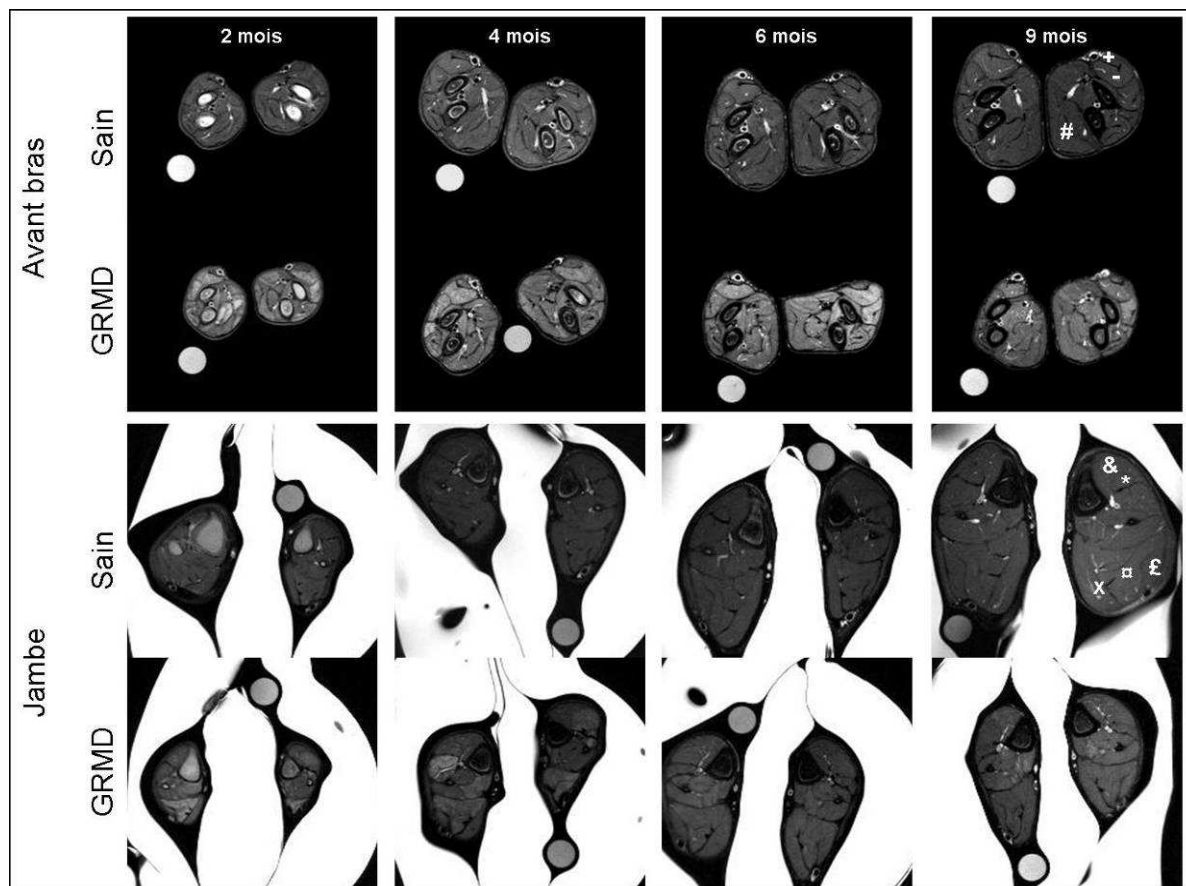
images pondérées T₂. Ceci suggère qu'ils sont relativement épargnés par la maladie. La différence de signal entre l'ECRI et l'ECR devient moins évidente à neuf mois. Au contraire, le signal du TC reste hypointense quel que soit l'âge du chien.

L'observation des images après l'injection du Gd-DTPA montre un rehaussement plus important du signal des muscles dystrophiques par rapport aux muscles sains. L'hétérogénéité intramusculaire et intermusculaire est retrouvée pour le rehaussement. De façon comparable à ce qui a été observé sur les autres séquences, le signal des muscles ECRI et TC semble moins rehaussé que celui des autres muscles dystrophiques.

Une autre différence entre les chiens dystrophiques et les chiens sains est observable : on note une réduction de la graisse sous-cutanée et intermusculaire chez les chiens dystrophiques.

L'ensemble de ces modifications est constante dans la population de chien dystrophique mais, la gravité de l'atteinte musculaire est hautement variable entre les chiens et aux différents âges étudiés.

Figure 32 : Évolution de l'aspect des muscles du bras et de la jambe chez un chien sain et un chien GRMD.



Coupe transversale du bras et de la jambe d'un chien sain et d'un chien GRMD en mode T₂ avec saturation de graisse. Avec le temps, les muscles dystrophiques deviennent plus anguleux. Le muscle dystrophique se caractérise par un signal hyperintense ; l'hétérogénéité intra- et intermusculaire est évidente. Sur l'image acquise à neuf mois, les muscles sont identifiés de la façon suivante : +: ECRI, -: ECR, #: FCU, &: TC, *: EDL, £: GL, x: GM and α: FDS.

B) Évaluation quantitative

1) Indices de RMN de caractérisation du muscle dystrophique par rapport au muscle sain

Les valeurs moyennes et les écarts-types de tous les indices sont présentés dans les tableaux 15A-15C.

Tableau 15 A: Indices d'hétérogénéité:

	H1 (UA)	FS H1 (UA)	H2 (UA)	FS H2 (UA)
Chiens sains	16±7	11±5	38±11	29±11
Chiens GRMD	26±10	16±6	68±23	56±24
Valeur de p	0,000163	0,000465	0,000010	0,000006

Valeurs moyennes et écarts types des chiens sains et des chiens GRMD et leur valeur de p. Tous les indices sont significativement augmentés chez le chien GRMD. (UA: unité arbitraire)

Tableau 15 B: Indices de signal:

	T ₂ w/T ₁ w SR	FS T ₂ w/T ₁ w SR	PDw/T ₂ w SR	FS PDw/T ₂ w SR	rFS1	T ₁ (ms)
Chiens sains	1,69±0,37	1,64±0,39	2,57±0,32	2,75±0,45	0,03±0,10	1476±86
Chiens GRMD	2,42±0,76	2,37±0,76	2,01±0,30	2,11±0,36	0,05±0,09	1603±115
Valeur de p	0,000439	0,000389	0,000040	0,000058	0,341867	0,000998

Valeurs moyennes et écarts types des chiens sains et des chiens GRMD et leur valeur de p. Tous les indices sont significativement augmentés chez le chien GRMD hormis la participation du signal de la graisse au signal du muscle sur les images pondérées T₁.

Tableau 15 C: Indices issus de la cinétique de rehaussement du signal après injection de Gd-DTPA :

	Max. rE	Tmax (s)	T 100-75 (s)	α (s ⁻¹)	Offset
Chiens sain	0,79±0,16	655±336	1 306±713	0,00036±0,00015	1,16±0,14
Chiens GRMD	1,52±0,64	603±434	1 305±1 224	0,00041±0,00023	1,33±0,29
Valeur de p	0,000145	0,592865	0,995292	0,060629	0,077161

Valeurs moyennes et écarts-types des chiens sains et des chiens GRMD et leur valeur de p. Seul le rehaussement maximal relative est significativement augmenté chez le chien GRMD.

Tous les indices calculés pour les muscles dystrophiques sont significativement différents de ceux des muscles sains à l'exception de rFS1, T_{max}, T₁₀₀₋₇₅, α et l'offset. Les deux derniers indices ont des valeurs de p égales à 0,06 et 0,08 respectivement. Concernant l'hétérogénéité du signal des images pondérées en T₂ et le rehaussement maximal relatif, l'augmentation de l'indice est supérieure à 90% par rapport aux indices des muscles sains. La plupart des indices des chiens dystrophiques présentent une augmentation supérieure à 40% comparée à ceux des muscles sains à l'exception des rapports de signal PDw/T₂w et FS PDw/T₂w qui présentent comme attendu une diminution proche de 20% (Tableau 16).

Les valeurs de p des indices issus des images saturées en graisse ne sont très différentes de celles des indices issus des images sans saturation.

Parmi les indices nouvellement évalués, la valeur du T₁ du muscle dystrophique est significativement augmentée par rapport à celle du chien sain, même si la différence entre les deux populations est petite (9%). De plus, la superposition des valeurs des deux populations est évidente.

Pour de nombreux indices, l'âge, le muscle étudié et le côté du décubitus interfèrent avec leur valeur. Cette interférence varie en fonction du statut du chien (GRMD vs sain).

2) Influence de la latéralité et du côté du décubitus sur les indices de RMN

Parmi les indices statistiquement différents entre les deux groupes de chiens, la latéralité et le côté du décubitus ont une influence significative lorsque les deux populations sont considérées ensemble. La latéralité a une influence sur l'hétérogénéité du signal des images pondérées en T₁, l'hétérogénéité du signal des images pondérées en T₂ avec et sans saturation de la graisse, le temps T₁ et le rehaussement maximal relatif. Le côté du décubitus a une influence sur l'hétérogénéité du signal des images pondérées en T₁ et sur les rapports T₂w/T₁w et FS T₂w/T₁w.

Cependant, lorsque seule la population des chiens GRMD est considérée, la latéralité a une influence significative seulement sur le rehaussement maximal relatif. Dans la population du chien sain, la latéralité n'a aucune influence.

Pareillement, lorsque seule la population des chiens GRMD est considérée, le côté du décubitus n'influence significativement que le rapport FS T₂w/T₁w. Dans la population de chiens sains, le côté du décubitus n'influence que l'hétérogénéité du signal des images pondérées en T₁, le rapport FS T₂w/T₁w et le temps T₁. Le décubitus ne permet donc pas d'expliquer en tout ou partie l'influence du côté sur les valeurs des indices. Nous avons examiné muscle par muscle les images obtenues après injection de Gd-DTPA et nous n'avons pas pu mettre en évidence de relation entre l'intensité du rehaussement et une possible compression vasculaire liée au décubitus, ce qui aurait pu expliquer l'effet du décubitus sur le rehaussement maximal relatif.

Dans le tableau 16, la différence entre les valeurs des indices des muscles droits et ceux des muscles gauches, la différence entre les valeurs des indices des muscles proclives et ceux des muscles déclives et la différence entre les valeurs des indices des muscles dystrophiques et ceux des muscles sains sont présentées sous la forme de pourcentages de la valeur moyenne de l'indice pour tous les chiens. Comme l'on peut l'observer, les différences liées à la latéralité du muscle ou au côté du décubitus sont minimales comparées à celles entre les chiens sains et les chiens GRMD.

Tableau 16: Importance de la latéralité et du côté du décubitus par rapport à la différence entre le signal des muscles sains vs celui des muscles dystrophiques.

	H1	FS H1	H2	FS H2	T _{2w} /T _{1w} SR	FS T _{2w} /T _{1w} SR	PDw/T _{2w} SR	FS PDw/T _{2w} SR	T ₁	Max . rE
% diff. GRMD-sain	46	35	58	63	35	36	24	26	8	64
% diff. G-D GRMD	1	5	5	6	4	4	1	1	2	6
% diff. Declive- proclive GRMD	8	3	1	4	5	10	1	1	0	2

Les différences sont présentées en pourcentage de la valeur moyenne de l'indice de tous les chiens. Quel que soit l'indice, les différences entre les muscles gauches et droits et les muscles déclives et proclives sont nettement moins importantes que celle entre les muscles sains et dystrophiques.

3) Évolution des indices de RMN avec l'âge

La Figure 33 A-C illustre les moyennes et les écarts-types de tous les indices en fonction de l'âge des chiens.

En considérant la population de chiens sains, nous n'observons pas d'évolution majeure des indices, tous muscles confondus, avec l'âge hormis une augmentation progressive de la valeur des rapports PDw/T_{2w} et FS PDw/T_{2w} : la valeur à neuf mois est significativement plus élevée que celle de deux mois. Une diminution de la valeur du T₁ est également observée : la valeur à neuf mois est significativement plus basse que celle à deux mois et à quatre mois. Une évolution similaire est observée lorsque les membres thoraciques et les membres pelviens sont analysés séparément.

Concernant la population de chiens GRMD, comme dans la population de chiens sains, le T₁ musculaire suit la même évolution : une diminution progressive de sa valeur au cours du temps, le T₁ à neuf mois étant

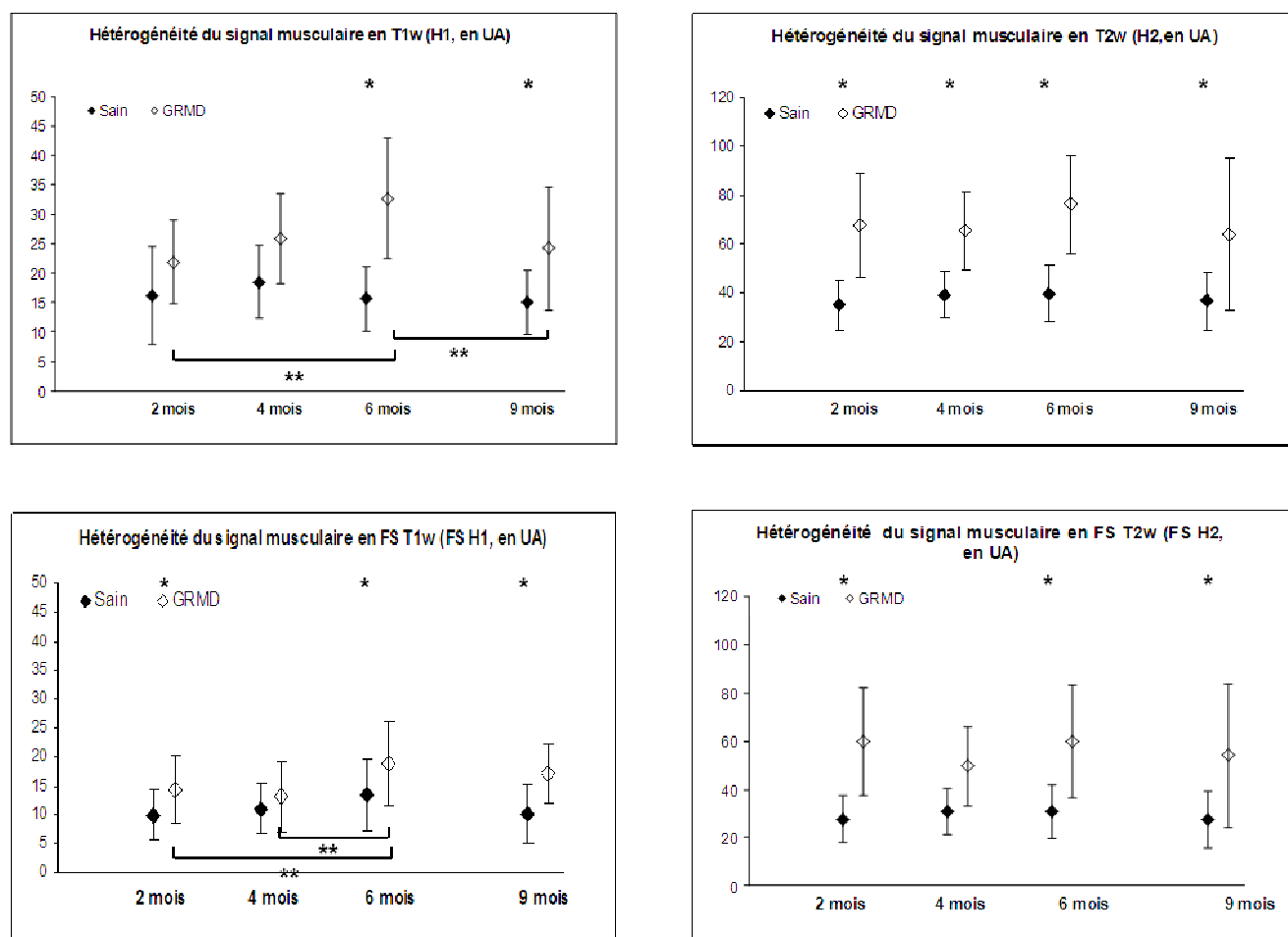
significativement plus court que celui à deux et quatre mois. Cette assertion est juste non seulement lorsque tous les muscles dystrophiques sont analysés conjointement mais aussi lors d'analyse séparée des muscles des membres thoraciques et des membres pelviens. Une évolution similaire, mais vers une augmentation globale, est observée pour les rapports PDw/T₂w et FS PDw/T₂w sans qu'une différence significative soit trouvée entre les indices des différents âges lorsque tous les muscles sont analysés. Cependant, une augmentation significative de la valeur de ces indices est trouvée lors que seuls les muscles des membres pelviens sont analysés (Figure 33 A-C).

Concernant les indices d'hétérogénéité, l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T₁ avec ou sans saturation de graisse des chiens de six mois est significativement supérieure à celle des animaux de deux mois. Cependant, à neuf mois, une diminution significative de leur valeur par rapport à celle des animaux de six mois est observée.

Parmi les indices testés, certains sont capables de différencier les muscles dystrophiques des muscles sains à tous les âges : c'est le cas l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T₂, des rapports PDw/T₂w et FS PDw/T₂w, du T₁ et du rehaussement maximal relatif.

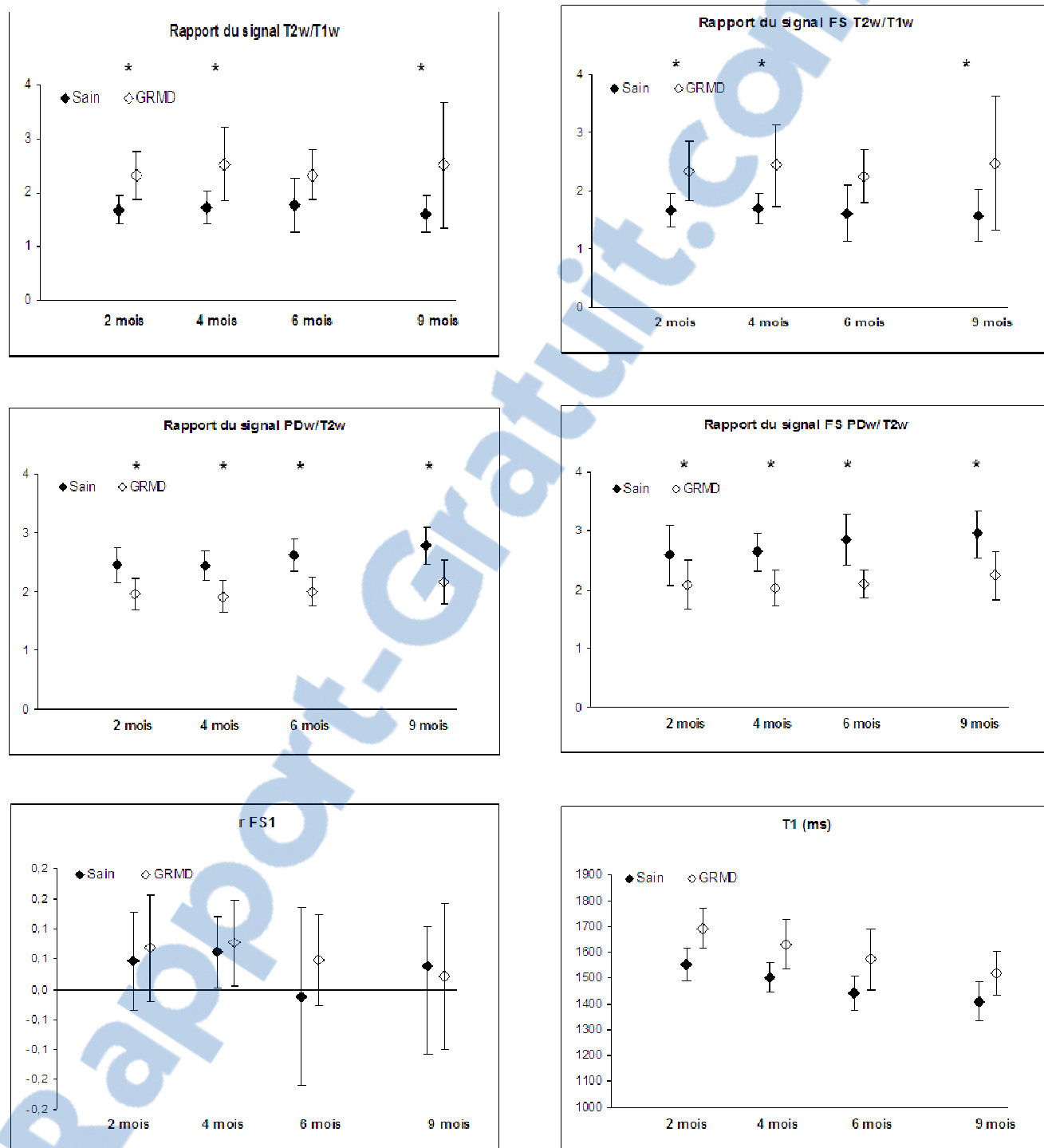
À neuf mois, tous les indices des muscles dystrophiques sont significativement différents de ceux des muscles sains, alors que seulement neuf, sept et huit sont significativement différents à deux, quatre et six mois respectivement. Aucun des indices ne possède une valeur seuil qui permettrait de séparer totalement la population des chiens GRMD de celle des chiens sains.

