

UNIVERSITE PARIS EST

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé – SVS 402

Doctorat en physiopathologie

Inès BARTHELEMY

Développement d'outils d'évaluation d'un modèle pré-clinique de Dystrophie Musculaire de Duchenne, le chien GRMD.

Thèse soutenue le 17/12/2010

Laboratoire d'accueil UPR de neurobiologie :

« Modélisation thérapeutique en neurologie : myologie et biothérapies des myopathies canines »

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
7 Avenue du Général de Gaulle
94700 Maisons-Alfort

Remerciements

A toute l'équipe du CEDS, Nathalie, Franck, Cécile, David, M&Mme Carré, et tous les autres... pour leur travail et la production de chiens GRMD pendant ces dernières années, qui a permis que ce travail puisse avoir lieu, avec un nombre suffisant de chiens.

Un remerciement spécial à Nathalie, pour sa disponibilité, son efficacité et sa complicité.

A tous les adoptants de nos toutous, pour leur avoir offert la vie de famille qu'ils méritent, et en particulier :

A M. Romero et Aurore, pour avoir été au rendez-vous de manière assidue pour les tests sur Denver et Dam, même si ces données ne figurent finalement pas ici...,

A la famille Ledoux pour avoir si bien accueilli Cliff,

A Perrine, pour avoir permis à Ckan, Cbof, Crock et Dzastre d'avoir une vraie belle vie de chien.

A tous les chiens GRMD, avec lesquels j'ai réalisé ce travail, à nos longues soirées de marche dans le couloir, au terrible attachement qui nous a liés...: Thothos, gros Jajax, T-Falou, Cocobs, Cloclo, Clown, Cki, Ckoi, Charly, Charlot, Cyanure, C-cool, Cbidon, Cballot, C.eds, Bxente, Bjork, Becker, Dickens, Lulule, Einstein, Eiffel, Eaudvy, Ctrop, Ctar, Eop, Eole, Exon, Extra, Excel, Dspé, Dsir, Dmo, Dièse, Discret, Disco, Dhioptry, Crapule E.T., Dalton, Dlire, Dlice, Luluge, Dk, Didon, Dalton, Foifois-belles-chaussettes, Dbrouille, Dchou, Dmon, Ebam, Ebim, Eboum, Evian, Eject, Ehouaf, Celsius, Clim, Clappy, Cush-cush, Cvite, Dodoc, et ma boule Doodoole...,

Mais aussi à tous les autres dont j'ai croisé le chemin : Babac, Crylou, Virgule, Virage, Virgile,

T-Fou, Tsar, Sam, Rouble, Titeuf, Kéké, Scoubidou, Umberto, Uzel, Usky, Uky, Akan, Cacalou, Gugus, Varus, Vrille, Vampire, Vaccin, Valium, Vicking, Viko, Velvet, Vrac, Vulcano, Adhoc, Adonf, Voltaire, Vlan-vlan, V-spa, Archibald, Aramis, Attila, Abricot, Acajou, Afgan, Aéro, Agard, Airbus, Angus, Ben, Beeeper, Claxou, Clyde, Cerise, César, Céréale, Cto, Enigme, Enzyme, Sasat, Apache, Avery, Avrel, Azor, Azur, Bled, Byblos, Bypass, Bouly, Bozo, Bud, Buky, Bull, C-chouette, Cobalt, Cparti, Cyclone, Cyrano, Daisy, Dguste, Drop Droopy, Eclair, Eclat, Ecran, Endros, Endy, Faface, Kuli, Ektor, Eyelander, Ebay, Edin, Eurêka, Eden, Dédé, Nana, Ewine, Ewok, Ethilon, Embo, Emince, Email, Emg, Fémur, Fêtard, Fedex, Loulou, Nono, Fyndus, Furtif, Fusible....

p 182 "

Seuls 10 chiens GRMD sur les 24 inclus ont pu être suivis jusqu'à l'âge de 9 mois. Parmi les 14 autres, 10 ont totalement perdu la locomotion avant l'âge de 6 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 5 mois, de complications digestives liées à l'engagement de son duodénum via le hiatus oesophagien, 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 9 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."

P268 (tableau)

4 chiens : Décès à 6 mois –euthanasie perte locomotion

3 chiens adoptés à 5 et 6 mois

1 chien Décès à 8.5 mois –euthanasie perte locomotion + digestif

1 chien Décès à 8 mois -bronchopneumonie

p 299

Recherche de marqueurs prédictifs histologiques

Vingt-trois chiens GRMD ont été inclus dans cette étude. Tous les animaux ont subi une biopsie musculaire à l'âge de deux mois (âge moyen: 2.12 mois, écart-type : 0.17 mois), puis un suivi clinique de ces animaux a été effectué. Parmi les vingt-trois chiens inclus, neuf ont perdu la locomotion, et ont présenté une forme accélérée de leur maladie.