Figure 33 A : Moyennes et écarts-types des indices d'hétérogénéité en fonction de l'âge des chiens



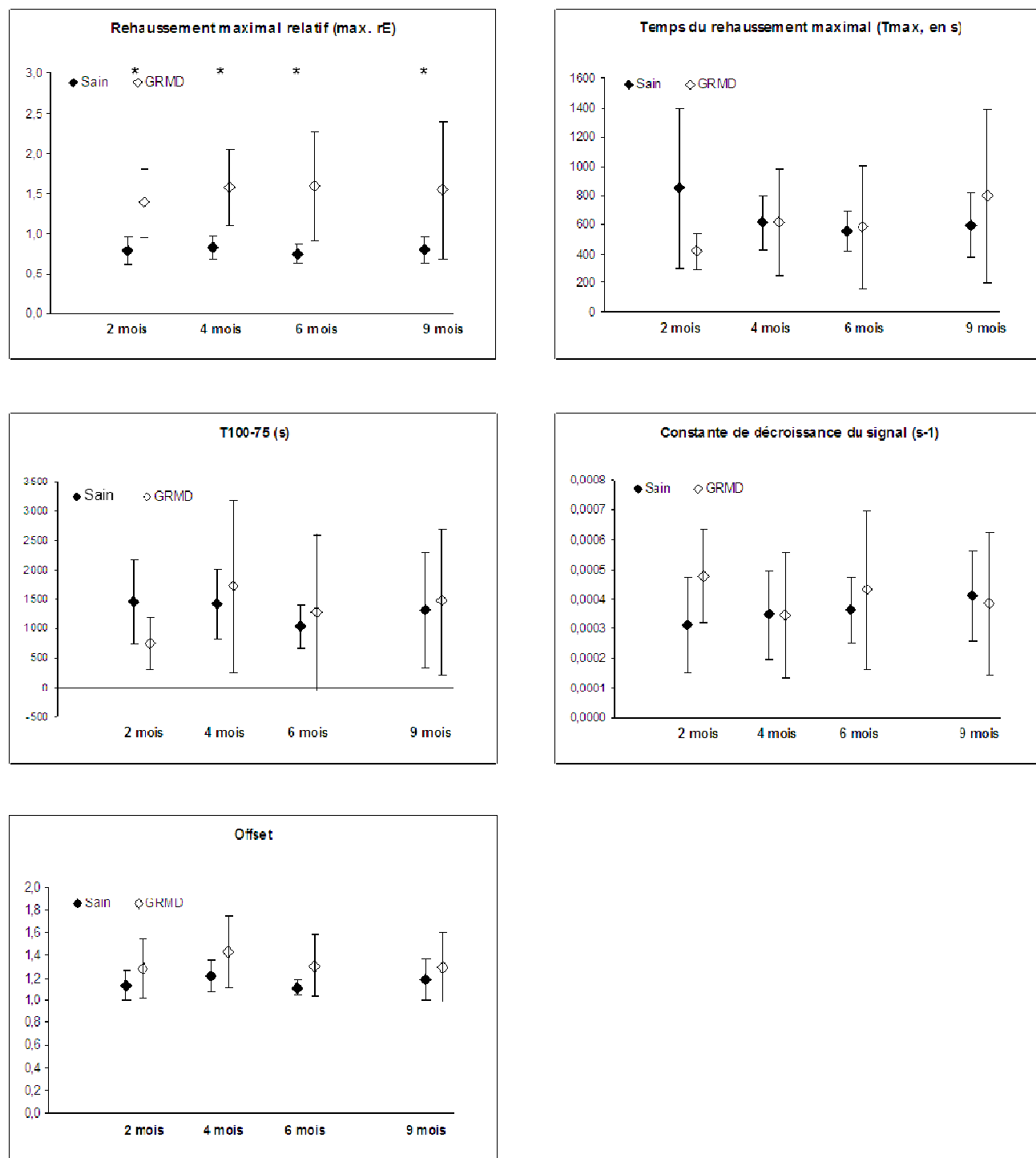
* indique une différence significative entre les valeurs des indices des muscles sains et dystrophiques à un âge donné $p \leq 0,05$, ** indique que les valeurs de l'indice des muscles dystrophiques sont significativement différentes entre deux âges $p \leq 0,05$

Figure 33 B : Moyennes et écarts-types des indices d'intensité de signal en fonction de l'âge des chiens



* indique une différence significative entre les valeurs des indices des muscles sains et dystrophiques à un âge donné $p \leq 0,05$,

Figure 33 C : Moyennes et écarts-types des indices issus de la cinétique de rehaussement du signal après injection de Gd-DTPA en fonction de l'âge des chiens



* indique une différence significative entre les valeurs des indices des muscles sains et dystrophiques à un âge donné $p \leq 0,05$,

4) Variation des indices de RMN en fonction du muscle évalué

La figure 34 A-E procure une description détaillée muscle par muscle de l'évolution des indices au cours du temps.

Considérant les chiens sains, nous avons mis en évidence des différences significatives entre les muscles : le fléchisseur superficiel des doigts et les deux chefs du gastrocnémien ont des valeurs différentes pour la plupart des indices. Ces différences sont particulièrement observables à deux et quatre mois.

Chez les chiens GRMD, un effet muscle est systématiquement trouvé. Considérant tous les âges en même temps, l'extenseur radial du carpe et le fléchisseur superficiel des doigts sont les plus altérés alors que le tibial crânial est le moins affecté. L'examen des indices muscles par muscles apporte des informations intéressantes sur leur évolution dans le temps. Par exemple, alors que le chef long de l'extenseur radial du carpe est moins affecté que les autres muscles du membre thoracique (rapport de signal et rehaussement maximal relatif) à deux mois et à quatre mois, il devient aussi gravement affecté que les autres muscles à neuf mois, particulièrement si l'on s'intéresse au rapport FS PDw/T₂w (la valeur de cet indice à deux mois est significativement supérieure que celles à quatre, six et neuf mois). Au contraire, les valeurs des indices du tibial crânial tendent à se rapprocher des valeurs des chiens sains avec le temps.

Considérant les différences muscle à muscle entre chiens sains et chiens dystrophiques, l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T₂, les rapports PDw/T₂w et FS PDw/T₂w et le T₁ permettent de différencier tous les muscles dystrophiques des muscles sains. L'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T₂ avec saturation de graisse, le rapport T₂w/T₁w et le rehaussement maximal relatif permettent également de différencier un muscle dystrophique d'un muscle sain hormis le tibial crânial. L'extenseur radial du carpe et le gastrocnémien médial dystrophiques sont différenciés des muscles sains par tous les indices alors que le tibial crânial dystrophique n'est différencié du sain que par cinq indices. Les autres muscles dystrophiques le sont par neuf indices.

Considérant les muscles du membre thoracique, le recouvrement entre les valeurs des indices des muscles sains et dystrophiques est moindre que pour ceux du membre pelvien. Cette meilleure séparation des populations est également observée à six et neuf mois en comparaison aux âges plus précoces. Seul le T₁ ne suit pas cette tendance.

Par ailleurs, alors qu'aucune valeur seuil n'est totalement discriminante lorsque l'on prend en considération tous les muscles ensemble, une valeur seuil parfaitement discriminante peut être déterminée lorsque l'on évalue chaque muscle séparément et ce pour plusieurs indices et à différents âges. Ceci est particulièrement vrai pour les membres thoraciques.

Figure 34 A : Représentation de la répartition des valeurs d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T₁, sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens

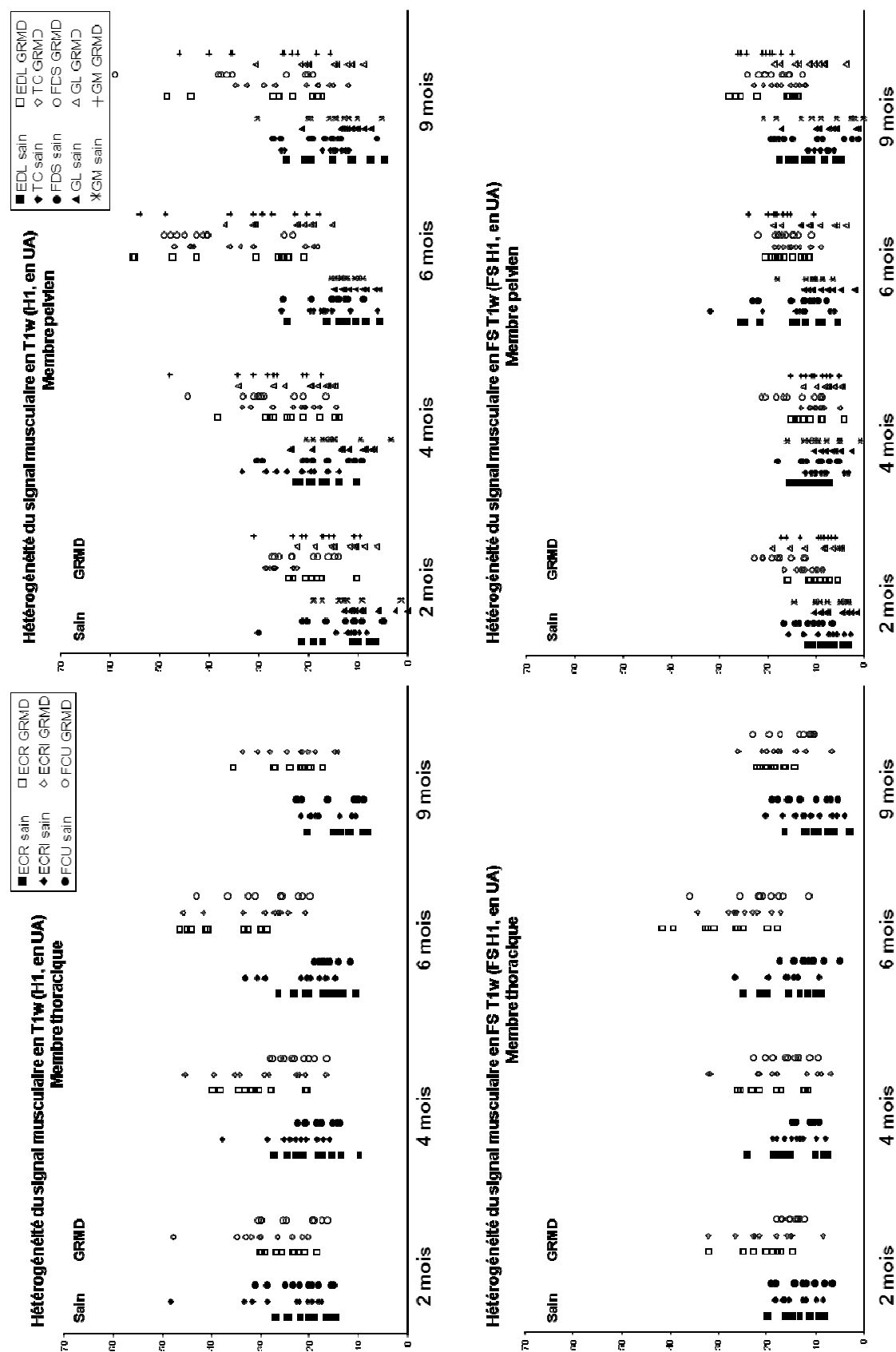


Figure 34 B : Représentation de la répartition des valeurs d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T₂, sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens

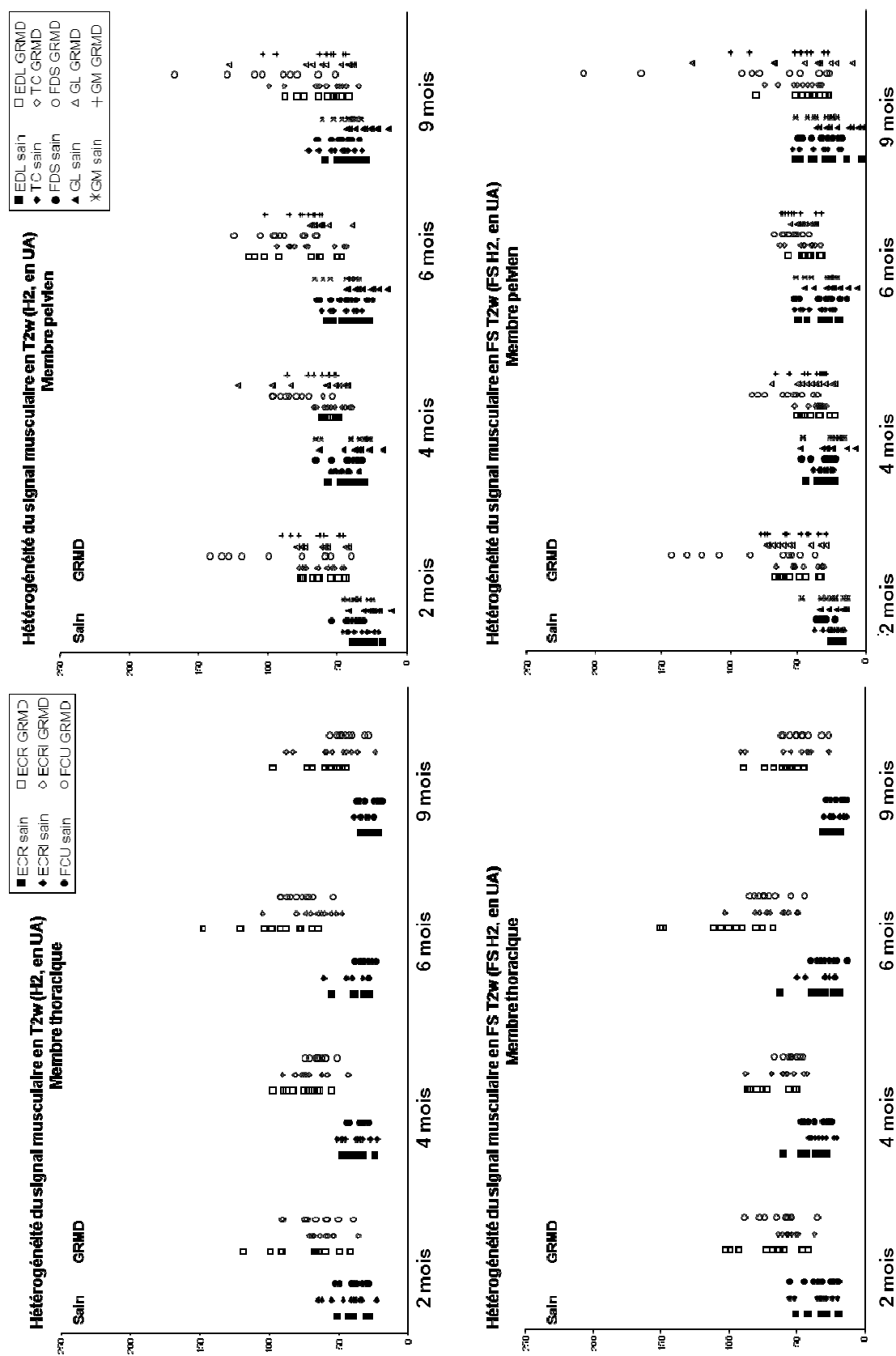


Figure 34 C : Représentation de la répartition des valeurs des rapports de signal T2w/T1w sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens

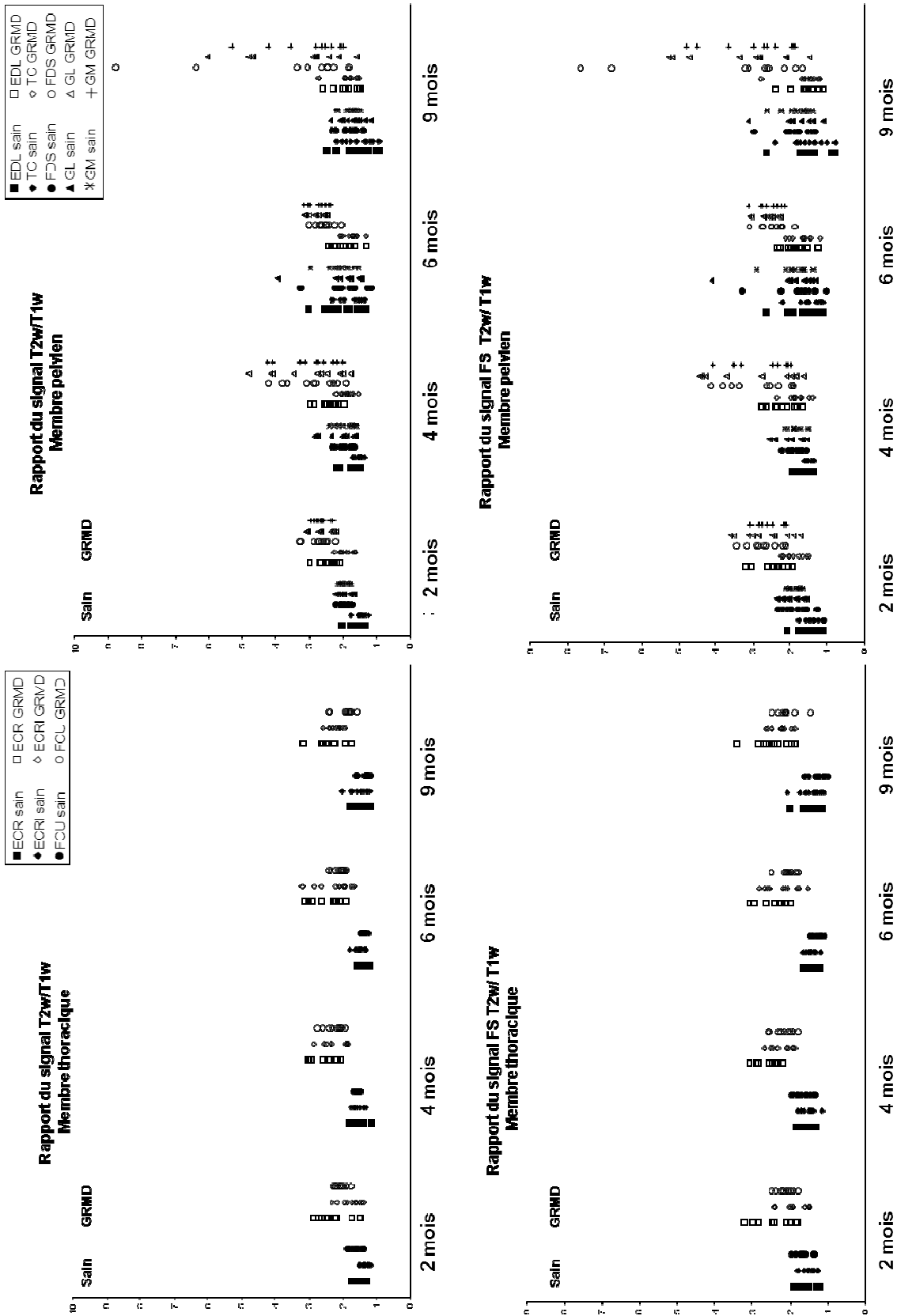


Figure 34 D : Représentation de la répartition des valeurs des rapports de signal PDw/T₂w sans et avec saturation de graisse, en fonction du muscle et de l'âge des chiens

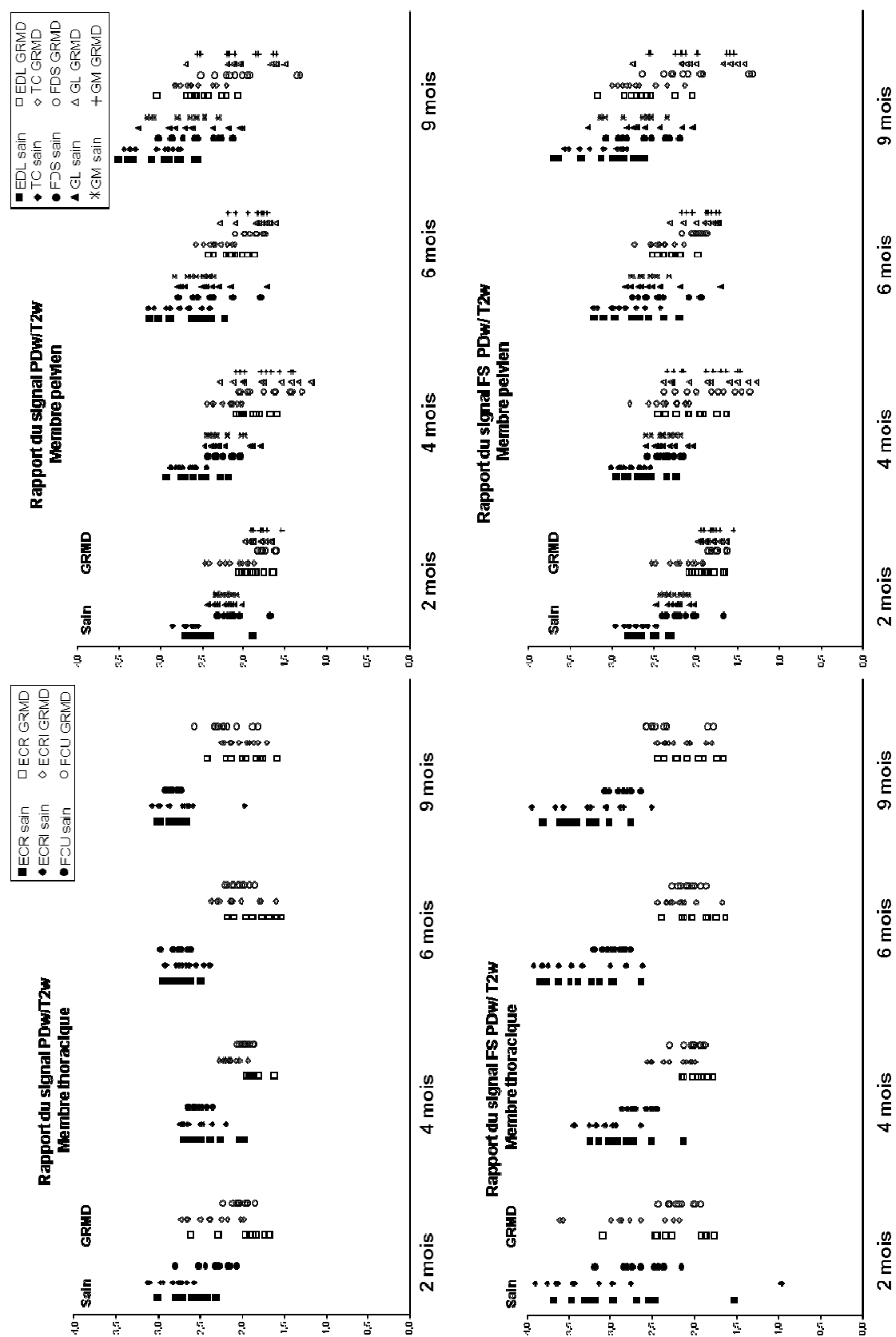
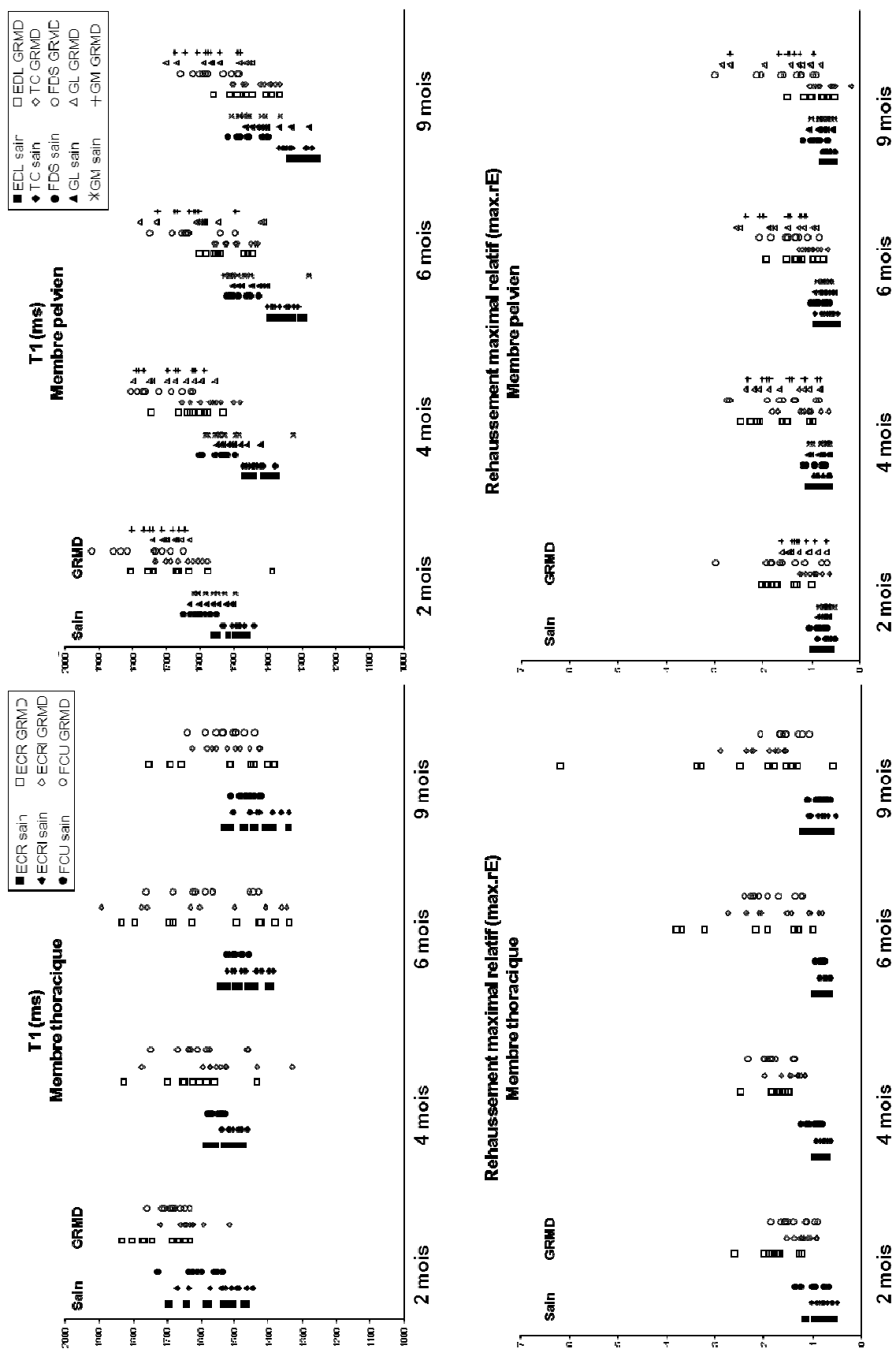


Figure 34 E : Représentation de la répartition des valeurs de T_1 et de rehaussement maximal relatif, en fonction du muscle et de l'âge des chiens



5) Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle

Nous avons observé une augmentation significative de l'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH) chez les chiens GRMD pour huit indices (Tableau 17). Une diminution significative est notée pour l'hétérogénéité du signal musculaire sur les images pondérées en T_1 avec saturation de graisse. Parmi les indices qui présentent une IIH augmentée chez le chien GRMD, deux (T_{100-75} et offset) ne sont pas significativement différents entre les deux populations de chiens mais leur dispersion, telle qu'évaluée avec l'IIH, est plus marquée sur les muscles d'une même ceinture chez le chien dystrophique.

Tableau 17: Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH) des indices les plus pertinents

	FS H1	H2	T_2w/T_1w SR	FS T_2w/T_1w SR	PDw/ T_2w SR	T_1	Max. rE	T_{100-75}	Offset
Chiens sains	0,357	0,177	0,118	0,141	0,085	0,036	0,134	0,304	0,046
Chiens GRMD	0,284	0,241	0,176	0,2	0,11	0,044	0,273	0,433	0,098
Valeur de p	0,03	0,03	0,003	0,0006	0,01	0,05	0,001	0,07	0,005

L'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle (IIH) d'un indice RMN est définie comme son coefficient de variation au sein des muscles des deux membres d'une même ceinture pour un même chien. Les valeurs moyennes de l'IIH sont données avec leur écart-type pour les chiens sains et dystrophiques avec les valeurs de p issues de la comparaison des deux groupes.

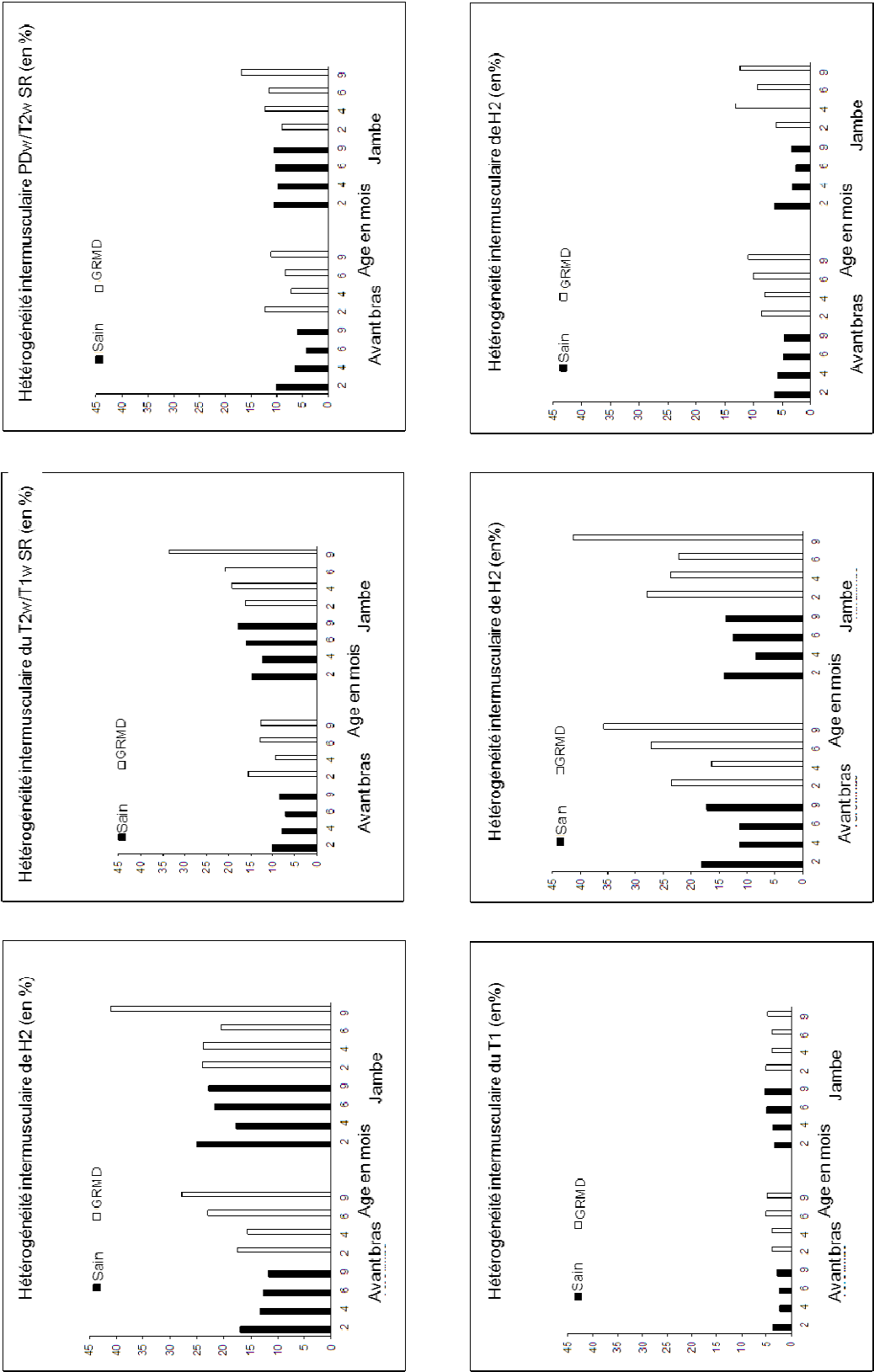
Pour la plupart des IIHs, nous avons observé un effet de la ceinture, avec une hétérogénéité intermusculaire globalement plus importante pour les membres pelviens (Figure 35). Cet effet ceinture est significatif pour les indices d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T_1 avec saturation de graisse et sur les images pondérées en T_2 et de rapports T_2w/T_1w , FS T_2w/T_1w et PDw/ T_2w et pour le T_1 . Une interaction entre la ceinture et le statut clinique du chien est également significative pour le rapport FS T_2w/T_1w , le T_1 , avec un différentiel plus important pour la ceinture thoracique et pour le rehaussement maximal relatif, avec un différentiel de l'IIH plus important pour la ceinture pelvienne.

L'observation la plus intéressante concernant l'IIH est sans aucun doute l'effet de l'âge sur ces indices. Il est significatif pour l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T_2 avec et sans saturation de graisse, pour les rapports T_2w/T_1w et FS PDw/ T_2w et pour le rehaussement maximal relatif. L'augmentation de l'IIH est particulièrement évidente chez le chien GRMD de neuf mois, avec une différence significative pour les indices

d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T_1 , en T_2 avec ou sans saturation de graisse et l'offset concernant la ceinture thoracique et pour l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T_2 , les rapports T_2w/T_1w , FS T_2w/T_1w , et PDw/ T_2w , le rehaussement maximal relatif, le T_{100-75} et l'offset concernant la ceinture pelvienne.

Rapport-Gratuit.com

Figure 35 : Hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle de six indices : évolution au cours du temps chez le chien sain et le chien GRMD



6) Détermination des indices de RMN les plus discriminants et des muscles les plus appropriés à évaluer lors d'un essai préclinique

Comme l'illustrent le tableau 18 et la figure 36, l'aire sous la courbe ROC moyenne est plus importante pour le rehaussement maximal relatif et pour le rapport PDw/T₂w. Parmi les indices évalués, le T₁ a la plus petite aire sous la courbe ROC.

Tableau 18: Puissance discriminante des principaux indices RMN déterminée par l'aire sous la courbe ROC:

	ECR	ECRI	FCU	FDS	GL	GM	EDL	TC	Moy	ET
H2	0,98	0,90	0,95	0,97	0,96	0,92	0,93	0,79	0,92	0,06
T ₂ w/T ₁ w SR	0,99	0,94	0,98	0,90	0,90	0,93	0,78	0,79	0,90	0,08
PDw/T ₂ w SR	0,98	0,93	0,97	0,91	0,89	0,94	0,90	0,92	0,93	0,03
T ₁	0,73	0,73	0,72	0,89	0,87	0,89	0,89	0,87	0,82	0,08
Max rE	0,97	0,97	0,96	0,91	0,95	0,97	0,90	0,82	0,93	0,05
Moy	0,93	0,89	0,92	0,91	0,91	0,93	0,88	0,84		
ET	0,11	0,09	0,11	0,03	0,04	0,03	0,06	0,06		

Les aires sous les courbes ROC ont été calculées pour les cinq indices les plus prometteurs. Les valeurs en gras isolent les meilleurs indices pour chaque muscle. Le rapport PDw/T₂w et le rehaussement maximal relatif sont les indices les plus efficaces pour différencier un muscle dystrophique d'un muscle sain lorsque ces huit muscles sont pris en compte. Les muscles dystrophiques ECR et GM sont les mieux repérés en utilisant ces cinq indices.

L'extenseur radial du carpe et le chef médial du gastrocnémien sont les muscles dystrophiques les mieux différenciés de leurs homologues sains avec les cinq indices évalués. Comme attendu, le tibial crânial est le muscle dystrophique le moins facilement distingué.

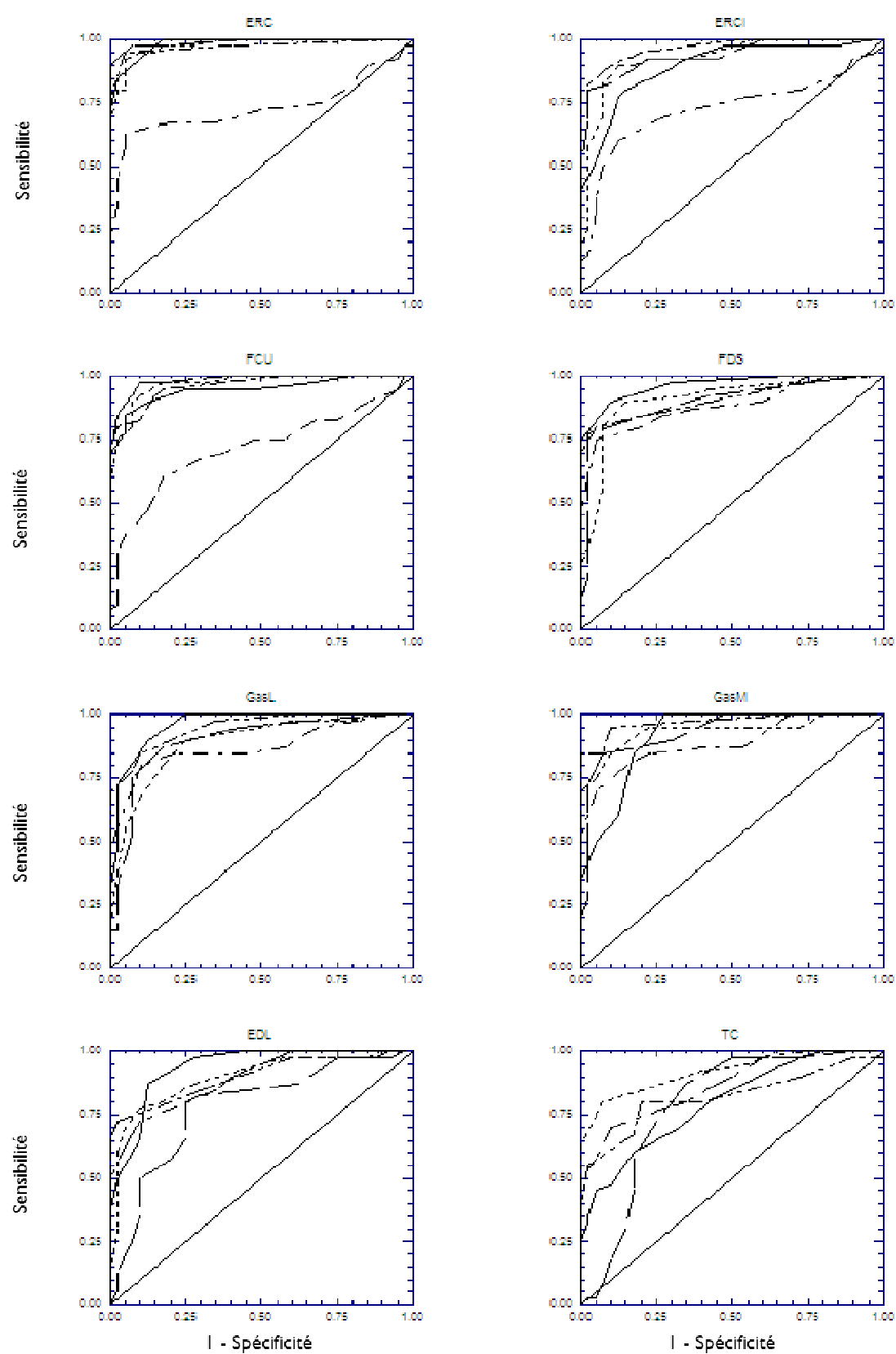
Des variations importantes dans la puissance de discrimination sont observées en fonction du muscle évalué et de l'indice utilisé comme le précise le tableau 19 qui reprend les meilleures valeurs seuils et les sensibilités et spécificités correspondantes. Les indices ont généralement des meilleures sensibilités et spécificités pour les muscles des membres thoraciques.

Tableau 19: Valeurs seuil, sensibilité (Se) et spécificité (Sp) des cinq indices les plus prometteurs

		ECR	ECRI	FCU	FDS	GL	GM	EDL	TC
H2 in %	Valeur seuil	48,20	48,65	46,00	57,62	41,65	49,85	48,36	53,72
	Se/Sp	93/90	80/85	85/95	90/90	90/88	85/83	88/88	60/83
T₂w/T₁w SR	Valeur seuil	1,80	1,81	1,70	2,37	2,20	2,30	1,93	1,59
	Se/Sp	93/98	80/98	98/90	78/98	88/83	85/93	80/75	88/65
PDw/T₂w SR	Valeur seuil	7,75	7,60	7,75	7,88	7,94	7,86	7,69	7,47
	Se/Sp	93/95	90/88	90/93	90/85	80/83	85/90	78/90	80/93
T₁ (ms)	Valeur seuil	1 601	1 536	1 585	1 620	1 553	1 610	1 488	1 491
	Se/Sp	63/95	60/88	60/83	75/95	80/89	70/95	73/90	70/90
Max rE	Valeur seuil	1,17	1,13	1,12	1,13	0,91	1,10	1,01	0,78
	Se/Sp	95/95	80/100	93/85	80/95	85/90	85/100	73/93	80/80

Les valeurs seuil et leurs sensibilités et spécificités correspondantes sont calculées pour les huit muscles étudiés. Elles varient de façon importante en fonction du muscle étudié.

Figure 36: Courbes ROC pour les indices les plus prometteurs



----- : Hétérogénéité du signal musculaire sur les

images pondérées T₂, ----- : Rapport de signal

T_{2W}/T_{1W}, ----- : T₁,

----- : Rehaussement maximal relatif

, : Rapport de signal PDw/T_{2w}.