Procédure chirurgicale

Le muscle qui a été choisi pour cette étude est le muscle biceps fémoral, en raison de la facilité de la voie d'abord, et de son volume important, permettant un prélèvement de taille significative, sans induire de lésion trop étendue sur le muscle prélevé.

Les biopsies ont été réalisées sous anesthésie générale. L'anesthésie a été induite par une injection intraveineuse de propofol, à la dose de 6.5 mg/kg. Les chiens ont été intubés puis placés sous O₂, véhiculant 2 à 3 % d'isoflurane, de manière à assurer le maintien de l'anesthésie.

L'analgésie a été assurée par une injection intraveineuse lente de morphine, à la dose de 0.1 mg/kg, en début d'intervention.

Une incision cutanée de 2 à 3 cm de longueur a été pratiquée en regard du muscle biceps fémoral. Une dissection douce du tissu sous-cutané a été pratiquée, de manière à dégager le plan musculaire. Une zone de biopsie d'une taille d'environ 1 cm de longueur, et 0.5 cm de diamètre a ensuite été délimitée au scalpel, puis prélevée aux ciseaux de Metzenbaum.

Après hémostase, une suture en trois plans (fascia, sous-cutané et cutané) a été réalisée. Le chiot pouvait ensuite être réveillé. La procédure ainsi décrite avait une durée de 30 minutes environ.

p.337

Les biopsies musculaires ont été réalisées sous anesthésie générale, à l'issue des mesures de force à 6 et 9 mois. Une incision cutanée a été pratiquée en regard du muscle tibial crânial.

Après dissection douce du tissu sous-cutané, les fascias ont été incisés, et le muscle mis en évidence. Une biopsie de 0.5 cm de diamètre et 1 cm de longueur environ a été prélevée. Après hémostase, le site a été suturé par surjets du fascia, du sous-cutané, puis de la peau. L'analgésie a été assurée par une injection de morphine, à la dose de 0.1 mg/kg par voie intraveineuse avant incision cutanée.

Le traitement de cyclosporine a dû être interrompu sur le chien Doc durant 48 heures, à l'âge de 8.5 mois, en raison de très fortes valeurs de cyclosporinémie liées à un défaut de métabolisation hépatique de cette molécule, s'inscrivant dans le cadre d'une insuffisance hépatique développée par cet animal dans son dernier mois de traitement.

Les complications habituelles de la maladie ont été observées sur la quasi-totalité des animaux. Ainsi, 4 d'entre eux ont développé une hernie hiatale. En particulier, chez le chien Cushing, l'estomac s'est totalement engagé dans une hernie hiatale, et une dilatation aérique de celui-ci, comprimant les poumons, a nécessité une intervention en urgence à l'âge de 6 mois, permettant la réduction de la hernie, et la pose d'un tube de gastrostomie.

Des bronchonpneumonies ont été observées chez trois des sept chiens, et ont entraîné le décès de deux d'entre eux. Enfin, des luxations ou ankyloses articulaires vicieuses ont été observées chez trois des sept chiens traités.

Des effets secondaires du traitement ont été observés sur tous les animaux, à des degrés différents.

Cinq des sept chiens ont développé une obésité, qui s'est résolue par l'alimentation par sonde chez le chien Cushing.

Deux chiens (Cvite et Doc) ont développé des **troubles de la coagulation, qui ont entraîné une hémorragie pulmonaire consécutive à l'anesthésie générale qu'ils ont subie pour leur mesure de force à 9 mois**. Cette hémorragie pulmonaire a entraîné le **décès des deux animaux**.

Des infections opportunistes se sont également développées. Le chien Cvite a présenté une **uvéite ayant nécessité une énucléation**, qui a été suivie d'une **importante complication infectieuse bactérienne**. Chez cinq des sept chiens, **des papillomes viro-induits** ont été observés. Chez l'un d'entre eux (Celsius), ces papillomes se sont étendus de manière spectaculaire, notamment en région interdigitée des deux membres antérieurs, entravant la locomotion de ce chien en fin de traitement. Enfin, des calcifications ectopiques ont été mises en évidence chez les sept animaux, avec pour localisation préférentielle la zone sublinguale, mais également le tissu sous-cutané, ou encore les poumons.