7) Corrélations entre indices chez le chien GRMD

Le tableau 20 présente les indices de corrélation de Spearman à deux et à neuf mois.

Indépendamment de l'âge, les indices sans saturation de graisse sont bien corrélés à leur équivalent avec saturation de graisse. Dans le même temps, la contribution de la graisse au signal du muscle sur les images pondérées en T₁ n'est corrélée à aucun indice. Comme attendu, des relations entre les rapports T_{2w}/T_{1w} et FS T_{2w}/T_{1w} et les rapports PDw/T_{2w} et FS PDw/T_{2w} sont mises en évidences. De la même façon, une relation entre les rapports T_{2w}/T_{1w} et FS T_{2w}/T_{1w} et le temps T₁ est notée.

Chez les chiens de deux mois, nous observons une corrélation négative entre α et T_{max} et T₁₀₀₋₇₅.

Chez les chiens de neuf mois, les indices d'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 avec et sans saturation de la graisse apparaissent très corrélés avec les rapports T_{2w}/T_{1w} et FS T_{2w}/T_{1w} . L'hétérogénéité du signal sur les images pondérées en T_2 avec saturation de la graisse est également corrélée avec les rapports PDw/T_{2w} et FS PDw/T_{2w} , tout comme le T_1 . Le T_1 est aussi corrélé avec le rehaussement maximal relatif.

Aucune relation n'est trouvée entre les indices des animaux de deux mois et leur équivalent à neuf mois.

Tableau 20 : Coefficients de corrélation de Spearman à deux mois et à neuf mois (cases grisées)

2m	9m	H1	FS-H1	H2	FS-H2	T2/T1	FS-T2/T1	rFS1	PD/T2	FS-PD/T2	T1	Max. rE	Tmax	T100_75	α	Offset
H1			0,52	0,21	-0,17	-0,22	-0,24	0,10	0,20	0,21	-0,02	-0,02	0,13	0,11	-0,20	-0,05
FS-H1		0,58		0,27	0,12	0,04	-0,03	-0,27	0,05	0,01	-0,16	-0,02	-0,03	0,26	-0,13	0,11
H2		0,07	0,31		0,87	0,75	0,71	-0,10	-0,41	-0,39	0,23	0,19	0,49	0,29	-0,36	-0,20
FS-H2		0,01	0,37	0,94		0,80	0,81	-0,01	-0,60	-0,55	0,29	0,34	0,33	0,12	-0,23	-0,23
T2/T1		-0,54	-0,26	0,32	0,32		0,97	-0,02	-0,71	-0,73	0,52	0,28	0,41	0,25	-0,39	-0,29
FS-T2/T1		-0,43	-0,25	0,21	0,25	0,87		0,16	-0,80	-0,82	0,59	0,40	0,42	0,17	-0,37	-0,29
rFS1		0,14	-0,22	-0,08	-0,12	-0,02	0,33		-0,46	-0,40	0,48	0,41	0,03	-0,32	-0,09	-0,09
PD/T2		0,45	0,21	-0,30	-0,29	-0,89	-0,75	-0,01		0,95	-0,72	-0,67	-0,12	-0,04	0,21	0,27
FS-PD/T2		0,49	0,36	-0,23	-0,18	-0,81	-0,67	-0,02	0,91		-0,71	-0,59	-0,16	-0,10	0,28	0,24
T1		-0,15	-0,07	0,19	0,20	0,50	0,50	0,01	-0,42	-0,37		0,64	0,11	0,05	-0,43	-0,34
Max. rE		-0,13	0,16	0,43	0,49	0,25	0,29	-0,04	-0,20	-0,08	0,40		-0,10	-0,16	-0,01	-0,10
Tmax		-0,13	-0,26	-0,05	-0,12	0,27	0,22	0,10	-0,11	-0,18	0,27	-0,02		0,05	-0,51	-0,07
T100-75		0,17	0,03	-0,05	-0,07	-0,13	-0,18	-0,12	0,31	0,34	0,06	-0,02	0,65		-0,15	0,07
α		0,03	0,34	0,14	0,21	-0,15	-0,13	-0,13	0,04	0,14	-0,07	0,27	-0,69	-0,66		0,60
Offset		0,07	0,29	0,42	0,44	-0,06	-0,12	-0,32	0,09	0,19	0,16	0,66	-0,15	0,13	0,44	

Les coefficients dont la valeur absolue est $\geq 0,5$ sont en gras

DISCUSSION

Les résultats de cette étude longitudinale exhaustive d'imagerie par RMN confirment et renforcent les conclusions de l'étude préliminaire, qui était plus restreint et se limitait à une comparaison transversale des indices des muscles des avant-bras entre une population de jeunes chiens GRMD et une population de jeunes chiens sains de deux mois (161).

Chez le chien GRMD, quel que soit l'âge et dans la majorité des muscles, les lésions dystrophiques résultent en des anomalies des propriétés magnétiques du tissu altéré qui sont quantifiables avec une série d'indices facilement obtenus à partir des examens d'imagerie de ces muscles.

D'autre part, il est important de noter que les données rapportées dans ce document ont été obtenues sur des chiens différents de l'étude préliminaire. Les mesures ont été réalisées dans un aimant différent et plus disponible (trois Teslas contre quatre Teslas dans l'étude précédente) avec un scanner clinique (Siemens Trio), *versus* un spectromètre semi expérimental (Bruker) (161). De ce fait, la cohérence des résultats entre cette étude et l'étude précédente est un argument fort pour défendre le bien-fondé de ces résultats et démontre que les lésions dystrophiques sont suffisamment marquées pour être détectées par imagerie RMN et ce, quelles que soient les conditions techniques et le niveau de l'équipement. Ces considérations ajoutent une plus-value notable à la collection précise d'informations patiemment implémentée durant cette longue étude observationnelle. En effet, la base de données créée dans cette étude sert déjà de référence pour l'évaluation non-sanglante d'un protocole de thérapie génique par saut d'exon appliqué sur le membre antérieur des chiens GRMD. L'évaluation préliminaire de son utilisation dans ce cadre a été jugée encourageante. Cependant, ce n'est qu'après l'obtention de toutes les mesures et la comparaison des indices avec l'aspect histologique des muscles que l'intérêt de l'imagerie RMN quantitative comme un outil d'évaluation sera établi (93,174). Les données de références générées durant cette étude seront un élément important de ce processus de validation.

L'absence d'examen histologique pourrait être perçue comme un point faible de cette étude et c'est bien une de ses limites. Cependant, il était par définition impossible d'obtenir des informations histologiques dans le cadre de ce protocole car le même animal a été examiné de façon itérative, profitant du caractère non-sanglant de la technique pour assurer un suivi longitudinal non biaisé. Des biopsies chirurgicales à ciel ouvert auraient causé des lésions musculaires et altéré la pertinence de nos résultats. Des biopsies à l'aiguille auraient été de peu de valeur du fait de leur petite taille au vu de la variabilité de distribution des lésions au sein des muscles. De plus, l'obtention des paramètres histologiques totalement quantitatifs et issus de zones

clairement identifiables sur les images, qui est la seule option sensée dans ce contexte, reste un défi non relevé, en particulier chez les animaux de grande taille.

Rapport-Gratuit.com

De nouveaux indices de RMN décrivent le muscle dystrophique chez le chien GRMD

En comparaison avec notre précédent travail, un des objectifs de notre étude était d'introduire de nouveaux indices de caractérisation du muscle dystrophique du chien GRMD (161). Certains ont été une extrapolation logique basée sur nos connaissances existantes. L'augmentation du T_2 du muscle squelettique est une anomalie fréquente souvent en relation avec l'évolution d'une maladie incluant une dystrophie musculaire (49,85). Nous l'avons précédemment approchée en utilisant un indice composite, le rapport T_{2w}/T_{1w} et nous l'avons évaluée ici plus directement avec une séquence PDw/ T_{2w} associant ou non une suppression de graisse. Ceci nous a permis de calculer le T_2 du muscle en négligeant le bruit et les imperfections du matériel.

Une approche plus innovante a été la démonstration des anomalies de relaxation du T_1 dans le muscle dystrophique. Celles-ci ont été précédemment démontrées à bas et très bas champ à l'aube de l'imagerie in vivo (38,104,113). Depuis cette époque, ces anomalies n'avaient jamais été exploitées. Ceci est probablement lié à l'idée reçue statuant que les images pondérées T_1 sont peu informatives quant à la démonstration de lésions musculaires. Cette séquence d'imagerie est utilisée pour sa capacité à détecter une infiltration graisseuse intramusculaire et à cartographier l'étendue de cette modification dégénérative au sein du muscle. C'est par ce biais qu'il a un intérêt diagnostique qui n'est pas toujours correctement expliqué (60,97). Cependant, les modifications de la dynamique des molécules d'eau responsables de l'augmentation du T_2 du muscle augmentent en priorité leur mobilité résultant en une réduction des temps de corrélation. De ce fait, le T_1 du muscle devrait être altéré également (59). C'est effectivement ce que nous avons observé même si les modifications du T_1 sont de petites amplitudes, seulement quelques pourcents. Pour la plupart des muscles investigués, les courbes ROC ont démontré que le T_1 n'était pas un indice particulièrement discriminant. Cependant, la mesure du T_1 en particulier avec des séquences standards de saturation récupération ou inversion récupération, est particulièrement robuste face aux imperfections du matériel. Ceci l'oppose à la mesure du T_2 qui est extrêmement sensible aux erreurs d'ajustement et ce pourrait être un argument pour utiliser la mesure du T_1 comme un outil d'évaluation de second ordre.

Distribution topographique des altérations musculaires détectée par imagerie par RMN

Plusieurs muscles apparaissent systématiquement plus affectés que d'autres et avec la plupart des indices de RMN. Les courbes ROC ont été particulièrement utiles pour identifier ces muscles, l'extenseur radial du carpe pour le membre thoracique et le gastrocnémien médial pour le membre pelvien. Au contraire, le tibial crânial apparaît réservé dans une certaine mesure. En dépit de l'impossibilité d'une comparaison rigoureuse avec un

prélèvement histologique, ces données corroborent des caractéristiques pathologiques bien connues (90).

Nous avons d'autre part observé que la ségrégation entre les muscles normaux et dystrophiques était dans l'ensemble meilleure pour les membres thoraciques que pour les membres pelviens. La progression des lésions et donc la différenciation entre le muscle normal et le muscle malade est aussi plus clairement observable sur les membres thoraciques. L'explication de ce phénomène est incertaine mais pourrait être reliée au report du poids sur les membres thoraciques observés sur le chien GRMD. D'un point de vu pragmatique, cette constatation suggère qu'il sera plus facile de démontrer un effet thérapeutique d'une intervention sur les membres thoraciques, particulièrement sur l'extenseur radial du carpe et le fléchisseur ulnaire du carpe, du fait d'une meilleure séparation des indices des muscles malades de ceux des muscles sains et d'une moindre dispersion. Cependant, la progression des altérations avec l'âge n'a été mise en évidence que pour le chef long du muscle extenseur radial du carpe après 6 mois, en utilisant le rapport PDw/T₂w. Ce muscle pourrait être intéressant dans les essais précliniques où l'évaluation finale est après cet âge.

L'hétérogénéité intermusculaire intra-individuelle

Cet indice de caractérisation individuelle a été développé pour procurer une mesure objective et directe d'une constatation qui était évidente à la simple inspection visuelle des images RMN des membres des chiens dystrophiques : une distribution anormalement étendue de l'intensité du signal entre les muscles particulièrement évidente sur les images pondérées en T₂. L'avantage de définir un indice rigoureux n'était pas seulement d'ajouter une nouvelle mesure quantitative permettant la comparaison entre groupes mais aussi de rendre possible la démonstration d'une hétérogénéité intermusculaire anormale pour d'autres indices, en particulier ceux pour qui cette caractéristique était peu ou pas détectable à la simple inspection visuelle.

Cet indice ajoute un troisième niveau de complexité à la caractérisation du muscle dystrophique : non seulement les muscles des chiens GRMD apparaissent globalement différents pour une variété de contraste RMN mais aussi l'intensité du signal à l'intérieur des muscles est anormalement hétérogène et, surtout, on observe des différences importantes dans le signal des muscles appartenant à une même région anatomique. En conséquence les différences intramusculaires et intermusculaires doivent toutes être considérées pour une caractérisation exhaustive dystrophique du muscle RMN. Chaque catégorie a besoin d'être évaluée en détail comme un potentiel marqueur RMN de la réponse du muscle dystrophique à une intervention quelle qu'en soit la nature.

Absence de dégénérescence adipeuse dans les muscles distaux des chiens GRMD de moins de un an

Une différence majeure entre le patient Duchenne et le chien GRMD est le faible niveau de dégénérescence graisseuse des muscles appendiculaires distaux du modèle canin. Ceci est similaire à ce que l'on trouve chez la souris mdx. Il n'y a aucune explication définitive pour cette incohérence. La différence de durée de vie doit certainement y contribuer. La progression de la maladie peut être aussi particulièrement rapide et grave chez le chien GRMD : moins de 50% des chiens survivent plus de un an et demi. Les chiens plus âgés montrent cependant quelques infiltrations graisseuses dans les muscles des ceintures. Au début de la colonie, les animaux pouvaient vivre plusieurs années et l'on trouvait alors dans leur musculature un certain degré de dégénérescence graisseuse.

Quoiqu'il en soit, la raison pour laquelle le muscle du chien GRMD développe un degré de fibrose important, l'autre principale modification, alors qu'il reste essentiellement épargné par la dégénérescence graisseuse, exception faite des muscles des ceintures des animaux âgés, reste indéterminée.

L'absence de dégénérescence graisseuse doit-elle être un frein à l'utilisation du chien GRMD comme modèle du patient Duchenne, en particulier dans les essais thérapeutiques précliniques ?

Il n'y a aucune preuve solide que l'induction de l'expression dystrophine dans un muscle initialement déficient soit capable de réduire les modifications dégénératives chroniques déjà installées. Le mieux que nous puissions espérer est l'arrêt de la progression de ces lésions terminales qui pourrait alors être objectivé par une modification dans la pente de progression de l'infiltration graisseuse. Pour décrire cet élément, il serait nécessaire d'avoir une quantification très précise de la fraction graisseuse du muscle en répétant une méthode Dixon par exemple, sur une longue période de temps (187). Cette évaluation est prévue dans les futurs essais thérapeutiques chez le patient Duchenne. La pertinence de cette approche ne peut être testée chez le chien, ce qui est une limite, avec tout de même la possible exception des muscles des ceintures. D'autre part, l'effet immédiat de l'expression dystrophine est la stabilisation du sarcolemme, la normalisation de sa perméabilité, la prévention des dommages cellulaires et de nouveaux cycles de nécroses et de régénérations. Ces changements à court terme de l'activité de la maladie peuvent être suivis par la mesure du T₂ ou par l'étude du rehaussement du signal après injection de chélate de gadolinium. Ces indices peuvent être utilisés très précocement comme indicateurs essentiels du succès de l'intervention thérapeutique. Ce rôle essentiel de la RMN peut être mis à profit chez le chien GRMD. Dans cette perspective, l'absence d'infiltration graisseuse peut même être perçue comme un avantage. Dans certaines situations, la graisse peut se comporter comme un facteur d'erreur qui empêche le suivi de l'activité de la maladie, en particulier avec les

mesures de T_2 . De ce fait, ceci pourrait rendre le modèle canin GRMD encore plus attractif.

Une évolution limitée des indices avec l'âge chez le chien GRMD

L'observation surprenante de cette étude a été l'absence de changement des modifications RMN traduisant les altérations musculaires avec l'évolution de la maladie. Pour de nombreux indices, il y a une augmentation modérée et différentielle entre le muscle dystrophique et le muscle sain au cours du temps, mais seulement pour les membres thoraciques. L'explication la plus plausible est la dépendance majoritaire de nos indices RMN à l'activité de la maladie : l'inflammation, les altérations des myocytes et la nécrose. Bien qu'il soit probable, que certains indices sont influencés par l'existence de la fibrose, sa conséquence est probablement faible. Une observation intéressante corroborant cette interprétation est le faible pouvoir discriminant de l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_1 en comparaison de l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 , alors que la contribution du tissu fibreux à l'hétérogénéité du signal devrait être majoritaire sur les séquences pondérées T_1 . Cette constatation renforce si nécessaire le besoin d'une séquence RMN qui permettrait la visualisation directe de la composante fibreuse. L'utilisation de séquences avec un TE ultracourt, actuellement en cours d'investigation pour la caractérisation du muscle squelettique, permettra peut-être d'atteindre cet objectif (165).

Les corrélations entre indices chez le chien GRMD

Nous avons démontré que de nombreux indices étaient corrélés entre eux lorsque les comparaisons étaient faites pour un âge donné. Certains d'entre eux étaient, de fait, intimement liés du fait d'une dépendance partielle ou complète à des variables RMN identiques : le rapport T_{2w}/T_{1w} et le rapport PDw/T_{2w} , le rapport T_{2w}/T_{1w} et la mesure de T_1 . De plus, du fait de la faible infiltration graisseuse chez le chien GRMD, une étroite corrélation entre les indices non saturés et saturés en graisse était anticipée. Elle a en effet été observée entre l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 avec et sans saturation de graisse entre les rapports PDw/T_{2w} et FS PDw/T_{2w} et entre les rapports T_{2w}/T_{1w} et FS T_{2w}/T_{1w} . Clairement, la valeur ajoutée de telles corrélations sur la compréhension de la maladie est nulle, mais il est important de les souligner car les indices résultent d'acquisitions différentes. Si deux séries d'images acquises successivement avec des paramètres d'acquisition différents soulignent les mêmes anomalies, la probabilité de ces anomalies est considérablement renforcée.

Les corrélations entre les groupes d'indices (ceux liés à l'hétérogénéité du tissu, ceux reflétant les modifications des temps de relaxation et ceux obtenus après l'injection de chélate du gadolinium) sont d'une plus grande pertinence quant à leur signification. A deux mois, de telles corrélations sont dans l'ensemble inexistantes alors qu'à neuf mois, elles sont fréquemment observées, en particulier entre l'hétérogénéité du signal sur les images pondérées T_2 avec saturation de graisse et le rapport FS T_{2w}/T_{1w} et le

rehaussement maximal relatif et le rapport PDw/T₂w ou T₁. L'interprétation est loin d'être univoque. Lorsque les dommages cellulaires et les altérations membranaires sont prédominants, il est attendu que tant le T₂ (approché par le rapport PDw/T₂w) que le rehaussement maximal relatif soient augmentés idéalement en parallèle. Quand la fibrose est la principale modification pathologique, seul le rehaussement principal relatif est censé être augmenté et une faible corrélation entre le T₂ et le rehaussement principal relatif est prévisible. Les observations réalisées dans cette étude indiqueraient que le processus dystrophique est toujours très actif à neuf mois et, en effet, reste prédominant. L'absence de corrélation à deux mois est difficile à expliquer par la prédominance de la fibrose à cet âge mais pourrait plutôt refléter le manque de dispersion des données en particulier sur le membre pelvien.

Apport de l'imagerie par RMN dans la caractérisation du muscle dystrophique

Comme nous l'avons déjà souligné, les caractéristiques RMN du muscle dystrophique ont une très faible spécificité et sont, de ce fait, d'une valeur diagnostique limitée. Ceci est hors de propos dans notre objectif, les modèles animaux sont sélectionnés pour une maladie définie. Chez l'homme, le rôle de la RMN comme un critère d'évaluation est totalement déconnecté de son rôle diagnostique. L'objectif est de posséder des marqueurs non sanguins de la gravité de la maladie, de son extension, de sa progression et de sa réponse à un traitement lorsque ce dernier est disponible.

Un des éléments clés de cette étude a été la confirmation que l'augmentation du T₂ et que le rehaussement anormal du signal après injection de Gd-DTPA permet la meilleure discrimination du muscle dystrophique par rapport au muscle sain avec une sensibilité aussi élevée que 93% et 95% et une spécificité aussi haute et aussi importante que 95% et 95% pour l'extenseur radial du carpe. Nous pourrions tirer des conclusions similaires avec les mêmes variables chez les modèles rongeurs de myopathie dystrophique (158,160,176). Cependant, ce ne sont pas les données RMN par elles-mêmes qui rendent nos observations particulièrement pertinentes. De nombreuses stratégies thérapeutiques couronnées de succès chez la souris ont échoué lorsqu'elles sont appliquées chez des animaux de grande taille ou chez l'homme (98). De tels problèmes de transfert d'échelle ne sont pas à craindre chez des chiens qui ont une taille comparable aux jeunes patients Duchenne. En conséquence, l'utilisation des marqueurs RMN du muscle dystrophique est autrement plus pertinente. La démonstration de la capacité des biomarqueurs RMN à différencier le muscle dystrophique du muscle sain, ce qui a été réalisé dans cette étude, et le suivi de la réponse thérapeutique dans des protocoles précliniques, qui est le travail en cours, sont porteurs de beaucoup plus de sens et nous permettent d'être optimistes quant à leur utilisation comme des critères d'évaluations itératifs et non sanguins dans les futurs essais thérapeutiques de la dystrophie musculaire de Duchenne.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce travail de développement en parallèle de deux outils d'évaluation du chien GRMD s'est avéré fructueux, et permet de proposer ces deux méthodes, en réponse à la problématique soulevée par le manque d'outils d'évaluation de ce modèle. Ces deux méthodes sont non-invasives, l'une se pratiquant sur animal vigile équipé d'un dispositif léger et non implanté, et l'autre nécessitant seulement une anesthésie générale. Il s'agissait là d'un pré-requis au choix de ces deux méthodes, et qui offre la possibilité d'une utilisation conjointe au cours d'une même étude. Leur caractère non-invasif et leur bonne tolérance par les animaux permet également d'envisager un suivi longitudinal composé d'examens itératifs, comme cela a d'ailleurs été effectué dans ce travail. Enfin, ces deux méthodes évaluant l'individu dans sa globalité, mais à des niveaux différents, permettent conjointement d'obtenir une information complète sur un individu, examiné dans son entièreté.

L'accélérométrie tri-dimensionnelle, comme outil d'analyse de marche, mesure des anomalies de locomotion qui sont le reflet combiné des anomalies musculaires (qui seront spécifiquement mesurées par imagerie par RMN), mais aussi des anomalies tendineuses, ligamentaires et osseuses qui en découlent. Les fonctions respiratoire et cardiaque, également touchées dans cette maladie, et qui sont sollicitées lors d'un exercice musculaire, impactent très probablement le test locomoteur. Ce dernier en ressort donc un peu moins spécifique de la fonction propre du muscle, mais son intérêt s'en trouve renforcé, dans le cadre d'une évaluation globale de l'individu, empreinte de la notion clinique d'évaluation de la « qualité de vie ». En amont au sein de la chaîne d'évaluation, l'imagerie par RMN a été proposée pour évaluer spécifiquement la structure musculaire, comme une alternative innovante au prélèvement invasif d'une biopsie, au demeurant peu représentative de la situation du muscle dont elle est issue, et a fortiori des autres muscles de l'organisme. Plusieurs groupes musculaires peuvent donc être examinés simultanément, dans leur intégralité, fournissant des informations plus pertinentes et complètes qu'une biopsie chirurgicale, qui aurait par ailleurs probablement interféré avec des tests tels que celui de l'analyse de marche par accélérométrie, compromettant la fiabilité de ses mesures. L'imagerie par RMN comme outil d'évaluation du chien GRMD présente par ailleurs l'intérêt de pouvoir être mise en œuvre indifféremment dans le cadre de stratégies thérapeutiques locales, loco-régionales ou systémiques. L'accélérométrie, quant à elle, ne peut être envisagée comme outil d'évaluation que dans le cadre d'essais systémiques. L'évaluation d'un muscle ou d'un membre traité pourra être réalisée à l'aide d'autres outils d'évaluation plus focaux, tels que la mesure de force musculaire. L'utilisation conjointe de ces deux méthodes peut donc être proposée au cours d'essais systémiques.

Une limitation de l'étude menée ici est liée au fait que les deux méthodes ont été mises au point sur des individus différents. Il serait pourtant intéressant d'étudier les interactions et corrélations éventuelles entre les mesures obtenues via ces deux outils. Les chiens qui présentent les anomalies de locomotion les plus prononcées sont-ils ceux dont la structure musculaire est la plus remaniée ? L'hétérogénéité inter-individuelle est-elle quantifiée de la même manière via ces deux méthodes ? La pente d'évolution d'un chien donné est-elle comparable entre les deux méthodes ? Y-a-t-il certains muscles qui sont de meilleurs prédicteurs des anomalies de locomotion que d'autres ? Y-a-t-il certains indices d'imagerie par RMN qui reflètent mieux les anomalies de locomotion mesurées par accélérométrie ? Toutes ces questions restent malheureusement en suspens, mais ne manqueront pas d'être posées dans le cadre d'une prochaine étude.

D'autres perspectives sont offertes par ces deux méthodes innovantes, et sont déjà en cours d'exploration. Le test d'accélérométrie, réalisé à un stade précoce de la maladie (à l'âge de deux mois), permettrait de prédire l'évolution clinique des animaux (perte ou non de l'ambulation). La RMN, via la spectroscopie du phosphore, peut permettre d'évaluer le muscle sur le plan de sa fonction énergétique et du métabolisme membranaire, offrant des indices cette fois plus fonctionnels que structurels (178), permettant de compléter avantageusement la panoplie d'indices RMN développés. Une évaluation par imagerie par RMN appliquée au cœur (étude structurelle et fonctionnelle, globale et focale via la mesure d'asynchronisme), et au diaphragme est également en cours de mise au point et devrait ainsi offrir la possibilité d'une évaluation « corps entier », alliant structure et fonction, précieuse lors d'essais systémiques. Ces nouvelles perspectives permettront dans un futur proche d'améliorer encore l'évaluation du chien GRMD au cours d'essais thérapeutiques, en permettant de connaître l'évolution clinique programmée des individus, et de mesurer de manière non-invasive le métabolisme énergétique musculaire, mais également les anomalies structurelles du diaphragme et du cœur, et la dysfonction myocardique.

Le travail exposé ici permet donc de proposer ces deux méthodes validées pour évaluer les animaux durant un essai thérapeutique. Ces méthodes sont ici livrées « clé en main », fournies avec des données obtenues sur chiens GRMD non traités, auxquelles se référer pour y comparer des chiens sous traitement. Que ce soit par accélérométrie ou par imagerie par RMN, les animaux de référence ont été évalués de deux à neuf mois, une fenêtre d'âge large, dans laquelle sont en général menés les essais pré-cliniques. De manière évidente, la quantification précise et objective permise par ces deux outils constitue un bond en avant dans la gestion méthodologique des essais menés chez le chien GRMD. L'un comme l'autre, ils ont d'ailleurs d'ores et déjà été utilisés au cours d'essais thérapeutiques, et ont tous deux permis d'identifier clairement un effet positif suite à un traitement pharmacologique dans le cas de l'accélérométrie (18), ou de thérapie génique, pour l'imagerie par RMN (93,174). Dans les deux cas, ils ont été utilisés dans le cadre

d'une évaluation multi-paramétrique, et nul doute que leur combinaison permettrait d'élargir encore la portée des résultats obtenus, en mettant à profit leur complémentarité. À un autre niveau, ces outils peuvent constituer une aide à la préparation de protocoles thérapeutiques : suivant les objectifs énoncés et les cibles thérapeutiques envisagées, la fenêtre thérapeutique pourra être adaptée grâce à l'histoire naturelle des animaux quantifiée par ces deux méthodes. L'imagerie par RMN pourra constituer une aide précieuse pour choisir un muscle ou un groupe musculaire à traiter, en fonction de l'âge et des effets attendus. De la même façon, toujours en s'appuyant sur l'histoire naturelle du chien GRMD décrite ici, et suivant l'âge auquel seront évalués les animaux, les muscles à évaluer seront ciblés plus précisément, et les indices mesurés par accélérométrie et imagerie par RMN seront également adaptés au contexte.

L'apport majeur que constitue la mise au point de ces deux techniques pour les essais thérapeutiques pré-cliniques constitue une avancée sur le plan des perspectives translationnelles. De ces essais menés sur une reproduction canine de la maladie humaine, sont en effet attendus des résultats directement transposables au patient. La quantification des différentes fonctions touchées dans cette maladie était donc cruciale, et les deux méthodes proposées sont une réponse à ce besoin d'évaluer finement la situation du modèle pré-clinique de DMD. La qualité translationnelle des résultats des essais thérapeutiques en sera donc améliorée. Au-delà de ce progrès, la transposabilité des résultats du chien à l'Homme sera également facilitée par le fait que les deux méthodes choisies sont utilisées chez les patients. Encore à un autre niveau, il est important de souligner que l'utilisation au stade pré-clinique de ces méthodes de grade clinique ont permis d'apporter de nouveaux éléments applicables au patient. Ainsi, l'accélérométrie comme outil d'analyse de marche, d'abord proposé chez le chien GRMD, se démocratise désormais chez les patients DMD, dont la locomotion est ainsi évaluée dans des centres de plus en plus nombreux, comme alternative à des tests plus rudimentaires tels que le six minutes de marche. Les marqueurs prédictifs accélérométriques actuellement à l'étude chez le chien, pourront par la suite être proposés aux patients, pour améliorer leur suivi clinique. L'étude d'imagerie par RMN du muscle dystrophique canin a permis d'identifier des anomalies structurales initialement non décrites chez les patients DMD, et qui pourraient constituer une avancée significative pour l'évaluation de cette maladie humaine. L'ensemble de ces éléments démontre, une fois encore, l'intérêt de ce modèle en recherche translationnelle, tant pour l'évaluation de thérapies que pour l'apport qu'il constitue à la compréhension de la maladie humaine.

Rapport-Gratuit.com

CONCLUSION

Ce travail a permis de développer deux outils d'évaluation du chien GRMD, et de démontrer leur intérêt pour améliorer la gestion méthodologique de ces animaux au cours d'essais pré-cliniques. En effet, ces deux outils permettent d'obtenir des mesures quantitatives et objectives, capables de discriminer de manière forte les individus malades des individus sains. Non invasifs, ils peuvent faire l'objet d'examens itératifs dans le cadre d'un suivi longitudinal. Ces deux méthodes, certes différentes, sont complémentaires : l'une évalue la fonction locomotrice de manière très globale et constitue un outil de mesure de l'objectif final recherché des thérapies : améliorer la fonction musculaire globale. L'autre se situe plus en amont, et permet de quantifier l'atteinte structurelle du muscle, dont l'amélioration constitue le point de départ d'une éventuelle amélioration fonctionnelle, et également un objectif thérapeutique majeur. La faisabilité d'un suivi par ces deux méthodes a été démontrée dans ce travail, mais également au cours d'essais thérapeutiques durant lesquels elles ont été utilisées avec succès, permettant la démonstration claire d'un bénéfice thérapeutique, dans le cadre d'une évaluation multi-paramétrique (18,93,174). Ce travail livre par ailleurs ces deux méthodes « clé en main », accompagnées de données de référence obtenues sur des chiens GRMD non traités, auxquelles peuvent être confrontées des données obtenues chez des chiens après ou en cours de traitement, sur une large fenêtre d'âge, étendue de deux à neuf mois. Accélérométrie et imagerie par RMN n'interférant pas l'une avec l'autre, leur utilisation combinée peut désormais être proposée au cours des essais pour obtenir des résultats d'intérêt complémentaire, et aisément transposables au patient, chez lesquels ces deux méthodes d'évaluation sont utilisées. L'emploi de telles méthodes déjà utilisées en clinique, dans cette phénocopie canine du patient DMD, ne fera que renforcer son intérêt translationnel au stade pré-clinique.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN DG, GERVASIO OL, YEUNG EW, WHITEHEAD NP. Calcium and the damage pathways in muscular dystrophy. *Can. J. Physiol Pharmacol.*, 2010, **88**, 83-91
2. ALLEN K, DECAMP CE, BRADEN TD, BAHNS M. Kinematic gait analysis of the trot in healthy mixed breed dogs. *Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology*, 1994, **7**, 148-153
3. AMBROSIO CE, FADEL L, GAIAD TP, MARTINS DS, ARAUJO KP, ZUCCONI E *et al.* Identification of three distinguishable phenotypes in golden retriever muscular dystrophy. *Genet. Mol. Res.*, 2009, **8**, 389-396
4. AMBROSIO CE, VALADARES MC, ZUCCONI E, CABRAL R, PEARSON PL, GAIAD TP *et al.* Ringo, a Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD) dog with absent dystrophin but normal strength. *Neuromuscul. Disord.*, 2008, **18**, 892-893
5. AMTHOR H, EGELHOF T, MCKINNELL I, LADD ME, JANSSEN I, WEBER J *et al.* Albumin targeting of damaged muscle fibres in the mdx mouse can be monitored by MRI. *Neuromuscul. Disord.*, 2004, **14**, 791-796
6. ANDRIACCHI TP, ALEXANDER EJ. Studies of human locomotion: past, present and future. *J. Biomech.*, 2000, **33**, 1217-1224
7. ARMAND S, MERCIER M, WATELAIN E, PATTE K, PELISSIER J, RIVIER F. A comparison of gait in spinal muscular atrophy, type II and Duchenne muscular dystrophy. *Gait. Posture.*, 2005, **21**, 369-378
8. ARTSMA-RUS A, JANSON AA, KAMAN WE, BREMMER-BOUT M, VAN OMMEN GJ, DEN DUNNEN JT *et al.* Antisense-induced multiexon skipping for Duchenne muscular dystrophy makes more sense. *Am. J. Hum. Genet.*, 2004, **74**, 83-92
9. AUDIGIE F, POURCELOT P, DEGUEURCE C, GEIGER D, DENOIX JM. Fourier analysis of trunk displacements: a method to identify the lame limb in trotting horses. *J. Biomech.*, 2002, **35**, 1173-1182
10. AUVINET B, BERRUT G, TOUZARD C, MOUTEL L, COLLET N, CHALEIL D *et al.* Reference data for normal subjects obtained with an accelerometric device. *Gait. Posture.*, 2002, **16**, 124-134
11. BALTZER WI, CALISE DV, LEVINE JM, SHELTON GD, EDWARDS JF, STEINER JM. Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Weimaraner. *J. Am. Anim Hosp. Assoc.*, 2007, **43**, 227-232

12. BANKS GB, CHAMBERLAIN JS. The value of mammalian models for duchenne muscular dystrophy in developing therapeutic strategies. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 2008, **84**, 431-453
13. BARREY E. Methods, applications and limitations of gait analysis in horses. *Vet. J.*, 1999, **157**, 7-22
14. BARREY E, GALLOUX P, VALETTE JP, AUVINET B, WOLTER R. Stride characteristics of overground versus treadmill locomotion in the saddle horse. *Acta Anat. (Basel)*, 1993, **146**, 90-94
15. BARTHELEMY I, BARREY E, AGUILAR P, URIARTE A, LE CM, THIBAUD JL *et al.* Longitudinal ambulatory measurements of gait abnormality in dystrophin-deficient dogs. *BMC. Musculoskelet. Disord.*, 2011, **12**, 75-
16. BARTHELEMY I, BARREY E, THIBAUD JL, URIARTE A, VOIT T, BLOT S *et al.* Gait analysis using accelerometry in dystrophin-deficient dogs. *Neuromuscul. Disord.*, 2009, **19**, 788-796
17. BARTHELEMY I, THIBAUD JL, CARELLE N, TIRET L, VULIN A, DROUGARD C *et al.* Clinical Description and Molecular Analysis of a Promising Model of DMD, the LRMD Dog. *In* : Proceedings of the 12th international congress of the World Muscle Society, Taormina, Sicile, Italia, September 2007, 776 (*Neuromuscul. Disord.*, 2007, **17**)
18. BARTHELEMY I, URIARTE A, DROUGARD C, UNTERFINGER Y, THIBAUD JL, BLOT S. Effects of an Immunosuppressive Treatment in the GRMD Dog Model of Duchenne Muscular Dystrophy. *PLoS. One*, 2012, **7**, e48478
19. BARTLETT RJ, WINAND NJ, SECORE SL, SINGER JT, FLETCHER S, WILTON S *et al.* Mutation segregation and rapid carrier detection of X-linked muscular dystrophy in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 1996, **57**, 650-654
20. BELLINGER AM, REIKEN S, CARLSON C, MONGILLO M, LIU X, ROTHMAN L *et al.* Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. *Nat. Med.*, 2009, **15**, 325-330
21. BENCHAOUIR R, MEREGALLI M, FARINI A, D'ANTONA G, BELICCHI M, GOYENVALLE A *et al.* Restoration of human dystrophin following transplantation of exon-skipping-engineered DMD patient stem cells into dystrophic mice. *Cell Stem Cell*, 2007, **1**, 646-657
22. BERGMAN RL, INZANA KD, MONROE WE, SHELL LG, LIU LA, ENGVALL E *et al.* Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Labrador retriever. *J. Am. Anim Hosp. Assoc.*, 2002, **38**, 255-261
23. BIAU S, COUVE O, LEMAIRE S, BARREY E. The effect of reins on kinetic variables of locomotion. *Equine Vet. J. Suppl*, 2002, 359-362
24. BLOT S, Communication personnelle

25. BLOT S, CARELLE N, BEROUD JL, THIBAUD JL, DEBURGRAVE N, ESCRIOU C *et al.* LRMD, a new canine model of dystrophinopathy in a Labrador Retriever strain. *In* : Proceedings of the 10th international congress on neuromuscular diseases, Vancouver, Canada, July 2002, 199 (*J. Neurol. Sci.*, 2002, **S9**)
26. BODENSTEINER JB, ENGEL AG. Intracellular calcium accumulation in Duchenne dystrophy and other myopathies: a study of 567,000 muscle fibers in 114 biopsies. *Neurology*, 1978, **28**, 439-446
27. BOGDANOVICH S, KRAG TO, BARTON ER, MORRIS LD, WHITTEMORE LA, AHIMA RS *et al.* Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature*, 2002, **420**, 418-421
28. BONILLA E, SAMITT CE, MIRANDA AF, HAYS AP, SALVIATI G, DIMAURO S *et al.* Duchenne muscular dystrophy: deficiency of dystrophin at the muscle cell surface. *Cell*, 1988, **54**, 447-452
29. BREBNER NS, MOENS NM, RUNCIMAN JR. Evaluation of a treadmill with integrated force plates for kinetic gait analysis of sound and lame dogs at a trot. *Vet. Comp Orthop. Traumatol.*, 2006, **19**, 205-212
30. BUCHNER HH, SAVELBERG HH, SCHAMHARDT HC, MERKENS HW, BARNEVELD A. Kinematics of treadmill versus overground locomotion in horses. *Vet. Q.*, 1994, **16 Suppl 2**, S87-S90
31. BULFIELD G, SILLER WG, WIGHT PA, MOORE KJ. X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 1984, **81**, 1189-1192
32. BUSHBY K, FINKEL R, BIRNKRANT DJ, CASE LE, CLEMENS PR, CRIPE L *et al.* Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and pharmacological and psychosocial management. *Lancet Neurol.*, 2010, **9**, 77-93
33. BUSHBY K, FINKEL R, BIRNKRANT DJ, CASE LE, CLEMENS PR, CRIPE L *et al.* Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. *Lancet Neurol.*, 2010, **9**, 177-189
34. CARPENTER JL, HOFFMAN EP, ROMANUL FC, KUNKEL LM, ROSALES RK, MA NS *et al.* Feline muscular dystrophy with dystrophin deficiency. *Am. J. Pathol.*, 1989, **135**, 909-919
35. CERLETTI M, NEGRI T, COZZI F, COLPO R, ANDREETTA F, CROCI D *et al.* Dystrophic phenotype of canine X-linked muscular dystrophy is mitigated by adenovirus-mediated utrophin gene transfer. *Gene Ther.*, 2003, **10**, 750-757
36. CHAKKALAKAL JV, THOMPSON J, PARKS RJ, JASMIN BJ. Molecular, cellular, and pharmacological therapies for Duchenne/Becker muscular dystrophies. *FASEB J.*, 2005, **19**, 880-891

37. CHAMBERLAIN JS, CORRADO K, RAFAEL JA, COX GA, HAUSER M, LUMENG C. Interactions between dystrophin and the sarcolemma membrane. *Soc. Gen. Physiol Ser.*, 1997, **52**, 19-29
38. CHANG DC, MISRA LK, BEALL PT, FANGUY RC, HAZLEWOOD CF. Nuclear magnetic resonance study of muscle water protons in muscular dystrophy of chickens. *J. Cell Physiol*, 1981, **107**, 139-145
39. CHELLY J, KAPLAN JC, MAIRE P, GAUTRON S, KAHN A. Transcription of the dystrophin gene in human muscle and non-muscle tissue. *Nature*, 1988, **333**, 858-860
40. CHETBOUL V, BLOT S, SAMPEDRANO CC, THIBAUD JL, GRANGER N, TISSIER R *et al.* Tissue Doppler imaging for detection of radial and longitudinal myocardial dysfunction in a family of cats affected by dystrophin-deficient hypertrophic muscular dystrophy. *J. Vet. Intern. Med.*, 2006, **20**, 640-647
41. CHETBOUL V, CARLOS C, BLOT S, THIBAUD JL, ESCRIOU C, TISSIER R *et al.* Tissue Doppler assessment of diastolic and systolic alterations of radial and longitudinal left ventricular motions in Golden Retrievers during the preclinical phase of cardiomyopathy associated with muscular dystrophy. *Am. J. Vet. Res.*, 2004, **65**, 1335-1341
42. CHETBOUL V, ESCRIOU C, TESSIER D, RICHARD V, POUCHELON JL, THIBAUT H *et al.* Tissue Doppler imaging detects early asymptomatic myocardial abnormalities in a dog model of Duchenne's cardiomyopathy. *Eur. Heart J.*, 2004, **25**, 1934-1939
43. CLEMENTS DN, OWEN MR, CARMICHAEL S, REID SW. Kinematic analysis of the gait of 10 labrador retrievers during treadmill locomotion. *Vet. Rec.*, 2005, **156**, 478-481
44. COOPER BJ, WINAND NJ, STEDMAN H, VALENTINE BA, HOFFMAN EP, KUNKEL LM *et al.* The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. *Nature*, 1988, **334**, 154-156
45. CORDAZZO MC. Mise au point d'outils pour l'évaluation clinique de chiens atteints de myopathie dystrophique. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2007
46. COZZI F, CERLETTI M, LUVONI GC, LOMBARDO R, BRAMBILLA PG, FAVERZANI S *et al.* Development of muscle pathology in canine X-linked muscular dystrophy. II. Quantitative characterization of histopathological progression during postnatal skeletal muscle development. *Acta Neuropathol.*, 2001, **101**, 469-478
47. CULLEN MJ, JAROS E. Ultrastructure of the skeletal muscle in the X chromosome-linked dystrophic (mdx) mouse. Comparison with Duchenne muscular dystrophy. *Acta Neuropathol.*, 1988, **77**, 69-81

48. D'ANGELO MG, BERTI M, PICCININI L, ROMEI M, GUGLIERI M, BONATO S *et al.* Gait pattern in Duchenne muscular dystrophy. *Gait. Posture.*, 2009, **29**, 36-41
49. DEGARDIN A, MORILLON D, LACOUR A, COTTEN A, VERMERSCH P, STOJKOVIC T. Morphologic imaging in muscular dystrophies and inflammatory myopathies. *Skeletal Radiol.*, 2010, **39**, 1219-1227
50. DELL'AGNOLA C, WANG Z, STORB R, TAPSCOTT SJ, KUHR CS, HAUSCHKA SD *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation does not restore dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy dogs. *Blood*, 2004, **104**, 4311-4318
51. DESGUERRE I, CHRISTOV C, MAYER M, ZELLER R, BECANE HM, BASTUJIGARIN S *et al.* Clinical heterogeneity of duchenne muscular dystrophy (DMD): definition of sub-phenotypes and predictive criteria by long-term follow-up. *PLoS. One*, 2009, **4**, e4347
52. DINGWELL JB, CAVANAGH PR. Increased variability of continuous overground walking in neuropathic patients is only indirectly related to sensory loss. *Gait. Posture.*, 2001, **14**, 1-10
53. DUNN JF, ZAIM-WADGHIRI Y. Quantitative magnetic resonance imaging of the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*, 1999, **22**, 1367-1371
54. EAGLE M, BAUDOUIN SV, CHANDLER C, GIDDINGS DR, BULLOCK R, BUSHBY K. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscul. Disord.*, 2002, **12**, 926-929
55. EMERY AH. Duchenne Muscular Dystrophy, Second edition, Oxford University Press, 1993
56. EVANS R, HORSTMAN C, CONZEMIUS M. Accuracy and optimization of force platform gait analysis in Labradors with cranial cruciate disease evaluated at a walking gait. *Vet. Surg.*, 2005, **34**, 445-449
57. FANCHON L. Biomécanique Canine Développement de l'Analyse de Mouvement sur Tapis Roulant Application à l'Etude de Chiens Atteints d'une Myopathie Dystrophique. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2003
58. FANCHON L, VALETTE JP, SANAA M, GRANDJEAN D. The measurement of ground reaction force in dogs trotting on a treadmill: an investigation of habituation. *Vet. Comp Orthop. Traumatol.*, 2006, **19**, 81-86
59. FREEMAN R. A Handbook of nuclear magnetic resonance, Longman scientific and technical and Wiley and son, Essex, 1988, 312 p.
60. GARROOD P, HOLLINGSWORTH KG, EAGLE M, ARIBISALA BS, BIRCHALL D, BUSHBY K *et al.* MR imaging in Duchenne muscular dystrophy:

quantification of T1-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise. *J. Magn Reson. Imaging*, 2009, **30**, 1130-1138

61. GASCHEN F, BURGUNDER JM. Changes of skeletal muscle in young dystrophin-deficient cats: a morphological and morphometric study. *Acta Neuropathol.*, 2001, **101**, 591-600
62. GASCHEN F, GASCHEN L, SEILER G, WELLE M, JAUNIN VB, JMAA DG *et al.* Lethal peracute rhabdomyolysis associated with stress and general anesthesia in three dystrophin-deficient cats. *Vet. Pathol.*, 1998, **35**, 117-123
63. GASCHEN FP, HOFFMAN EP, GOROSPE JR, UHL EW, SENIOR DF, CARDINET GH, III *et al.* Dystrophin deficiency causes lethal muscle hypertrophy in cats. *J. Neurol. Sci.*, 1992, **110**, 149-159
64. GAUDREAULT N, GRAVEL D, NADEAU S. Evaluation of plantar flexion contracture contribution during the gait of children with Duchenne muscular dystrophy. *J. Electromyogr. Kinesiol.*, 2009, **19**, e180-e186
65. GILLETTE RL, ANGLE TC. Recent developments in canine locomotor analysis: a review. *Vet. J.*, 2008, **178**, 165-176
66. GILLETTE RL, ZEBAS CJ. A two-dimensional analysis of limb symmetry in the trot of Labrador retrievers. *J. Am. Anim Hosp. Assoc.*, 1999, **35**, 515-520
67. GOMEZ ALVAREZ CB, RHODIN M, BYSTROM A, BACK W, VAN WEEREN PR. Back kinematics of healthy trotting horses during treadmill versus over ground locomotion. *Equine Vet. J.*, 2009, **41**, 297-300
68. GOROSPE JR, THARP MD, HINCKLEY J, KORNEGAY JN, HOFFMAN EP. A role for mast cells in the progression of Duchenne muscular dystrophy? Correlations in dystrophin-deficient humans, dogs, and mice. *J. Neurol. Sci.*, 1994, **122**, 44-56
69. GOYENVALLE A, VULIN A, FOUGEROUSSE F, LETURCQ F, KAPLAN JC, GARCIA L *et al.* Rescue of dystrophic muscle through U7 snRNA-mediated exon skipping. *Science*, 2004, **306**, 1796-1799
70. GURALNIK JM, FERRUCCI L, PIEPER CF, LEVEILLE SG, MARKIDES KS, OSTIR GV *et al.* Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2000, **55**, M221-M231
71. HAMED SA. Drug evaluation: PTC-124--a potential treatment of cystic fibrosis and Duchenne muscular dystrophy. *IDrugs.*, 2006, **9**, 783-789
72. HANSEN BD, LASCELLES BD, KEENE BW, ADAMS AK, THOMSON AE. Evaluation of an accelerometer for at-home monitoring of spontaneous activity in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2007, **68**, 468-475

73. HAUSDORFF JM, EDELBERG HK, MITCHELL SL, GOLDBERGER AL, WEI JY. Increased gait unsteadiness in community-dwelling elderly fallers. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 1997, **78**, 278-283
74. HOFFMAN EP, BROWN RH, Jr., KUNKEL LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell*, 1987, **51**, 919-928
75. HUANG Y, MAJUMDAR S, GENANT HK, CHAN WP, SHARMA KR, YU P *et al.* Quantitative MR relaxometry study of muscle composition and function in Duchenne muscular dystrophy. *J. Magn. Reson. Imaging*, 1994, **4**, 59-64
76. ISHIZAKI M, SUGA T, KIMURA E, SHIOTA T, KAWANO R, UCHIDA Y *et al.* Mdx respiratory impairment following fibrosis of the diaphragm. *Neuromuscul. Disord.*, 2008, **18**, 342-348
77. IWASHITA S, TAKENO Y, OKAZAKI K, ITOH J, KAMIJO Y, MASUKI S *et al.* Triaxial accelerometry to evaluate walking efficiency in older subjects. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 2003, **35**, 1766-1772
78. JEANNET PY, AMINIAN K, BLOETZER C, NAJAFI B, PARASCHIV-IONESCU A. Continuous monitoring and quantification of multiple parameters of daily physical activity in ambulatory Duchenne muscular dystrophy patients. *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, 2010,
79. JEANNET PY, GANEA R, SPEHRS-CIAFFI V, GOEMANS NM, AMINIAN K, PARASCHIV-IONESCU A. Gait Pattern Assessment Over 200 m in Duchenne Muscular Dystrophy (DMD). In : Proceedings of the 13th International Congress of the World Muscle Society, Newcastle upon Tyne, United Kingdom, 29th September - 2nd October 2008, 739 (*Neuromuscul. Disord.*, 2008, **18**)
80. JONES BR, BRENNAN S, MOONEY CT, CALLANAN JJ, MCALLISTER H, GUO LT *et al.* Muscular dystrophy with truncated dystrophin in a family of Japanese Spitz dogs. *J. Neurol. Sci.*, 2004, **217**, 143-149
81. KAVANAGH JJ, MENZ HB. Accelerometry: a technique for quantifying movement patterns during walking. *Gait. Posture.*, 2008, **28**, 1-15
82. KERKIS I, AMBROSIO CE, KERKIS A, MARTINS DS, ZUCCONI E, FONSECA SA *et al.* Early transplantation of human immature dental pulp stem cells from baby teeth to golden retriever muscular dystrophy (GRMD) dogs: Local or systemic? *J. Transl. Med.*, 2008, **6**, 35-
83. KINALI M, RECHAVALA-GOMEZA V, FENG L, CIRAK S, HUNT D, ADKIN C *et al.* Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study. *Lancet Neurol.*, 2009, **8**, 918-928
84. KLARENBECK S, GERRITZEN-BRUNING MJ, ROZEMULLER AJ, VAN DER LUGT JJ. Canine X-linked muscular dystrophy in a family of Grand Basset Griffon Vendeen dogs. *J. Comp Pathol.*, 2007, **137**, 249-252

85. KOBAYASHI M, NAKAMURA A, HASEGAWA D, FUJITA M, ORIMA H, TAKEDA S. Evaluation of dystrophic dog pathology by fat-suppressed T2-weighted imaging. *Muscle Nerve*, 2009, **40**, 815-826
86. KOENIG M, MONACO AP, KUNKEL LM. The complete sequence of dystrophin predicts a rod-shaped cytoskeletal protein. *Cell*, 1988, **53**, 219-228
87. KORNEGAY JN, BOGAN DJ, BOGAN JR, CHILDERS MK, CUNDIFF DD, PETROSKI GF *et al.* Contraction force generated by tarsal joint flexion and extension in dogs with golden retriever muscular dystrophy. *J. Neurol. Sci.*, 1999, **166**, 115-121
88. KORNEGAY JN, CUNDIFF DD, BOGAN DJ, BOGAN JR, OKAMURA CS. The cranial sartorius muscle undergoes true hypertrophy in dogs with golden retriever muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.*, 2003, **13**, 493-500
89. KORNEGAY JN, LI J, BOGAN JR, BOGAN DJ, CHEN C, ZHENG H *et al.* Widespread Muscle Expression of an AAV9 Human Mini-dystrophin Vector After Intravenous Injection in Neonatal Dystrophin-deficient Dogs. *Mol. Ther.*, 2010,
90. KORNEGAY JN, TULER SM, MILLER DM, LEVESQUE DC. Muscular dystrophy in a litter of golden retriever dogs. *Muscle Nerve*, 1988, **11**, 1056-1064
91. LASCELLES BD, FINDLEY K, CORREA M, MARCELLIN-LITTLE D, ROE S. Kinetic evaluation of normal walking and jumping in cats, using a pressure-sensitive walkway. *Vet. Rec.*, 2007, **160**, 512-516
92. LASCELLES BD, ROE SC, SMITH E, REYNOLDS L, MARKHAM J, MARCELLIN-LITTLE D *et al.* Evaluation of a pressure walkway system for measurement of vertical limb forces in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2006, **67**, 277-282
93. LE GUINER C, MONTUS M, SERVAIS L, GARCIA L, FROMES Y, HOGREL JY *et al.* Effective limb transduction and phenotypic correction after injection of rAAV8-U7 snRNA in GRMD dogs. In : Proceedings of the American Society of Gene & Cell Therapy 14th Annual Meeting, Seattle, WA, USA, May 18-May 21, 2011, S29 (*Mol. Ther.*, 2011, **19**)
94. LE RE, WINDER SJ, HUBERT JF. Dystrophin: more than just the sum of its parts. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, **1804**, 1713-1722
95. LELEU C, GLORIA E, RENAULT G, BARREY E. Analysis of trotter gait on the track by accelerometry and image analysis. *Equine Vet. J. Suppl*, 2002, 344-348
96. LEROY-WILLIG A, WILLIG TN, HENRY-FEUGEAS MC, FROUIN V, MARINIER E, BOULIER A *et al.* Body composition determined with MR in patients with Duchenne muscular dystrophy, spinal muscular atrophy, and normal subjects. *Magn. Reson. Imaging*, 1997, **15**, 737-744

97. LIU GC, JONG YJ, CHIANG CH, JAW TS. Duchenne muscular dystrophy: MR grading system with functional correlation. *Radiology*, 1993, **186**, 475-480
98. LU QL, YOKOTA T, TAKEDA S, GARCIA L, MUNTONI F, PARTRIDGE T. The status of exon skipping as a therapeutic approach to duchenne muscular dystrophy. *Mol. Ther.*, 2011, **19**, 9-15
99. MALIK V, RODINO-KLAPAC LR, VIOLLET L, WALL C, KING W, AL-DAHAK R *et al.* Gentamicin-induced readthrough of stop codons in Duchenne muscular dystrophy. *Ann. Neurol.*, 2010, **67**, 771-780
100. MANZUR AY, KINALI M, MUNTONI F. Update on the management of Duchenne muscular dystrophy. *Arch. Dis. Child*, 2008, **93**, 986-990
101. MAQUET D, LEKEU F, WARZEE E, GILLAIN S, WOJTASIK V, SALMON E *et al.* Gait analysis in elderly adult patients with mild cognitive impairment and patients with mild Alzheimer's disease: simple versus dual task: a preliminary report. *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, 2010, **30**, 51-56
102. MARSH AP, EGGEBEEN JD, KORNEGAY JN, MARKERT CD, CHILDERS MK. Kinematics of gait in golden retriever muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.*, 2010, **20**, 16-20
103. MARTIGNE L, SEGUY D, PELLEGRINI N, ORLIKOWSKI D, CUISSET JM, CARPENTIER A *et al.* Efficacy and tolerance of gastrostomy feeding in Duchenne muscular dystrophy. *Clin. Nutr.*, 2010, **29**, 60-64
104. MATSUMURA K, NAKANO I, FUKUDA N, IKEHIRA H, TATENO Y, AOKI Y. Proton spin-lattice relaxation time of Duchenne dystrophy skeletal muscle by magnetic resonance imaging. *Muscle Nerve*, 1988, **11**, 97-102
105. MATSUMURA K, NAKANO I, FUKUDA N, IKEHIRA H, TATENO Y, AOKI Y. Proton spin-lattice relaxation time of Duchenne dystrophy skeletal muscle by magnetic resonance imaging. *Muscle Nerve*, 1988, **11**, 97-102
106. MATSUMURA K, NAKANO I, FUKUDA N, IKEHIRA H, TATENO Y, AOKI Y. Duchenne muscular dystrophy carriers. Proton spin-lattice relaxation times of skeletal muscles on magnetic resonance imaging. *Neuroradiology*, 1989, **31**, 373-376
107. MAYAGOITIA RE, NENE AV, VELTINK PH. Accelerometer and rate gyroscope measurement of kinematics: an inexpensive alternative to optical motion analysis systems. *J. Biomech.*, 2002, **35**, 537-542
108. MCCULLY K, GIGER U, ARGOV Z, VALENTINE B, COOPER B, CHANCE B *et al.* Canine X-linked muscular dystrophy studied with in vivo phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Muscle Nerve*, 1991, **14**, 1091-1098
109. MCLAUGHLIN RM. Kinetic and kinematic gait analysis in dogs. *Vet. Clin. North Am. Small Anim Pract.*, 2001, **31**, 193-201

110. MENDELL JR, CAMPBELL K, RODINO-KLAPAC L, SAHENK Z, SHILLING C, LEWIS S *et al.* Dystrophin immunity in Duchenne's muscular dystrophy. *N. Engl. J. Med.*, 2010, **363**, 1429-1437
111. MERCURI E, MAYHEW A, MUNTONI F, MESSINA S, STRAUB V, VAN OMMEN GJ *et al.* Towards harmonisation of outcome measures for DMD and SMA within TREAT-NMD; report of three expert workshops: TREAT-NMD/ENMC workshop on outcome measures, 12th--13th May 2007, Naarden, The Netherlands; TREAT-NMD workshop on outcome measures in experimental trials for DMD, 30th June--1st July 2007, Naarden, The Netherlands; conjoint Institute of Myology TREAT-NMD meeting on physical activity monitoring in neuromuscular disorders, 11th July 2007, Paris, France. *Neuromuscul. Disord.*, 2008, **18**, 894-903
112. MILLER RG, SHARMA KR, PAVLATH GK, GUSSONI E, MYNHIER M, LANCTOT AM *et al.* Myoblast implantation in Duchenne muscular dystrophy: the San Francisco study. *Muscle Nerve*, 1997, **20**, 469-478
113. MISRA LK, LUTHRA MG, AMTEY SR, ELIZONDO-RIOJAS G, SWEZEY SH, TODD LE. Enhanced T1 differentiation between normal and dystrophic muscles. *Magn Reson. Imaging*, 1984, **2**, 33-35
114. MIURA P, JASMIN BJ. Utrophin upregulation for treating Duchenne or Becker muscular dystrophy: how close are we? *Trends Mol. Med.*, 2006, **12**, 122-129
115. MOK E, LETELLIER G, CUISSET JM, DENJEAN A, GOTTRAND F, ALBERTI C *et al.* Lack of functional benefit with glutamine versus placebo in Duchenne muscular dystrophy: a randomized crossover trial. *PLoS. One*, 2009, **4**, e5448
116. MONACO AP, NEVE RL, COLLETTI-FEENER C, BERTELSON CJ, KURNIT DM, KUNKEL LM. Isolation of candidate cDNAs for portions of the Duchenne muscular dystrophy gene. *Nature*, 1986, **323**, 646-650
117. MORINE KJ, BISH LT, SELSBY JT, GAZZARA JA, PENDRAK K, SLEEPER MM *et al.* Activin IIB receptor blockade attenuates dystrophic pathology in a mouse model of duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*, 2010, **42**, 722-730
118. MOSHER DS, QUIGNON P, BUSTAMANTE CD, SUTTER NB, MELLERSH CS, PARKER HG *et al.* A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS. Genet.*, 2007, **3**, e79
119. MURPHY WA, TOTTY WG, CARROLL JE. MRI of normal and pathologic skeletal muscle. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 1986, **146**, 565-574
120. NERI M, TORELLI S, BROWN S, UGO I, SABATELLI P, MERLINI L *et al.* Dystrophin levels as low as 30% are sufficient to avoid muscular dystrophy in the human. *Neuromuscul. Disord.*, 2007, **17**, 913-918
121. NGUYEN F, CHEREL Y, GUIGAND L, GOUBAULT-LEROUX I, WYERS M. Muscle lesions associated with dystrophin deficiency in neonatal golden retriever puppies. *J. Comp Pathol.*, 2002, **126**, 100-108

122. PAOLA JP, PODELL M, SHELTON GD. Muscular Dystrophy in a Miniature Schnauzer. *Progress in Veterinary Neurology*, 1993, **4**, 14-18
123. PAQUET JM, AUVINET B, CHALEIL D, BARREY E. Analysis of gait disorders in Parkinson's disease assessed with an accelerometer. *Rev. Neurol. (Paris)*, 2003, **159**, 786-789
124. PASTORET C, SEBILLE A. mdx mice show progressive weakness and muscle deterioration with age. *J. Neurol. Sci.*, 1995, **129**, 97-105
125. PASTORET C, SEBILLE A. mdx mice show progressive weakness and muscle deterioration with age. *J. Neurol. Sci.*, 1995, **129**, 97-105
126. PETROF BJ, SHRAGER JB, STEDMAN HH, KELLY AM, SWEENEY HL. Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 1993, **90**, 3710-3714
127. PFAU T, ROBILLIARD JJ, WELLER R, JESPER K, ELIASHAR E, WILSON AM. Assessment of mild hindlimb lameness during over ground locomotion using linear discriminant analysis of inertial sensor data. *Equine Vet. J.*, 2007, **39**, 407-413
128. PHILLIPS MF, QUINLIVAN R. Calcium antagonists for Duchenne muscular dystrophy. *Cochrane. Database. Syst. Rev.*, 2008, CD004571
129. PHILLIPS MF, QUINLIVAN RC, EDWARDS RH, CALVERLEY PM. Changes in spirometry over time as a prognostic marker in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 2001, **164**, 2191-2194
130. PICHAVANT C, CHAPDELAINE P, CERRI DG, BIZARIO JC, TREMBLAY JP. Electrotransfer of the Full Length Dog Dystrophin in Mouse and Dystrophic Dog Muscles. *Hum. Gene Ther.*, 2010, **21**, 1591-1601
131. PICHAVANT C, CHAPDELAINE P, CERRI DG, DOMINIQUE JC, QUENNEVILLE SP, SKUK D *et al.* Expression of dog microdystrophin in mouse and dog muscles by gene therapy. *Mol. Ther.*, 2010, **18**, 1002-1009
132. PINTO-MARIZ F, CARVALHO LR, DE MW, ARAUJO AQ, RIBEIRO MG, CUNHA MC *et al.* Differential integrin expression by T lymphocytes: potential role in DMD muscle damage. *J. Neuroimmunol.*, 2010, **223**, 128-130
133. POY NS, DECAMP CE, BENNETT RL, HAUPTMAN JG. Additional kinematic variables to describe differences in the trot between clinically normal dogs and dogs with hip dysplasia. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, **61**, 974-978
134. PRESTHUS J, NORDSTOGA K. Congenital Myopathy in a Litter of Samoyed Dogs. *Progress in Veterinary Neurology*, 1993, **4**, 37-40
135. QUINLAN JG, HAHN HS, WONG BL, LORENZ JN, WENISCH AS, LEVIN LS. Evolution of the mdx mouse cardiomyopathy: physiological and morphological findings. *Neuromuscul. Disord.*, 2004, **14**, 491-496

136. QUINLAN JG, JOHNSON SR, MCKEE MK, LYDEN SP. Twitch and tetanus in mdx mouse muscle. *Muscle Nerve*, 1992, **15**, 837-842
137. ROCHA-BARBOSA O, DE CASTRO LOGUERCIO MF, RENOUS S, GASC J-P. Limb joints kinematics and their relation to increasing speed in the guinea pig *Cavia porcellus* (Mammalia: Rodentia). *J. Zool.*, 2005, **266**, 293-305
138. ROMEI M, GALLI M, MOTTA F, SCHWARTZ M, CRIVELLINI M. Use of the normalcy index for the evaluation of gait pathology. *Gait. Posture.*, 2004, **19**, 85-90
139. ROMERO NB, BRAUN S, BENVENISTE O, LETURCQ F, HOGREL JY, MORRIS GE *et al.* Phase I study of dystrophin plasmid-based gene therapy in Duchenne/Becker muscular dystrophy. *Hum. Gene Ther.*, 2004, **15**, 1065-1076
140. SACCO P, JONES DA, DICK JR, VRBOVA G. Contractile properties and susceptibility to exercise-induced damage of normal and mdx mouse tibialis anterior muscle. *Clin. Sci. (Lond)*, 1992, **82**, 227-236
141. SALARIAN A, RUSSMANN H, VINGERHOETS FJ, DEHOLLAIN C, BLANC Y, BURKHARD PR *et al.* Gait assessment in Parkinson's disease: toward an ambulatory system for long-term monitoring. *IEEE Trans. Biomed. Eng*, 2004, **51**, 1434-1443
142. SAMPAOLESI M, BLOT S, D'ANTONA G, GRANGER N, TONLORENZI R, INNOCENZI A *et al.* Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs. *Nature*, 2006, **444**, 574-579
143. SANDER M, CHAVOSHAN B, HARRIS SA, IANNACCONE ST, STULL JT, THOMAS GD *et al.* Functional muscle ischemia in neuronal nitric oxide synthase-deficient skeletal muscle of children with Duchenne muscular dystrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 2000, **97**, 13818-13823
144. SAVITZKY A, GOLAY MJE. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chemistry.*, 1964, **36**, 1927-1939
145. SCHATZBERG SJ, ANDERSON LV, WILTON SD, KORNEGAY JN, MANN CJ, SOLOMON GG *et al.* Alternative dystrophin gene transcripts in golden retriever muscular dystrophy. *Muscle Nerve*, 1998, **21**, 991-998
146. SCHATZBERG SJ, OLBY NJ, BREEN M, ANDERSON LV, LANGFORD CF, DICKENS HF *et al.* Molecular analysis of a spontaneous dystrophin 'knockout' dog. *Neuromuscul. Disord.*, 1999, **9**, 289-295
147. SCHREIBER A, SMITH WL, IONASESCU V, ZELLWEGER H, FRANKEN EA, DUNN V *et al.* Magnetic resonance imaging of children with Duchenne muscular dystrophy. *Pediatr. Radiol.*, 1987, **17**, 495-497
148. SCHUTTE LM, NARAYANAN U, STOUT JL, SELBER P, GAGE JR, SCHWARTZ MH. An index for quantifying deviations from normal gait. *Gait. Posture.*, 2000, **11**, 25-31

149. SHARP NJ, KORNEGAY JN, VAN CAMP SD, HERBSTREITH MH, SECORE SL, KETTLE S *et al.* An error in dystrophin mRNA processing in golden retriever muscular dystrophy, an animal homologue of Duchenne muscular dystrophy. *Genomics*, 1992, **13**, 115-121
150. SHIMATSU Y, KATAGIRI K, FURUTA T, NAKURA M, TANIOKA Y, YUASA K *et al.* Canine X-linked muscular dystrophy in Japan (CXMDJ). *Exp. Anim.*, 2003, **52**, 93-97
151. SICINSKI P, GENG Y, RYDER-COOK AS, BARNARD EA, DARLISON MG, BARNARD PJ. The molecular basis of muscular dystrophy in the mdx mouse: a point mutation. *Science*, 1989, **244**, 1578-1580
152. SIMON SR. Quantification of human motion: gait analysis-benefits and limitations to its application to clinical problems. *J. Biomech.*, 2004, **37**, 1869-1880
153. SMITH BF, YUE Y, WOODS PR, KORNEGAY JN, SHIN JH, WILLIAMS RR *et al.* An intronic LINE-1 element insertion in the dystrophin gene aborts dystrophin expression and results in Duchenne-like muscular dystrophy in the corgi breed. *Lab. Invest.*, 2011, **91**, 216-231
154. SPENCER MJ, TIDBALL JG. Do immune cells promote the pathology of dystrophin-deficient myopathies? *Neuromuscul. Disord.*, 2001, **11**, 556-564
155. STEDMAN HH, SWEENEY HL, SHRAGER JB, MAGUIRE HC, PANETTIERI RA, PETROF B *et al.* The mdx mouse diaphragm reproduces the degenerative changes of Duchenne muscular dystrophy. *Nature*, 1991, **352**, 536-539
156. STRATHY GM, CHAO EY, LAUGHMAN RK. Changes in knee function associated with treadmill ambulation. *J. Biomech.*, 1983, **16**, 517-522
157. STRAUB V, CARLIER PG, MERCURI E. TREAT-NMD workshop: pattern recognition in genetic muscle diseases using muscle MRI: 25-26 February 2011, Rome, Italy. *Neuromuscul. Disord.*, 2012, **22 Suppl 2**, S42-S53
158. STRAUB V, DONAHUE KM, ALLAMAND V, DAVISSON RL, KIM YR, CAMPBELL KP. Contrast agent-enhanced magnetic resonance imaging of skeletal muscle damage in animal models of muscular dystrophy. *Magn. Reson. Med.*, 2000, **44**, 655-659
159. SUTHERLAND DH, OLSHEN R, COOPER L, WYATT M, LEACH J, MUBARAK S *et al.* The pathomechanics of gait in Duchenne muscular dystrophy. *Dev. Med. Child Neurol.*, 1981, **23**, 3-22
160. TARDIF-DE GS, VILQUIN J, CARLIER P, RAYNAUD JS, WARY C, SCHWARTZ K *et al.* Muscular transverse relaxation time measurement by magnetic resonance imaging at 4 Tesla in normal and dystrophic dy/dy and dy(2j)/dy(2j) mice. *Neuromuscul. Disord.*, 2000, **10**, 507-513
161. THIBAUD JL, MONNET A, BERTOLDI D, BARTHELEMY I, BLOT S, CARLIER PG. Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular

dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. *Neuromuscul. Disord.*, 2007, **17**, 575-584

162. TORRENTE Y, BELICCHI M, MARCHESI C, DANTONA G, COGIAMANIAN F, PISATI F *et al.* Autologous transplantation of muscle-derived CD133+ stem cells in Duchenne muscle patients. *Cell Transplant.*, 2007, **16**, 563-577
163. TORRES LF, DUCHEN LW. The mutant mdx: inherited myopathy in the mouse. Morphological studies of nerves, muscles and end-plates. *Brain*, 1987, **110** (Pt 2), 269-299
164. TURGEMAN T, HAGAI Y, HUEBNER K, JASSAL DS, ANDERSON JE, GENIN O *et al.* Prevention of muscle fibrosis and improvement in muscle performance in the mdx mouse by halofuginone. *Neuromuscul. Disord.*, 2008, **18**, 857-868
165. TYLER DJ, ROBSON MD, HENKELMAN RM, YOUNG IR, BYDDER GM. Magnetic resonance imaging with ultrashort TE (UTE) PULSE sequences: technical considerations. *J. Magn. Reson. Imaging*, 2007, **25**, 279-289
166. VALENTINE BA, COOPER BJ. Canine X-linked muscular dystrophy: selective involvement of muscles in neonatal dogs. *Neuromuscul. Disord.*, 1991, **1**, 31-38
167. VALENTINE BA, COOPER BJ, CUMMINGS JF, DE LA. Canine X-linked muscular dystrophy: morphologic lesions. *J. Neurol. Sci.*, 1990, **97**, 1-23
168. VALENTINE BA, COOPER BJ, DE LA, O'QUINN R, BLUE JT. Canine X-linked muscular dystrophy. An animal model of Duchenne muscular dystrophy: clinical studies. *J. Neurol. Sci.*, 1988, **88**, 69-81
169. VAN BOCKEL EA, LIND JS, ZIJLSTRA JG, WIJKSTRA PJ, MEIJER PM, VAN DEN BERG MP *et al.* Cardiac assessment of patients with late stage Duchenne muscular dystrophy. *Neth. Heart J.*, 2009, **17**, 232-237
170. VAN DEUTEKOM JC, JANSON AA, GINJAAR IB, FRANKHUIZEN WS, ARTSMA-RUS A, BREMMER-BOUT M *et al.* Local dystrophin restoration with antisense oligonucleotide PRO051. *N. Engl. J. Med.*, 2007, **357**, 2677-2686
171. VAN HAM LML, DESMIDT M, TSHAMALA M, HOORENS JK, MATTHEEUWS DRG. Canine X-linked Muscular Dystrophy in Belgian Groenendaeler Shepherds. *J. Am. Anim Hosp. Assoc.*, 1993, **29**, 570-574
172. VAN HAM LML, ROELS SLMF, HOORENS JK. Congenital Dystrophy-like Myopathy in a Brittany Spaniel Puppy. *Progress in Veterinary Neurology*, 1995, **6**, 135-138
173. VUILLEROT C, GIRARDOT F, PAYAN C, FERMANIAN J, IWAZ J, DE LATTRE C *et al.* Monitoring changes and predicting loss of ambulation in Duchenne muscular dystrophy with the Motor Function Measure. *Dev. Med. Child Neurol.*, 2010, **52**, 60-65

174. VULIN A, BARTHELEMY I, GOYENVALLE A, THIBAUD JL, BELEY C, GRIFFITH G *et al.* Muscle Function Recovery in Golden Retriever Muscular Dystrophy After AAV1-U7 Exon Skipping. *Mol. Ther.*, 2012, **20**, 2120-2133
175. WALMSLEY GL, RECHAVALA-GOMEZA V, FERNANDEZ-FUENTE M, BURKE MM, NAGEL N, HOLDER A *et al.* A duchenne muscular dystrophy gene hot spot mutation in dystrophin-deficient cavalier king charles spaniels is amenable to exon 51 skipping. *PLoS. One*, 2010, **5**, e8647
176. WALTER G, CORDIER L, BLOY D, SWEENEY HL. Noninvasive monitoring of gene correction in dystrophic muscle. *Magn Reson. Med.*, 2005, **54**, 1369-1376
177. WALTER RM, CARRIER DR. Ground forces applied by galloping dogs. *J. Exp. Biol.*, 2007, **210**, 208-216
178. WARY C, NAULET T, THIBAUD JL, MONNET A, BLOT S, CARLIER PG. Splitting of Pi and other (3)(1)P NMR anomalies of skeletal muscle metabolites in canine muscular dystrophy. *NMR Biomed.*, 2012, **25**, 1160-1169
179. WATT JR, FRANZ JR, JACKSON K, DICHARRY J, RILEY PO, KERRIGAN DC. A three-dimensional kinematic and kinetic comparison of overground and treadmill walking in healthy elderly subjects. *Clin. Biomech. (Bristol. , Avon.)*, 2010, **25**, 444-449
180. WATTJES MP, KLEY RA, FISCHER D. Neuromuscular imaging in inherited muscle diseases. *Eur. Radiol.*, 2010, **20**, 2447-2460
181. WENTINK GH, VAN DER LINDE-SIPMAN JS, MEIJER AEFH, KAMPHUISEN HAC, VAN VORSTENBOSCH CJAHV, HARTMAN W *et al.* Myopathy with a Possible Recessive X-linked Inheritance in a Litter of Irish Terriers. *Vet. Pathol.*, 1972, **9**, 328-349
182. WETTERMAN CA, HARKIN KR, CASH WC, NIETFIELD JC, SHELTON GD. Hypertrophic muscular dystrophy in a young dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000, **216**, 878-881
183. WILLMANN R, POSSEKEL S, DUBACH-POWELL J, MEIER T, RUEGG MA. Mammalian animal models for Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.*, 2009, **19**, 241-249
184. WINAND NJ, EDWARDS M, PRADHAN D, BERIAN CA, COOPER BJ. Deletion of the dystrophin muscle promoter in feline muscular dystrophy. *Neuromuscul. Disord.*, 1994, **4**, 433-445
185. WONG BL, CHRISTOPHER C. Corticosteroids in Duchenne muscular dystrophy: a reappraisal. *J. Child Neurol.*, 2002, **17**, 183-190
186. WOOD DS, SORENSON MM, EASTWOOD AB, CHARASH WE, REUBEN JP. Duchenne dystrophy: abnormal generation of tension and Ca⁺⁺ regulation in single skinned fibers. *Neurology*, 1978, **28**, 447-457

187. WREN TA, BLUML S, TSENG-ONG L, GILSANZ V. Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 2008, **190**, W8-12
188. YAMADA M, TOKURIKI M. Spontaneous activities measured continuously by an accelerometer in beagle dogs housed in a cage. *J. Vet. Med. Sci.*, 2000, **62**, 443-447
189. YIU EM, KORNBERG AJ. Duchenne muscular dystrophy. *Neurol. India*, 2008, **56**, 236-247
190. ZUBRZYCKA-GAARN EE, BULMAN DE, KARPATI G, BURGHEES AH, BELFALL B, KLAMUT HJ *et al.* The Duchenne muscular dystrophy gene product is localized in sarcolemma of human skeletal muscle. *Nature*, 1988, **333**, 466-469

ANNEXES

Rapport-Gratuit.com

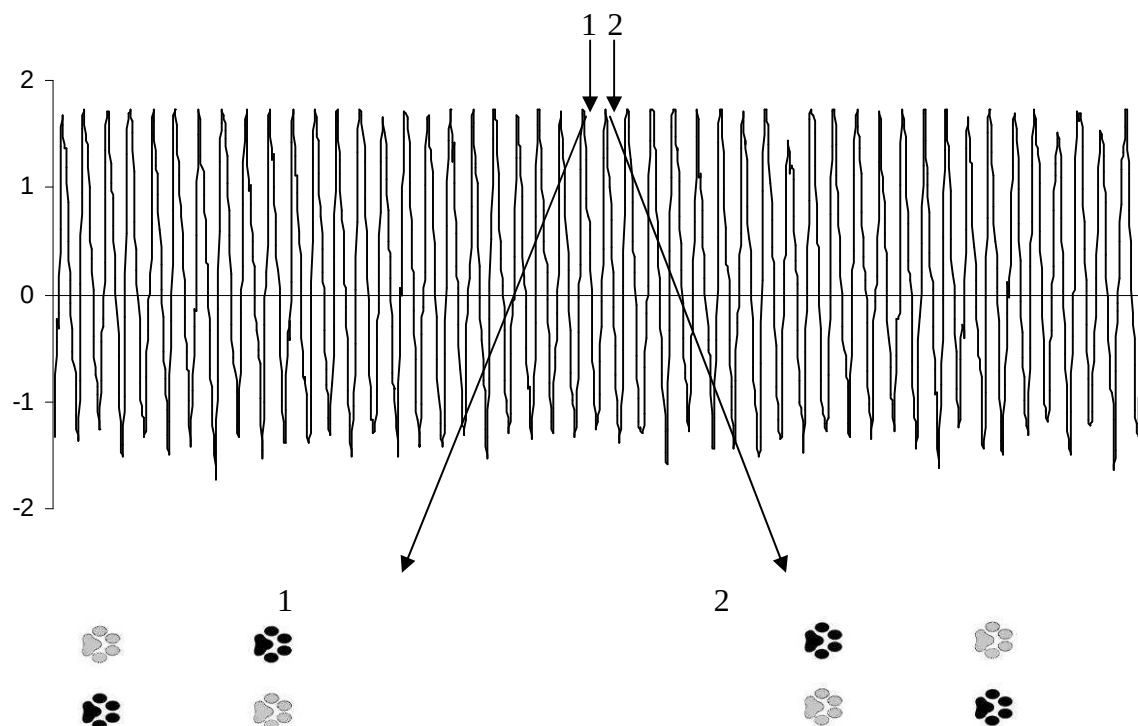
Annexe 1 : Grille de score clinique utilisée pour l'évaluation des chiens GRMD

Laboratoire de Neurobiologie / UETM (version 2.1.1 janvier 2008) Quantification des signes cliniques sur chiens dystrophiques (GRMD, LRMD)						
Chien ID :		Date de l'examen :		n° vidéo :		
Protocole :		Opérateur :				
CRITERES	0	0,5	1	1,5	2	note
Dysphagie	Aucune difficulté à s'alimenter, repas rapide, croquettes	Croquettes + pâtée	Allongement du temps (plusieurs heures), a/d, fortol	Difficulté à avaler aliment	Incapacité à avaler aliment (sonde de gastrostomie)	
Ptyalisme	Absent	Salive au fond de la gueule (hors repas)	Ptyalisme intermittent (pendant repas)	Ptyalisme hors des repas	Ptyalisme prononcé/permanent	
Base de la langue	Normale	Fermeté ou hypertrophie	Fermeté + hypertrophie palpable, sans déformation	Fermeté + hypertrophie + déformation légère	Fermeté + hypertrophie + forte déformation	
Ouverture buccale	Pas d'ankylose, angle proche de 70°	70° < angle < 60°	Ankylose débutante 60° < angle < 45°	45° < Angle < 30°	Angle < 30° ou malocclusion avec défaut de fermeture	
Activité générale	Animal joueur, vient vers les gens		Activité diminuée, isolement, déplacement lent		Animal en décubitus latéral	
Respiration	Normale	Discordance	Discordance + polypnée après stimulation	Discordance + polypnée au repos + ronflement	Discordance + polypnée au repos + cyanose des muqueuses / orthopnée	
Ss-total /12						
Ecartement des doigts	Serrés en appui = normale	Faiblement écartés sur 2 pattes ou 6 EID	Faiblement écartés sur 4 pattes ou 12 EID	Fortement écartés sur 2 pattes ou 6 EID	Fortement écartés sur 4 pattes ou 12 EID	
Palmigradie	Absence (angle sol-carpe = 90°)	90° < angle < 45°	Modérée (angle = 45°)	Angle < 45°	Prononcée (angle = 0°)	
Plantigradie	Absence (angle sol-carpe = 90°)	90° < angle < 45°	Modérée (angle = 45°)	Angle < 45°	Prononcée (angle = 0°)	
Démarche	Normale	Démarche souple, Bunny hopping lors de la course	Raideur généralisée débutante, Bunny hopping constant	Raideur généralisée prononcée	Démarche impossible	
Transfert de poids	Absent		Postérieurs sous l'abdomen ou antérieurs sous le thorax		Poids placé sur l'avant	
Sautillement	Normal (> 10 foulées)	Possible (5 à 10 foulées) mais difficile	Réduit (chute au bout de 4-5 foulées)	1 à 2 foulées	Impossible	
Fermeté des muscles proximaux	Normale à la palpation	Fermeté débutante localisée	Fermeté débutante généralisée	Fermeté prononcée localisée	Fermeté prononcée généralisée	
Rétractions musculo-Tendineuses	Absentes	Raideur cervicale	Ankylose débutante généralisée	> 6 articulations fortement ankylosées	Ankylose prononcée généralisée	
Réflexes patellaires	Présents vifs		Présents diminués		Absents	
Relevé (déc. latéral)	Normal (1 seconde)	Légèrement ralenti (2-3s)	Ralenti (1 seule tentative mais laborieuse)	Plusieurs tentatives avant relevé	Impossible	
Franchisst obstacle	Normal	Possible mais obstacle touché	Réduit/limité/ralenti	Chute ou franchissement incomplet	Impossible	
Ss-total/22						
Total /34						

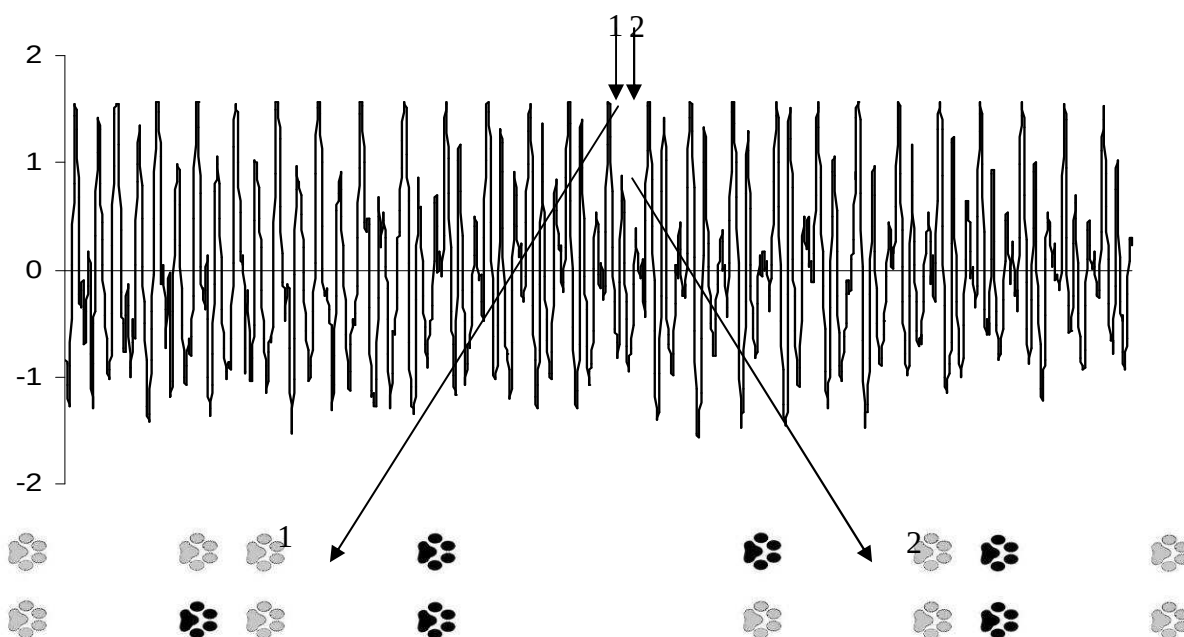
Annexe 2 : Atlas de tracés dorso-ventraux- types chez les chiens sains et GRMD.

A. Allures rencontrées chez les chiens sains

Trot :

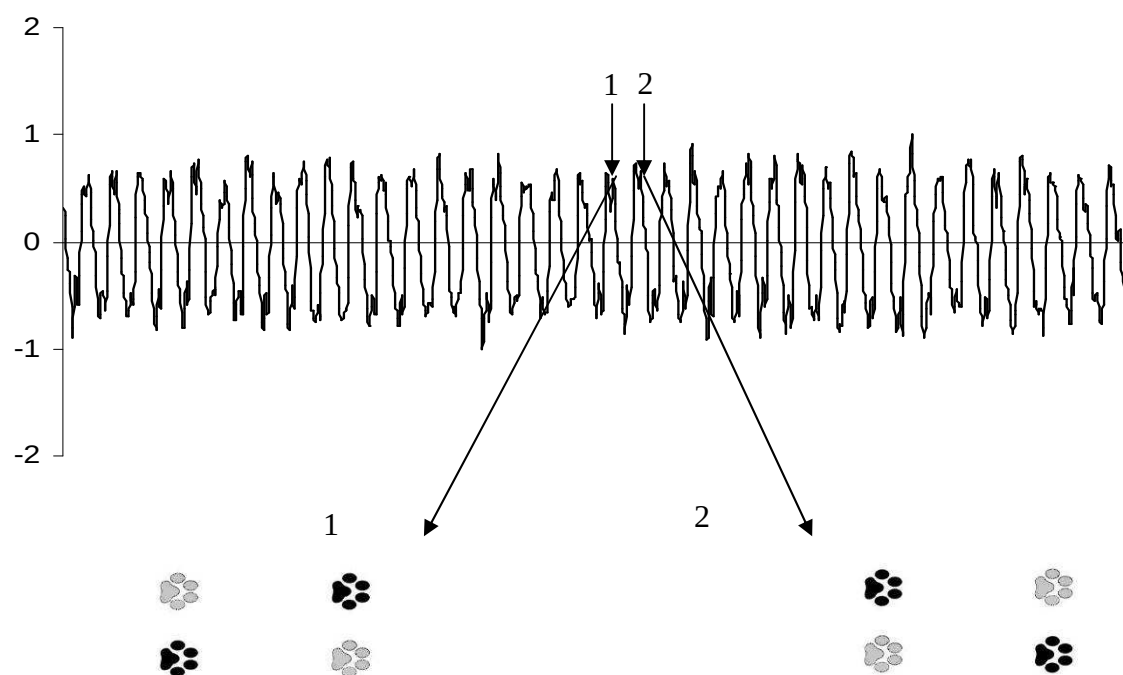


Galop circulaire

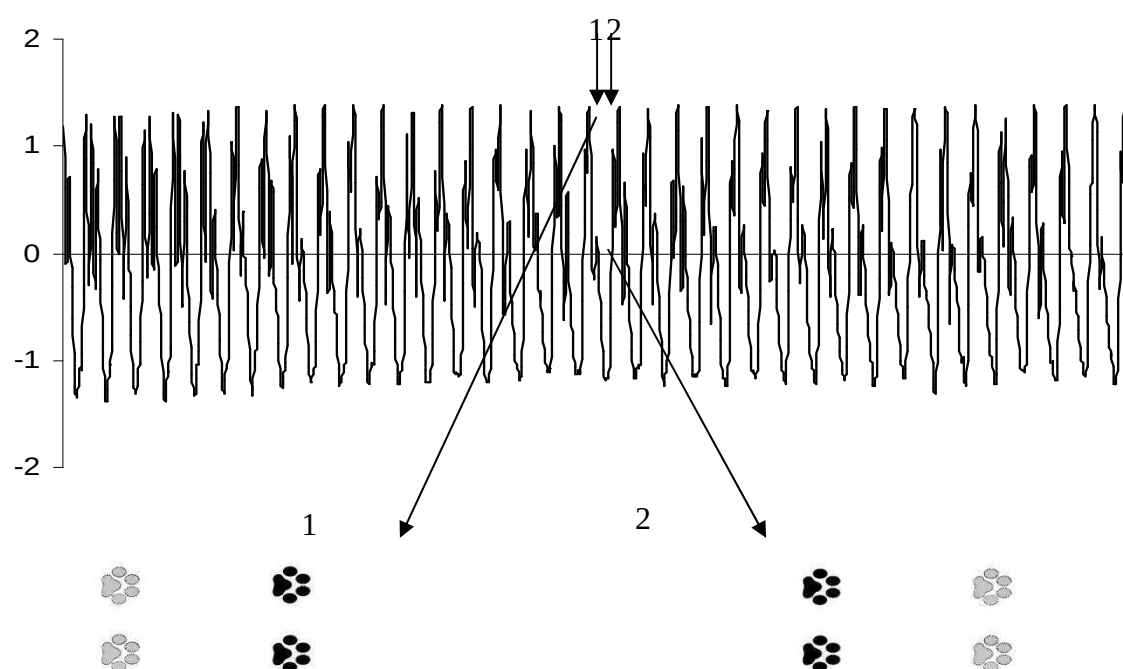


B. Allures rencontrées chez les chiens GRMD

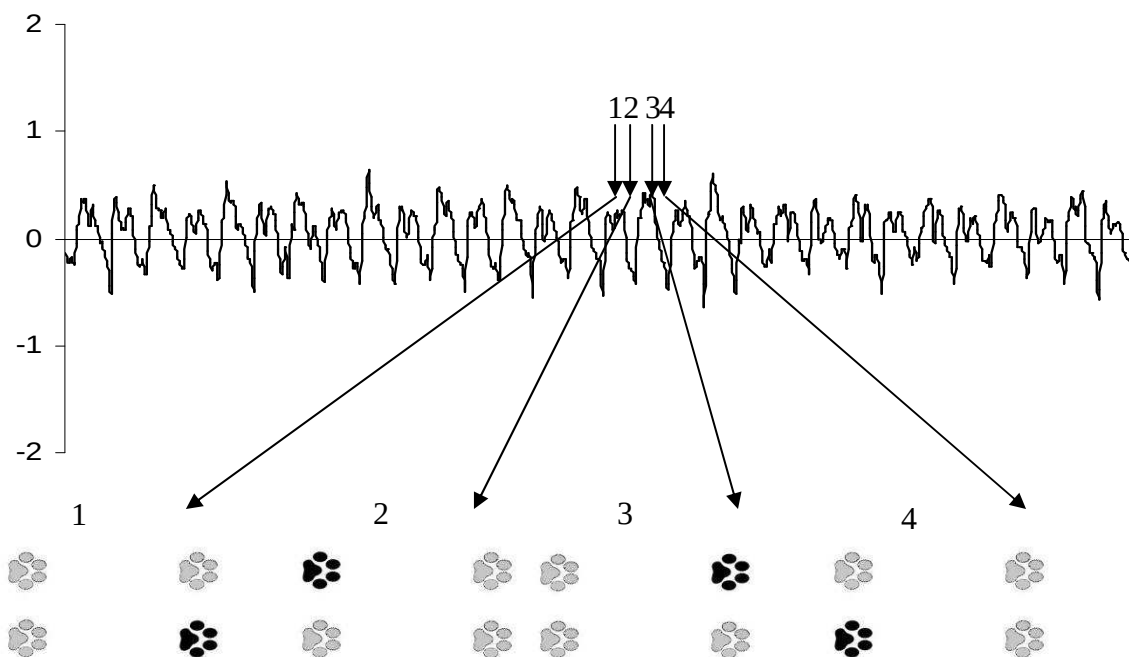
Trot :



Galop en bonds :



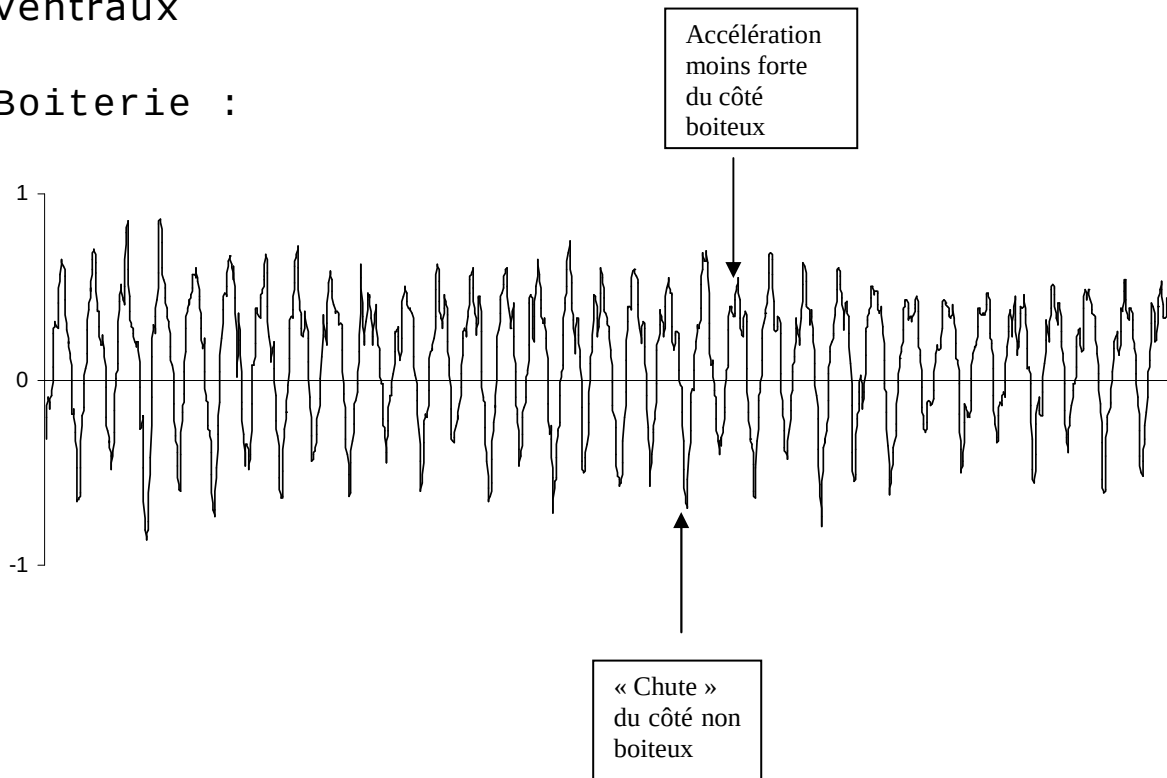
Pas :



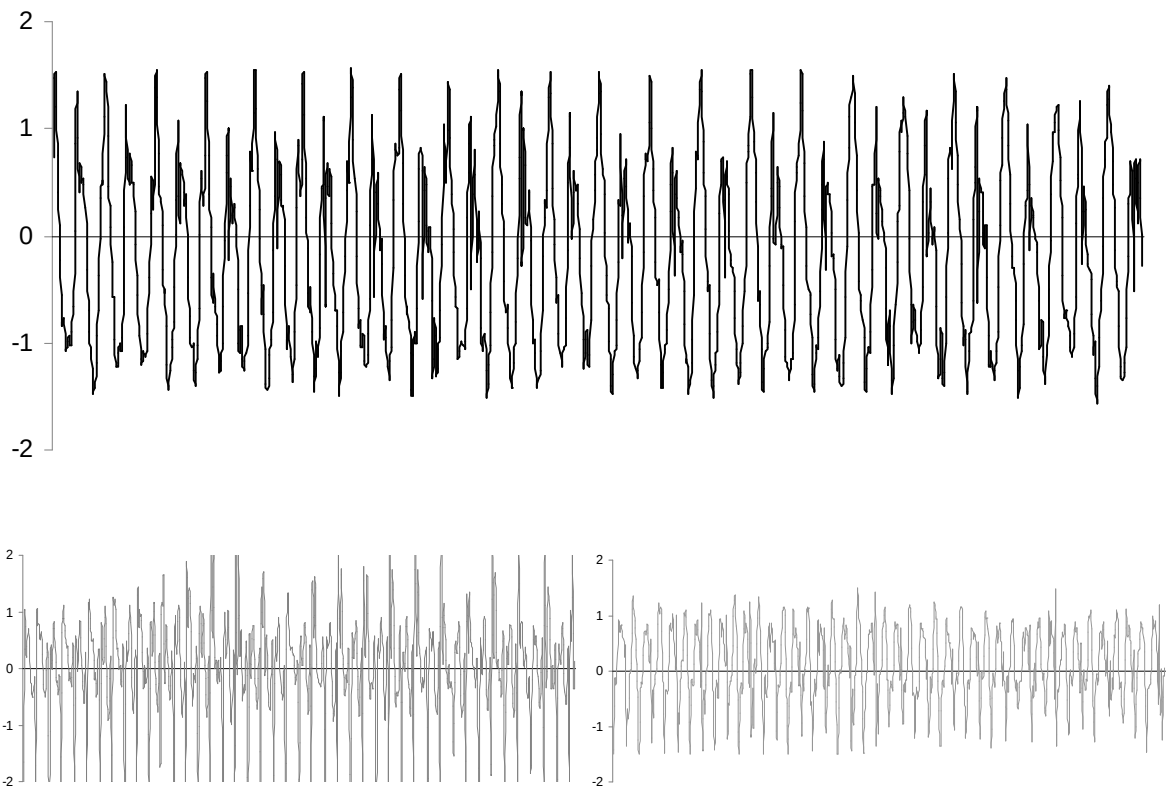
Les symboles de pattes de chien noirs représentent le ou les membre(s) propulseur(s) responsable (s) du pic d'accélération dorso-ventrale observé.

C. Exemples de modifications possibles des tracés dorso-ventraux

Boiterie :



Rotation du dispositif de mesure :



Noter le faible niveau des accélérations dorso-ventrales (ici trot chez un chien sain, en haut, tracé noir), et l'ampleur des accélérations médio-latérales (tracé gris clair en bas à droite). Noter également la plus faible amplitude d'accélération d'un pic dorso-ventral sur deux, liée au déplacement latéral de l'accéléromètre le long de la cage thoracique, qui capte alors davantage les accélérations produites de ce côté que de l'autre, alors qu'en regard du sternum, les accélérations produites sont homogènes, en l'absence de boiterie.

ÉVALUATION QUANTITATIVE DU CHIEN GRMD PAR ACCÉLÉROMÉTRIE ET IMAGERIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE DES MUSCLES APPENDICULAIRES

NOM et Prénom : BARTHÉLÉMY Inès et THIBAUD Jean-Laurent

Résumé

Le nombre croissant d'essais pré-cliniques de la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) nous a conduits à développer des outils d'évaluation de la fonction et de la structure musculaires chez le chien GRMD, modèle le plus proche des patients DMD. La locomotion a été évaluée par accélérométrie tri-dimensionnelle, chez des chiens adultes cliniquement stabilisés, puis chez des animaux en cours d'évolution clinique. La capacité de la méthode à quantifier des altérations multiples de la qualité de marche, et à les suivre au cours du temps a ainsi pu être démontrée. Sept variables d'intérêt ont été identifiées : la puissance totale, la fréquence des cycles locomoteurs et la longueur des foulées, effondrées chez le chien GRMD, sont particulièrement discriminantes. La structure musculaire a été évaluée par imagerie par résonance magnétique nucléaire. Les membres thoraciques et pelviens de chiens sains et GRMD ont été examinés à trois Teslas, à l'âge de deux, quatre, six et neuf mois. Dix des quinze indices examinés se sont avérés significativement différents chez les chiens GRMD. Le rehaussement maximal relatif après injection de chélate de gadolinium, le rapport du signal musculaire pondéré densité de proton, normalisé par celui pondéré T_2 sont les indices les plus discriminants. Les muscles les plus touchés, selon les indices les plus pertinents, sont l'extenseur radial du carpe et le chef médial du gastrocnémien. Ces techniques pourront donc être utilisées de manière conjointe et itérative dans les essais pré-cliniques ciblant la myopathie de Duchenne.

Mots clés

DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE, DYSTROPHINE, GRMD, LOCOMOTION, ACCÉLÉROMÉTRIE, MUSCLE, IRMN, CARNIVORE, CHIEN

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. Stéphane BLOT

Assesseur : Pr. Christophe DEGUEURCE

Invité : Dr Pierre G. CARLIER, Dr Jean-Yves HOGREL

QUANTITATIVE EVALUATION OF THE GRMD DOG USING ACCELEROMETRY AND NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF APPENDICULAR MUSCLES

SURNAME Given name : BARTHÉLÉMY Inès et THIBAUD Jean-Laurent

Summary

The increasing number of pre-clinical trials for Duchenne muscular dystrophy (DMD) has led us to develop evaluation tools of muscle function and structure in the GRMD dog, the closest model of DMD patients. The gait has been evaluated using three-dimensional accelerometry in adult clinically stable dogs, and then in evolving dogs. The ability of this tool to quantify multiple alterations of the gait quality and to follow them over time has been demonstrated. Seven indices of interest have been identified: the total power, the stride frequency, and the stride length, dramatically dropped in GRMD dogs were found particularly discriminating indices. The muscular structure has been evaluated with nuclear magnetic resonance imaging. Thoracic and pelvic limbs of healthy and GRMD dogs have been imaged at three Teslas, at two, four, six, and nine months of age. Ten out of the fifteen indices evaluated differed between healthy and GRMD dogs. The maximal relative enhancement after gadolinium injection, and the proton density weighted signal normalized by the T_2 weighted signal ratio were the most discriminating ones. The most affected muscles, following the most relevant indices, were the extensor carpi radialis and the medial head of the gastrocnemius. These methods will be iteratively used together in the future pre-clinical trials for Duchenne muscular dystrophy.

Keywords

DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY, DYSTROPHIN, GRMD, LOCOMOTION, ACCELEROMETRY, MUSCLE, NMRI, CARNIVORE, DOG,

Jury :

President : Pr.

Director : Pr.Stéphane BLOT

Assessor : Pr.Christophe DEGUEURCE

Guest : Dr Pierre G. CARLIER, Dr Jean-Yves HOGREL